



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 23 Sayı-Number 2 Yıl-Year: 2020



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

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

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



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGISİ

Sahibi/ Owner

Prof.Dr. Niyazi CAN
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. Adil AKYÜZ
KSÜ Ziraat Fak.
Biyosistem Müh. Böl.
adilakyuz@ksu.edu.tr

Prof.Dr. Sakine Serap AVGIN
KSÜ Eğitim Fak.
Biyoloji Böl.
ssavgin@ksu.edu.tr

Prof.Dr. İsmail AKYOL
Ankara Üniv. Ziraat Fak.
Zootečni Böl.
ismail.akyol@ankara.edu.tr

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

İngilizce Editörü/English Editor

Prof.Dr. Ramazan ÇETİNTAŞ
KSÜ Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl.
cetintas@ksu.edu.tr

Danışmanlar Kurulu/Advisory Board

Prof.Dr. Ahmet ALP
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv.

Doç.Dr. Tugay AYASAĞAN
Korkutata Üniversitesi OSMANİYE

Prof. Dr. Fikri BALTA
Ordu Üniv. ORDU

Larisa CAIŞIN
State Agrarian University, MOLDOVA

Dr. Eslam FAID-ALLAH
Minoufiya University, EGYPT

Prof.Dr. Wayne GARDNER,
The University of Georgia, USA

Prof.Dr. Rüştü HATİPOĞLU
Çukurova Üniversitesi, ADANA

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. Öğr.Üye Mustafa KÜSEK
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv.

Doç.Dr. Murat KÜTÜK
Gaziantep Üniv. GAZİANTEP

Prof. Dr. Ramazan MERAL,
Bingöl Üniv. BİNGÖL

Prof.Dr. Yeşim Yalçın MENDİ,
Çukurova Üniversitesi, ADANA

Alisa PIRLOG
State Agrarian University, MOLDOVA

Dr. Ahmad K. SALAMA
Autonomous University of
Barcelona, SPAIN

Prof.Dr. Fatih SATIL
Balıkesir Üniv. Balıkesir

Prof.Dr. Hüseyin SÜZEK
Muğla Sıtkı Koçman Üniv. MUĞLA

Prof.Dr Vytautas TAMUTIS
Uniwersytet Aleksandra, LITVANIA

Prof. Dr. İbrahim YILMAZ
Akdeniz Üniv. ANTALYA

Prof. Dr. Kadir YILMAZ
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv

Prof.Dr. Jose Cola ZANUNCIO
Federal Univ. of Vicosa, BRAZIL



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

İÇİNDEKİLER

ARAŞTIRMA MAKALESİ - RESEARCH ARTICLE

- Siklofosfazen Türevlerinin Maya Kültür Ortamlarında Malondialdehit, Glutatyon ve Total Protein Miktarları Üzerine Etkileri
Effects of Cyclophosphazene Derivatives on Malondialdehyde, Glutathione and Total Protein Content in Yeast Culture Media
Ayşe Dilek ÖZŞAHİN, Derya BEŞER, Ali İhsan ÖZTÜRK, Fatih ASLAN, Ökkeş YILMAZ 281-288
- Antioxidant Activity, Isolation and Identification of Some Chemical Constituents of *Sphaerophysa kotschyana*
Sphaerophysa kotschyana Bitkisinin Antioksidan Aktivitesi ve Bazı Kimyasal Bileşenlerinin İzolasyonu ve Belirlenmesi
Abdussamat GÜZEL, Mahfuz ELMASTAŞ 289-296
- Effects of 6-benzylaminopurine and Activated Carbon on Indirect Organogenesis of *Fritillaria imperialis*
6-benzilaminopurin ve Aktif Karbonun *Fritillaria imperialis*'in Dolaylı Organogenezi Üzerindeki Etkileri
Nigar SAEED, Sabahattin CÖMERTPAY 297-303
- Bakır Oksit Nanopartikülü Etkisinde Kalan Memelilerde (*Rattus norvegicus* var. *albinos*) Bazı Metabolik Tepkilerin İncelenmesi
Investigation of Some Metabolic Responses in Mammals (*Rattus norvegicus* var. *albinos*) Exposed to Copper Oxide Nanoparticles
Esin Gülnaz CANLI 304-315
- Effect of Farmyard Manure on Mineral Nutrition of Rye (*Secale cereale* L.) Plant
Çiftlik Gübresinin Çavdar (*Secale cereale* L.) Bitkisinin Mineral Beslenmesine Etkisi
Aydın ADİLOĞLU, Korkmaz BELLİTÜRK, Sevinç ADİLOĞLU, Yusuf SOLMAZ 316-320
- The Effect of Sewage Sludge Applications on the Growth of Maize (*Zea mays* L.) and Some Soil Properties
Kentsel Arıtma Çamuru Uygulamalarının Mısır Bitkisinin (*Zea mays* L.) Gelişimi ve Bazı Toprak Özellikleri Üzerine Etkisi
Hüda Nur ÇAKIR, Kerim Mesut ÇİMRİN 321-327
- The Effects of Sewage Sludge Application Doses and Times on Extractable Metal Concentrations in a Calcareous Pasture Soil
Kireçli Bir Mera Toprağında Arıtma Çamuru Dozlarının ve Uygulama Zamanının Ekstrakte Edilebilir Metal Konsantrasyonuna Etkisi
Mehmet Ali BOZKURT, Hakkı AKDENİZ, Bilal KESKİN 328-335
- Effects of Applying Nitrogen on Yield of Silage Maize Grown After Forage Legumes
Baklagil Yem Bitkilerinden Sonra Yetiştirilen Silajlık Mısıra Verimi Üzerine Azot Uygulamalarının Etkileri
Fatma KALKAN, Süleyman AVCI 336-342
- Effect of Different Rates of Bacteria (*Rhizobium leguminosarum*) Inoculated in Seed on Yield and Some Quality Parameters of Common Vetch (*Vicia sativa* L.)
Adi Fiğ (*Vicia sativa* L.) Tohumlarına Farklı Oranda Bakteri (*Rhizobium leguminosarum*) Aşılmasının Verim ve Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi
İbrahim ERTEKİN, Sadık ÇAKMAKÇI 343-349



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

- Giberellik Asit (GA3) Ön Uygulamasına Tabi Tutulmuş Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Tohumunda Tuz (NaCl) Stresinin Çimlenme Özellikleri Üzerine Etkisi
The Impact of Salt (NaCl) Stress on Germination Characteristics of Gibberellic Acid (GA3) Pretreated Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Seed 350-357
Fevzi ALTUNER, Erol ORAL, Ruveyde TUNCTÜRK, İshak BARAN
- Buğday Alanlarında Sorun Olan Kısır Yabani Yulaf (*Avena sterilis* L.) Popülasyonlarının Bitki Boyu ve Yaş Ağırlıklarına Bazı ALS ve ACCase Inhibitörü Herbisitlerin Etkileri
Determination of Effects on Weed Height and Weed Biomass of Wild Oat (*Avena sterilis* L.) Populations in Wheat Fields against ALS and ACCase Herbicides 358-366
Hilmi TORUN
- Some Biological Parameters of *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) in Pesticide-Applied Vermicompost
Pestisit Uygulanmış Vermikompostta *Eisenia fetida* (Savigny, 1826)'nın Bazı Biyolojik Parametreleri 367-378
İbrahim KOÇ, Birgül ILIKHAN
- Samsun, Amasya, Tokat ve Eskişehir İlleri Memeli Faunası ve Türlerin Koruma Statüleri
Mammalian Fauna of Samsun, Amasya, Tokat and Eskisehir Provinces and Conversation Status of Species (Classis: Mammalia) 379-387
Ahmet Yesari SELÇUK, Haluk KEFELİOĞLU
- A New Lichenicolous Fungus Record from The Çamlık National Park (Yozgat, Turkey), *Tremella candelariellae* (Basidiomycota, Tremellales)
Çamlık Milli Parkı (Yozgat, Türkiye)'nden Yeni Bir Likenikol Mantar Kaydı, *Tremella candelariellae* (Basidiomycota, Tremellales) 388-390
Zekiye KOCAKAYA, Mustafa KOCAKAYA, Mehmet Ünsal BARAK
- Rutstroemia elatina* (Ascomycota) 'nın Türkiye'den ilk raporu
First report of *Rutstroemia elatina* (Ascomycota) from Turkey 391-395
İlgaz AKATA, Makbule ERDOĞDU
- Spermatheca Structure of *Cassida atrata* Fabricius, 1787 (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) in Scanning Electron Microscope (SEM)
Taramalı Elektron Mikroskobunda (SEM) *Cassida atrata* Fabricius, 1787' nin Spermatheca Yapısı (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) 396-401
Neslihan BAL
- Lectotypification of Some Names in *Dianthus* L. (Caryophyllaceae)
Dianthus L.'ta (Caryophyllaceae) Bazı İsimlerin Lektotipifikasyonu 402-415
Ergin HAMZAOĞLU
- Orhaneli İlçesinin Vasküler Bitki Çeşitliliği (Bursa, Türkiye)
Vascular Plant Diversity of Orhaneli District (Bursa, Turkey) 416-434
Gülşah BAĞÇIVAN, Ruziye DAŞKIN
- The Anatomical Characteristics of Endemic *Aethionema dumanii* Vural & Adıgüzel (Brassicaceae)
Endemik *Aethionema dumanii* Vural & Adıgüzel'in (Brassicaceae) Anatomik Özellikleri 435-440
Burcu YILMAZ ÇITAK, Hüseyin DURAL
- Türkiye'de Biber Üretimi, Dış Ticareti ve Rekabet Gücü
The Production, Foreign Trade and Comparative Advantages of Peppers in Turkey 441-445
İsmail GÜVENÇ



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

- An Econometric Analysis of Factors Affecting Fish Consumption: The Case of Tekirdag, Turkey**
Balık Tüketimini Etkileyen Faktörlerin Ekonometrik Analizi: Tekirdağ İli Örneği
Derya İlkay ABDİKOĞLU, Mecit Ömer AZABAĞAOĞLU, Gökhan UNAKITAN 446-452
- Üreticilerin Biyolojik ve Biyoteknik Mücadele Uygulamalarına Bakışı ve Çevre Duyarlılıklarının Belirlenmesi**
Producers' Perspective on Biological and Biotechnical Control and Determining Environmental Attitudes
Betül SAYIN, Alamettin BAYAV, Tuba BEŞEN, Dilek KARAMÜRSEL, Mehmet Ali ÇELİKİYURT, Meltem EMRE, Musa KUZGUN, Şerife Gülden YILMAZ, Selda ARSLAN 453-466
- The Factors Affecting Food Security in the Eastern Region of Afghanistan**
Afganistan'ın Doğu Bölgesinde Gıda Güvenliğini Etkileyen Faktörler
Cuma AKBAY, Asif Khan AHMADZAI 467-478
- Geleneksel Yoğurtlardan İzole Edilen *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* İzolatlarının Bazı Aroma Metabolitlerinin HPLC İle Belirlenmesi**
Determination of Some Aroma Metabolites of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Isolates from Traditional Yogurt, by HPLC
Fadime YAZDIÇ, İsmail AKYOL, Ferit Can YAZDIÇ 479-492
- Some Physicochemical and Microbiological Properties of Cow Milks Collected from Local Dairy Delicatessens in Erzurum, Turkey**
Erzurum'da Yerel Süt/Süt Ürünleri Şarküteriilerinden Toplanan İnek Sütlerinin Bazı Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri
Alper BARAN, Mehmet Cemal ADIGÜZEL 493-505
- The Effects of Using Different Levels of Calcium Carbonate (CaCO₃) on Growth, Survival, Molting Frequency and Body Composition of Freshwater Crayfish Juvenile, *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)**
Farklı Seviyelerde Kalsiyum Karbonat (CaCO₃) Kullanımının Yavru Tatlısu İstakozu *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)'larının Büyümesi, Hayatta Kalması, Kabuk Değişimi ve Vücut Kompozisyonları Üzerine Etkileri
Yavuz MAZLUM, Sinem ŞİRİN 506-514
- Narenciye Kabuğu Esansiyel Yağları Kullanılarak Hazırlanan Mikroenkapsüle Balık Yağı Tozlarının Depolama Süresince Renk ve Duyusal Değişimleri**
Color and Sensory Changes in Microencapsulated Fish Oil Powders Prepared Using Citrus Peel Essential Oils During Storage
Yılmaz UÇAR 515-526
- Improving Nutritional Qualities of Tomato Pomace by *Pleurotus ostreatus* and *Phanerochaete chrysosporium* Fermentation**
Domates Posasının *Pleurotus ostreatus* ve *Phanerochaete chrysosporium* Fermentasyonu ile Besleyici Değerinin Artırılması
Sulhattin YASAR, Ramazan TOSUN 527-535
- Kefir İlavesinin Yonca Silajlarının Fermantasyon Özellikleri ve Aerobik Stabilitesi Üzerine Etkileri**
The Effects of Kefir Addition on the Fermentation Characteristics and Aerobic Stability of Alfalfa Silages
Fisun KOÇ, Bahattin KARAPINAR, Berrin OKUYUCU, Duygu KORUCU ERDEM 536-543
- Bowen Oranı Enerji Dengesi Yöntemiyle Buğday Su Tüketiminin Belirlenmesi /**
Determination of Evapotranspiration For Wheat by Using Bowen Ratio Energy Balance Method
Deniz Levent KOÇ, Rıza KANBER 544-553



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

HAKEMLER/Referees*

Prof.Dr. Hasan AKAN	Harran Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Şanlıurfa
Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Emre AKÇAY	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Van
Doç.Dr. Sinan ANLAŞ	Manisa Celâl Bayar Üniv. Alaşehir MYO Manisa
Prof.Dr. Mahmut Murat ASLAN	KSÜ Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Kahramanmaraş
Doç.Dr. Bülent Barış AŞIK	Uludağ Üniv. Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Bursa
Dr. Öğr. Üyesi Ali İhsan ATALAY	Iğdır Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl., Iğdır
Doç.Dr. Tugay AYAŞAN	Osmaniye Korkut Ata Üniv. Kadirli Uygulamalı Bilimler YO Osmaniye
Doç.Dr. Hayri BABA	HMKÜ Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Hatay
Prof.Dr. İhsan BAKIRCI	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Erzurum
Dr. Öğr. Üyesi Selçuk BERBER	ÇOMÜ Deniz Bilimleri ve Tek. Fak. Su Ürünleri Temel Bil. Böl. Çanakkale
Doç.Dr. Rıza BİNZET	Mersin Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Mersin
Doç.Dr. Mustafa BOĞA	Niğde Ömer Halisdemir Üniv. Bor MYO Gıda İşleme Böl. Niğde
Prof.Dr. Yıldız BOLAT	Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv. Eğirdir Su Ürünleri Fak. Isparta
Prof.Dr. Mehmet Ali BOZKURT	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Van
Prof.Dr. Nuh BOYRAZ	Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Konya
Prof.Dr. Ercan BURSAL	Muş Alparslan Üniv. Sağlık Bilimleri Fak. Hemşirelik Böl. Muş
Doç.Dr. Gökhan BÜYÜK	Adıyaman Üniv. Tarım Bilimleri ve Tek. Fak. Ziraat Mühendisliği Böl. Adıyaman
Prof.Dr. Hatice N BÜYÜKKARTAL	Ankara Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Ankara
Prof.Dr. Mustafa CANBOLAT	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Erzurum
Prof.Dr. Vedat CEYHAN	Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Samsun
Dr. Öğr. Üyesi Zafer CEYLAN	Van YYÜ. Su Ürünleri Fak. Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Böl. Van
Prof.Dr. Ali COŞKAN	Isparta Uygulamalı Bil. Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Bes. Böl. Isparta
Doç.Dr. Mustafa COŞKUN	Adıyaman Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Adıyaman
Dr. Öğr. Üyesi Sabahattin CÖMERTPAY	KSÜ Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl., Kahramanmaraş
Prof.Dr. Ahmet Esen ÇELEN	Ege Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. İzmir
Prof.Dr. Ahmet Esen ÇELEN	Ege Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. İzmir
Prof.Dr. Nihat DENEK	Harran Üniv. Veteriner Fak. Zootečni ve Hayvan Besleme Böl. Şanlıurfa
Dr. Öğr. Üyesi Azize DOĞAN DEMİR	Bingöl Üniv. Ziraat Fak. Biyosistem Mühendisliği Böl. Bingöl
Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN	Selçuk Üniv Fen Fak. Biyoloji Böl. Konya
Prof.Dr. Ali Nafiz EKİZ	Uşak Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Uşak
Doç.Dr. Yekta GEZGİNÇ	KSÜ Mühendislik-Mimarlık Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Kahramanmaraş
Dr. Öğr. Üyesi Serdar GÖZÜTOK	Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Ziraat ve Doğa Bilimleri Fak. Bolu
Prof.Dr. Orhan GÜNDÜZ	Malatya Turgut Özal Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Malatya
Prof.Dr. M Mustafa HARLIOĞLU	Fırat Üniv. Su Ürünleri Fak. Su Ürünleri Yetiştiriciliği Böl. Elazığ
Doç.Dr. Ayhan HORUZ	Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Bes.Böl. Samsun
Dr. Öğr. Üyesi Pınar ÇAM İCİK	Sinop Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Sinop

* Soyada göre sıralanmıştır.



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Prof.Dr. Ahmet İLÇİM	Hatay Mustafa Kemal Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Hatay
Doç.Dr. Şanlı KABAKTEPE	Malatya Turgut Özal Üniv. Battalgazi MYO Bitkisel ve Hayvansal Üret.Böl. Malatya
Doç.Dr. Tahir KARASHAHİN	Aksaray Üniv. Veteriner Fak. Temel Bilimler Böl. Aksaray
Prof.Dr. Yakup KASKA	Pamukkale Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Pamukkale
Prof.Dr. Giyasettin KAŞIK	Selçuk Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Konya
Prof.Dr. Şerafettin KAYA	Hatay MKÜ Ziraat Fak. Zootečni Böl. Hatay
Dr. Öğr.Üyesi Yılmaz KAYA	Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Samsun
Doç.Dr. Tamer KAYIŞ	Adıyaman Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Adıyaman
Prof.Dr. Haluk Çağlar KAYMAK	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Erzurum
Prof.Dr. Sevda KIRBAG	Fırat Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Elazığ
Prof.Dr. Semiha KIZILOĞLU	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Erzurum
Prof.Dr. Ekrem KÖKSAL	Erzincan Binali Yıldırım Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Kimya Böl. Erzincan
Doç.Dr. Sevgi MARAKLI	Amasya Üniv. Sabuncuoğlu Şerefeddin Sağlık Hizmetleri MYO Amasya
Prof.Dr. Abdullah MART	Osmaniye Korkut Ata Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Osmaniye
Doç.Dr. Hasan MEYDAN	Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Antalya
Prof.Dr. İbrahim Mete MISIRLIOĞLU	Eskişehir Osmangazi Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Eskişehir
Doç.Dr. B. Devrim ÖZCAN	Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. Adana
Prof.Dr. Canan ÖZDEMİR	Manisa Celâl Bayar Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Manisa
Prof.Dr. Necdettin SAĞLAM	Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Tokat
Prof.Dr. Serdar SATAR	Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Adana
Prof.Dr. Fatih SATIL	Balıkesir Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Balıkesir
Doç.Dr. Hülya SAYGI	Ege Üniv. Su Ürünleri Fak. Su Ürünleri Yetiştiriciliği Böl. İzmir
Prof.Dr. Hüseyin SÜZEK	Muğla Sıtkı Koçman Üniv. Sağlık Bilimleri Fak. Hemşirelik Böl. Muğla
Dr. Öğr. Üyesi Ferit SÖNMEZ	Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Ziraat ve Doğa Bil. Fak. Tohum Bilimi ve Tek. Böl. Bolu
Dr. Öğr. Üyesi Ferit SÖNMEZ	Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Ziraat ve Doğa Bil. Fak. Tohum Bilimi ve Tek. Böl. Bolu
Dr. Öğr. Üyesi Kasım TAKIM	Harran Üniv. Veteriner Fak. Temel Bilimler Böl. Şanlıurfa
Prof.Dr. Ahmet Zafer TEL	Iğdır Üniv. Iğdır Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Iğdır
Prof.Dr. Işık TEPE	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Van
Dr. Öğr. Üyesi Kubilay TOYRAN	Bitlis Eren Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Bitlis
Prof.Dr. Nihat TURSUN	Malatya Turgut Özal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Malatya
Doç.Dr. Ali Beyhan UCAK	Siirt Üniv. Ziraat Fak. Biyosistem Mühendisliği Böl. Siirt
Doç.Dr. Ahmet Semih UZUNDUMLU	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Erzurum
Dr. Öğr. Üyesi Faika YARALI	Kilis 7 Aralık Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Kilis
Prof.Dr. Kadir YILMAZ	KSÜ Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Bes. Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Celal YÜCEL	Şırnak Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Şırnak
Prof.Dr. Mehmet ZENGİN	Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Beslenme Böl. Konya

Siklofosfazen Türevlerinin Maya Kültür Ortamlarında Malondialdehit, Glutasyon ve Total Protein Miktarları Üzerine Etkileri

Ayşe Dilek ÖZŞAHİN^{1*}, Derya BEŞER², Ali İhsan ÖZTÜRK³, Fatih ASLAN⁴, Ökkeş YILMAZ⁵

^{1,2}Bitlis Eren Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bitlis, ³Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü Osmaniye, ⁴Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Şanlıurfa, ⁵Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ, TÜRKİYE

¹<https://orcid.org/0000-0002-1832-7082> ²<https://orcid.org/0000-0002-8592-6261>, ³<https://orcid.org/0000-0002-3912-0670>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-5948-6979>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-8276-4498>

✉: molekuler@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada; yeni sentezlenmiş beş schiff bazının *S. cerevisiae* kültür ortamlarında toplam protein, glutasyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) analizleri yapıldı. *S. cerevisiae*'nin gelişimi ve çoğalması için YEPD besiyeri ortamı hazırlandı. Uygulama grupları için; schiff bazların her birinden 10 mg/mL 'lık ve 20 mg/mL 'lık konsantrasyonları kültür ortamına ilave edildi. İnkübasyon sonunda elde edilen besiyeri ile toplam protein, glutasyon (GSH), okside-glutasyon (GSSG) ve MDA analizleri yapıldı. Kontrol grubu ile schiff bazı gruplarının sonuçları karşılaştırıldığında; yeni sentezlenmiş schiff bazlarının *S. cerevisiae*'da; toplam protein, GSH ve MDA miktarlarını arttırdığı belirlendi. Sonuç olarak; yeni sentezlenmiş schiff bazlarının özellikle antioksidan savunma etkisi ve sitotoksik özelliği ile gelecekte hastalık tedavilerine yönelik yapılacak olan çalışmalara destek olacağı ve literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 02.08.2019

Kabul Tarihi : 28.11.2019

Anahtar Kelimeler

Glutasyon

MDA

Saccharomyces cerevisiae

Schiff bazı

Toplam Protein

Effects of Cyclophosphazene Derivatives on Malondialdehyde, Glutathione and Total Protein Content in Yeast Culture Media

ABSTRACT

In this study; total protein, glutathione and lipid peroxidation (MDA) analyzes of five schiff bases that are newly synthesized were performed in *S. cerevisiae* culture media. YEPD medium was prepared for growth and multiplication of *S. cerevisiae*. Overall, 10 mg/mL and 20 mg/mL concentrations of schiff bases were added for the creation of application groups in to the culture medium. The obtained supernatant was used for total protein, glutathione (GSH), oxidized-glutathione (GSSG) and MDA analyzes. When the results of the control and schiff groups were compared; newly synthesized schiff bases in *S. cerevisiae* was determined to increase total protein, GSH and MDA concentration. As a conclusion, it is thought that newly synthesized schiff bases will support the future studies that will be carried out the antioxidant defense effect and cytotoxic properties and it is thought that will contribute to the literature.

Research Article

Article History

Received : 02.08.2019

Accepted : 28.11.2019

Keywords

Glutathione

MDA

Saccharomyces cerevisiae

Schiff bases

Total Protein

To Cite : Özşahin AD, Beşer D, Öztürk Aİ, Aslan F, Yılmaz Ö 2020. Siklofosfazen Türevlerinin Maya Kültür Ortamlarında Malondialdehit, Glutasyon ve Total Protein Miktarları Üzerine Etkileri. KSU J. Agric Nat 23 (2): 281-288. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.600569.

GİRİŞ

Fosfazenler; azot, fosfor halojen ve organik yan gruplar içeren bileşikler olarak bilinir. Fosfazenlerin yapısı azot ve fosfor arasında çift bağ bulunmasıyla oluşur (Shaw ve ark., 1962), yapılarında tekrarlanan -P=N- birimlerinden oluşan, her fosfor atomunda iki organik veya inorganik yan grupların bulunduğu lineer veya

halkalı yapıya sahip bileşiklerdir (Allcock, 1972; Gleria ve Jaeger, 2004).

Fosforun azot ile oluşturduğu bileşikler üç ana grupta incelenir. Fosfor ve azot arasındaki bağ sayısı tek olduğu zaman fosfazan (H_2N-PH_4), çift bağ oluşturdukları zaman fosfazen ($HN=PH_3$), üçlü bağ oluşturdukları zaman da fosfazin ($N=PH_2$) olarak

isimlendirilir. Fosfazenler de monofosfazenler (düz zincirli fosfazenler = doğrusal fosfazenler), siklofosfazenler (halkalı fosfazenler) ve polifosfazenler olmak üzere üç ana grupta sınıflandırılır. Siklofosfazenler veya polifosfazenler; biyokimyasal ve farmakoloji çalışmalarının en çok yapıldığı fosfazenlerdendir (Kılıç ve ark., 1996; Laguna ve ark., 2002). Bunlardan en çok çalışılan ve en iyi bilinen fosfazen bileşikleri heksaklorosiklotrifosfazen ve polifosfazenlerdir.

Fosfazenlerden; fosfor sinerjilerinden dolayı sıcaklık ve yanmaya dayanıklı bileşikler sentezlenmiş olup (Walker, 1972) yanmayı engelleyici özellikleri ile; tekstil, sentetik, kauçuk madde sanayisinde bu yeni bileşiklerle patent alınmıştır (Allen, 1993). Ayrıca sıvı kristal ve gaz geçirgenliği (Moriya ve ark., 2003; Allcock ve ark., 1993; Peterson ve ark., 1993), biyo uyum sağlama özelliği ile organ naklinde (Langone ve ark., 1995), protez kemik yapımında (Lakshmi ve ark., 2003; Bernheim ve ark., 1999), kontakt lens yapımında, diş tedavisinde dolgu malzemesi olarak, antibakteriyal özelliği ile (Van Der Huizen, 1984; Allcock, 1992) biyomedikalde kullanılmalarına yönelik çalışmalar mevcuttur (Laurencin ve ark., 1987). Ligand olarak ziridin bulunduran siklofosfazen türevlerinin güçlü antitümör etkisiyle (Van Der Huizen, 1984; Song ve ark., 2003) AIDS'e bağlı lenfomlara karşı koruyuculuğu tespit edilmiştir (Brandt ve ark., 2001). Sitotoksik, antikonvülzan (nörolojik hastalıklarda nöbet durumlarının önlenmesi ve tedavisinde), antiproliferatif (çoğalmı önleyen) olarak biyolojik alanlarda kullanılmıştır. Maya hücrelerine ve bakterilere etki gösterdiği çalışmaları da yer almaktadır (Öztürk ve ark., 2000; Yılmaz ve ark., 2002).

Yeni formüle edilen fosfazen türevlerinin canlılar üzerindeki biyokimyasal, moleküler ve fizyolojik etki mekanizmalarının incelenerek kullanılması gerekir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda memeli hücre modelleri ile maya hücre modelleri kullanılmaktadır. Mayalardan *Saccharomyces cerevisiae* hücre modelleri içinde yer alır. *S. cerevisiae*; genetik yapısından dolayı yararlı bir araştırma mikroorganizmasıdır. Bu bilimsel kaynak, hücre genetiği ve fizyolojisinin yapısı ve organizasyonu hakkında temel bilgilerin geliştirilmesinde çok önemli bir konuma sahiptir. *S. cerevisiae*, hayvansal organizmalar üzerinde yapılan genomik, proteomik ve metabolik çalışmalarda, muhtemel biyolojik mekanizmaların ortaya çıkarılmasında en iyi karakterize edilen organizmalardan biri olarak kabul edilmektedir (Braconi ve ark., 2006; Braconi ve ark., 2015).

Çalışmamızda; yeni sentezlenmiş Schiff bazı bileşiklerinin canlı organizmalar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçla; yeni sentezlenmiş beş schiff bazı olan (Hekza [4-(2-hidroksi-4- klorofenilimino) metil] fenoksi)

siklotrifosfazen, Hekza [4-(4-hidroksifenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen, Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksifenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen, Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen, Hekza [2- metoksi-4(4-hidroksifenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen)' nin *Saccharomyces cerevisiae* maya hücresinde toplam protein, MDA, GSH, GSSG miktarları üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Schiff Bazları

Kullanılacak olan bu maddeler TBAG 107T407 No'lu Tübitak projesi kapsamında sentezlenerek elde edilmiştir. Bu maddeler:

1-(M1) = Hekza [4-(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen

Moleküler formülü: $C_{78}H_{54}Cl_6N_9O_{12}P_3$

Moleküler ağırlığı: 1614.955746

Birleşimi: C(%58.01) H(%3.37) N(%7.81)

2-(M2) = Hekza [4-(4-hidroksifenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen

Moleküler formülü: $C_{78}H_{60}N_9O_{12}P_3$

Moleküler ağırlığı: 1408.285386

Birleşimi: C(%66.52) H(%4.29) N(%8.95)

3-(M3) = Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksifenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen

Moleküler formülü: $C_{84}H_{72}N_9O_{18}P_3$

Moleküler ağırlığı: 1588.441266

Birleşimi: C(%63.52) H(%4.57) N(%7.94)

4-(M4) = Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil] fenoksi]

Siklotrifosfazen

Moleküler formülü: $C_{84}H_{66}Cl_6N_9O_{18}P_3$

Moleküler ağırlığı: 1795.111626

Birleşimi: C(%56.20) H(3.71) N(%7.02)

5- (M5) = Hekza [2-metoksi-4(4-hidroksifenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen

Moleküler formülü: $C_{84}H_{72}N_9O_{18}P_3$

Moleküler ağırlığı: 1588.441

Birleşimi: C(%63.52) H(%4.57) N(%7.94)

Maya Örnekleri

Çalışmada kullanılan *S. cerevisiae* BY4741- Yabani Tıp maya hücresi (Genotip: MATa his3 leu2 met15 ura3) İzmir Yüksek Teknoloji Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

METOT

Schiff Bazı Solüsyonlarının Hazırlanması

$M_1 = 0.040g$

$M_2 = 0.060g$

$M_3 = 0.083g$

$M_4 = 0.047g$

$M_5 = 0.049g$ 'lık schiff bazlarından 10 mg alınıp 1 mL DMSO (dimethyl sülfokside)'da çözülmesi sağlanıp 10 mg/mL ve 20 mg/mL'lik olacak şekilde konsantrasyonları hazırlanmıştır.

Maya Kültür Ortamının Hazırlanması

Deneyde kullanılacak olan *S. cerevisiae* BY4741-Yabani Tip maya hücresinin (Genotip: MATa his3 leu2 met15 ura3) gelişimi ve çoğalması için YEPD (200 mL için; 2 g maya ekstrakt, 4 g baktopepton, 4 g glukoz) besiyeri ortamı her grup için tekrar sayısı (n) = 5 olacak şekilde hazırlandı. Besiyeri ortamı hazırlandıktan sonra aşağıdaki gruplara ayrıldı:

Kontrol grubu: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, YEPD besiyeri ortamı hazırlandı.

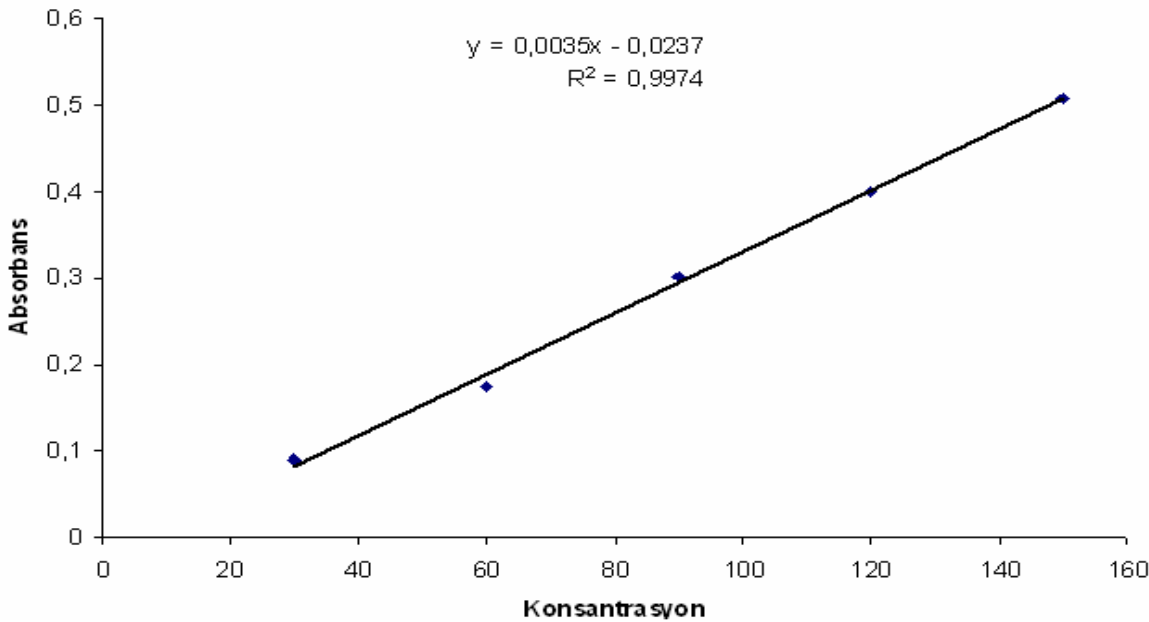
Schiff Bazı Uygulama Grupları: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, YEPD besiyeri ortamı içerisine maya hücresi inoküle edildikten sonra OD600 değerleri 0.4-0.6 civarına [yaklaşık olarak $1-3 \cdot 10^7$ hücre/ml (Bergman, 2001)] ulaşıncaya schiff bazlarının her birinden 10 mg/mL'lik (X grupları) ve 20 mg/mL'

lik (Y grupları) konsantrasyonları içecek şekilde eklenerek gruplar hazırlandı. Aşılama işleminden sonra kültürler 30 °C'de 72 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda kültürler laboratuvar şartlarında 517 nm'de hücre yoğunlukları ölçüldükten sonra, 6000 rpm'de 5 dakika süreyle +4 °C'de santrifüj edilerek hücreler toplandı. Hücreler pellet olarak toplandıktan sonra yaş ağırlıkları belirlendi.

Hücre pelletleri, 20 mM Tris HCl-baz (pH= 7.4) ve 20 mM EDTA karışımı ile homojenize edilip santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı ile GSH, GSSG, total protein ve MDA ölçümleri yapıldı. Sonuçlar SPSS istatistik programı kullanılarak analiz edilip farklılıklar istatistik açıdan değerlendirildi.

Maya Hücresinde Total Protein Miktarının Ölçülmesi

Örneklerin total protein miktarlarının ölçümü Lowry (1950) yöntemine göre yapıldı. Gruplar 750 nm'de blank'a karşı okundu ve okunan değerlere göre Şekil 1'deki kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Örneklerin protein miktarları elde edilen bu kalibrasyon eğrisindeki denklem vasıtasıyla hesaplandı, sonuçlar (mg/g) şeklinde verildi.



Şekil 1. Protein kalibrasyon eğrisi
Figure 1. Protein calibration curve

Glutatyon(GSH) ve Okside Glutatyon(GSSG) Analizi

Glutatyon ve okside glutatyon miktarlarının ölçümü ilgili metoda uygun olarak HPLC cihazında analiz edildi (Klejdus ve ark., 2004; Yılmaz ve ark., 2009). 1 mL süpernatant üzerine 1 mL % 10'luk TCA eklenerek deprotenize edildi. 6000 rpm'de santrifüj edildikten sonra 1 mL otosampler viallerine alındı. Kantitatif ölçümlerde 214 nm'de Shimadzu marka full otomatik HPLC cihazı kullanıldı. LC-10 AD VP UV-visible pompa, SPD-M10A VP, PDA dedektörü, CTO-10AS VP kolon fırını, SIL 10AD VP otosampler, DGU-14A

degasser ünitesi ve Class VP 6.26 işletim programı (Shimadzu, Kyota Japan) kullanıldı. Mobil faz olarak % 0,1 TFA ve metanol (% 94/6, v/v) karışımı kullanıldı. Ayırma işlemi ODS-3 HPLC kolonunda yapıldı. Hesaplama işlemi standart karışımlardan hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre Class VP 6.26 programı (Shimadzu, Kyota Japan) ile hesaplandı.

Maya Hücresinde MDA Miktarının Ölçülmesi

Malondialdehit (MDA) miktarlarının ölçümü için HPLC cihazında uygun metod kullanarak analizi

yapıldı (Karataş ve ark., 2002). Tris-EDTA' lı süpernatandan 1 mL alınıp % 10'luk perklorik asit (HClO₄) ile muamele edilmesiyle proteinleri çöktürüldü. Oluşan bu karışım 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatantları otosampler viallerine alınmasıyla HPLC cihazında analizi yapıldı.

Analiz için full otomatik Shimadzu marka HPLC sistemi (Kyoto Japan) kullanıldı. Mobil faz olarak metil alkol karışımı (% 82.5- %17.5 H₃PO₄ ile pH= 4.0) ve 30 mmol KH₂PO₄ (Karatepe, 2004); kolon olarak da ODS-3 HPLC kolonu (150 mm x 4,6-5 µm) kullanıldı. PDA dedektör dalga boyu 244 nm, mobil faz akış hızı da 1 ml/dk olarak belirlendi. Standart karışımlardan hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre hesaplanması Class VP 6,26 software (Shimadzu, Kyota Japan) ile yapıldı.

İstatistik Analizi

Deney sonucunda elde edilen veriler SPSS 15.0 istatistik programı ile değerlendirildi. Kontrol grubu ile uygulama gruplarının ortalamaları arası farklar

önce tek-yönlü ANOVA ile daha sonra da her bir grubun diğerinden olan farklılıklar post hoc LSD testi yapılarak belirlendi. Değerler ortalama ± standard sapma (mean±S.D.) belirtildi. İstatistik yönden önemli bulunan farklar metin içinde de istatistiksel P (p>0,05, p<0,05, p<0,01, p<0,001) değerleri şeklinde ifade edildi.

BULGULAR

Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının Saccharomyces cerevisiae Hücresinin Total Protein Seviyesi Üzerindeki Etkisi

Schiff bazlarının 10 mg/mL ve 20 mg/mL' lık konsantrasyon gruplarının kontrol grubu ile total protein miktarı bakımından kıyaslaması yapıldığında; madde ilave edilen maya hücrelerindeki total protein miktarının X₃, X₄, X₅, Y₂, Y₃ ve Y₄ gruplarında belirgin seviyede arttığı saptandı (p<0.05, p<0.01, p<0.001). X₁, X₂, Y₁ ve Y₅ schiff bazlarının olduğu grupların total protein seviyesinde kısmi seviyede azalma olduğu belirlendi (p<0.05) (p<0.01) (p<0.001) (Çizelge 1).

Çizelge 1. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücresindeki total protein düzeyine etkisi

Table 1. The effect of Schiff bases on total protein levels in *S. cerevisiae* cell

10 mg/mL' lık konsantrasyon grubu (X) 10 mg/mL concentration group		20 mg/mL' lık konsantrasyon grubu (Y) 20 mg/mL concentration group	
	Total protein (mg/g) Total protein		Total protein (mg/g) Total protein
Kontrol (Control)	1.562 ± 0.047	Kontrol (Control)	2.460 ± 0.35
M ₁	1.470 ± 0.10 ^b	M ₁	1.804 ± 0.06 ^c
M ₂	1.406 ± 0.033	M ₂	3.212 ± 0.52
M ₃	1.684 ± 0.087 ^c	M ₃	2.664 ± 0.40 ^a
M ₄	1.870 ± 0.070 ^d	M ₄	2.850 ± 0.86 ^b
M ₅	1.858 ± 0.10 ^d	M ₅	1.642 ± 0.06 ^d

a: p>0.05, b: p<0.05, c: p<0.01, d: p<0.001, cd: p<0.0001

Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının Saccharomyces cerevisiae Hücresinin GSH ve GSGG Seviyesi Üzerindeki Etkisi

Schiff bazları ilave edilen gruplar ile kontrol grubu

kıyaslandığında; schiff bazı ilave edilen maya hücrelerindeki GSH miktarının birçok grupta belirgin oranda arttığı (p<0.001) (p<0.0001); Y₃, Y₄ ve Y₅ gruplarında ise kısmi düzeyde azaldığı tespit edildi (Çizelge 2.).

Çizelge 2. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücresindeki GSH düzeyine etkisi

Table 2. The effect of Schiff bases on GSH levels in *S. cerevisiae* cell

10 mg/mL' lık konsantrasyon grubu (X) 10 mg/mL concentration group		20 mg/mL' lık konsantrasyon grubu (Y) 20 mg/mL concentration group	
	GSH (µmol/g)		GSH (µmol/g)
Kontrol (Control)	292.13 ± 10.06	Kontrol (Control)	73.948 ± 4.99
M ₁	456.39 ± 15.31 ^d	M ₁	96.19 ± 9.77 ^d
M ₂	505.65 ± 32.05 ^{cd}	M ₂	109.46 ± 24.92 ^{cd}
M ₃	448.70 ± 41.69 ^d	M ₃	61.78 ± 14.60
M ₄	405.53 ± 51.74	M ₄	73.398 ± 11.49 ^a
M ₅	471.18 ± 30.80 ^d	M ₅	62.40 ± 11.42

a: p>0.05, b: p<0.05, c: p<0.01, d: p<0.001, cd: p<0.0001

Kontrol grubu ile schiff bazı ilave edilen gruplar GSGG miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol

grubuna göre baz içeren tüm gruplarda belirgin düzeyde artış olduğu görüldü (p<0.001, p<0.0001). 10

mg/mL' lik schiff bazı içeren gruplarda GSGG miktarının, 20 mg/mL' lik konsantrasyon gruplarına

göre artış farkının daha fazla seviyede olduğu tespit edildi (Çizelge 3).

Çizelge 3. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücreesindeki GSGG düzeyine etkisi

Table 3. The effect of Schiff bases on GSGG levels in *S. cerevisiae* cell

10 mg/mL' lik konsantrasyon grubu (X) 10 mg/mL concentration group		20 mg/mL' lik konsantrasyon grubu (Y) 20 mg/mL concentration group	
	GSGG (µmol/g)		GSGG (µmol/g)
Kontrol (Control)	36.870 ± 4.52	Kontrol (Control)	12.750 ± 2.19
M ₁	58.636 ± 5.09	M ₁	13.194 ± 1.54 ^a
M ₂	73.464 ± 7.10	M ₂	26.752 ± 5.87 ^d
M ₃	128.56 ± 11.43 ^{cd}	M ₃	14.194 ± 3.77
M ₄	108.31 ± 8.57 ^{cd}	M ₄	24.484 ± 2.70 ^d
M ₅	140.92 ± 4.56 ^{cd}	M ₅	21.918 ± 5.18

a: p>0.05, b: p<0.05, c: p<0.01, d: p<0.001, cd: p<0.0001

Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının Saccharomyces cerevisiae Hücresinin MDA Seviyesi Üzerindeki Etkisi

Schiff bazı ilave edilen gruplardaki MDA miktarları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 10mg/mL' lik

konsantrasyon grubunda M₄ haricindeki diğer gruplarda miktarın önemli düzeyde azaldığı saptandı (p<0.01, p<0.001). 20 mg/mL' lik konsantrasyon içeren maddelerin gruplarındaki MDA miktarında ise kontrol grubuna oranla artış olduğu tespit edildi (p<0.01) (p<0.001) (Çizelge 4).

Çizelge 4. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücreesindeki MDA düzeyine etkisi

Table 4. The effect of Schiff bases on MDA levels in *S. cerevisiae* cell

10 mg/mL' lik konsantrasyon grubu (X) 10 mg/mL concentration group		20 mg/mL' lik konsantrasyon grubu (Y) 20 mg/mL concentration group	
	MDA (nmol/g)		MDA (nmol/g)
Kontrol (Control)	66.172 ± 4.64	Kontrol (Control)	103.50 ± 9.41
M ₁	49.632 ± 3.90 ^d	M ₁	109 ± 17.35
M ₂	44.114 ± 6.13 ^d	M ₂	141.45 ± 14.06 ^d
M ₃	57.07 ± 2.13	M ₃	128.88 ± 10.39 ^c
M ₄	67.812 ± 8.62 ^a	M ₄	157.69 ± 37.56 ^d
M ₅	54.582 ± 1.28 ^c	M ₅	127.07 ± 7.67

a: p>0.05, b: p<0.05, c: p<0.01, d: p<0.001, cd: p<0.0001

TARTIŞMA ve SONUÇ

İnorganik olan bileşik ve bileşik gruplarının yüksek yapıli organizmalara uygun olup olmamasının ortaya konulması için canlı sisteme direkt uygulanmasına gerek olmadığı son yıllarda yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (İspir ve ark., 2008; Pratap ve ark., 2011; Tümer ve ark., 2008). Bu sebeple basit yapıli organizmalardan eukaryotik grubuna dahil olan *S. cerevisiae* yüksek yapıli organizmalara benzerlik göstermesinden dolayı deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. Birçok çalışmada *S. cerevisiae* maya hücresinin maruz bırakıldığı yeni sentezlenmiş schiff bileşiklerine göstermiş olduğu tepkisel sonuçlar ile uygunluğu denetlenerek bilime ışık tutulmuştur (İspir ve ark., 2008; Pratap ve ark., 2011; Tümer ve ark., 2008).

Bu çalışmada beş yeni sentezlenmiş olan schiff bazlarının *S. cerevisiae*' in kültür ortamına 10 mg/mL'lik ve 20 mg/mL'lik konsantrasyonlarının ilavesinden sonra bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada etkisi bilinmeyen yeni sentezlenmiş schiff bazlarının

S. cerevisiae üzerindeki total protein, glutatyon, okside glutatyon ve malondialdehit sonuçlarının etkileri değerlendirilmiştir.

Yaptığımız çalışmada; total protein miktarı üzerine schiff bazı gruplarının önemli düzeyde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Oksidatif stres karşısında sentezlenen proteinlerin ya da hasara uğramış proteinlerin hücrede birikimine sebep olabileceğini daha önce yapılan çalışmalar ile bildirilmiştir (Vincent ve ark., 2004). Bu artış schiff bazları ile hasara uğramış proteinlerin birikimi ile açıklanabilir. Kullandığımız schiff bazları etkisi ile hücrede anormal protein birikimi oluşabilir. Bu sonuçta hücrede protein düzeyinin artışı ile sonuçlanmaktadır. Bununla birlikte oksidatif strese karşı hücrelerde yeni proteinlerin sentezi de protein düzeyinde artışa neden olabilmektedir. Bu hipotez literatürde bazı araştırmacılar tarafından desteklenmektedir. Tamarit ve ark., (1998), oksidatif strese bağlı olarak bir grup oksitlenmiş proteinin ortaya çıktığını belirtmişlerdir.

Non-protein tiyol yapısında olup önemli bir antioksidan olan GSH'nin yeni sentezlenmiş beş schiff

bazının iki farklı konsantrasyonunu içeren gruplarındaki miktarları ile kontrol grubundaki GSH miktarı kıyaslandığında; M1 ve M2 gruplarının her iki konsantrasyon grubunda artış olduğu tespit edildi. M3, M4 ve M5 gruplarında ise konsantrasyonları arttıkça GSH seviyesinde azalma olduğu görüldü. Glutasyon miktarındaki artışın nedeni olarak maya hücresinin schiff bazlarına karşı bir savunma mekanizması geliştirmiş olabileceği ve GSH miktarını arttırarak oksidatif hasarlara karşı uyum sağlayabildiği görüşünü ileri sürebiliriz. Penninckx yaptığı çalışmada *S. cerevisiae* maya hücresinin oksidatif strese ve birçok farklı besin kaynaklarına karşı yanıt oluşturmak adına glutasyon sentezleyerek GSH miktarında artışa sebep olduğunu saptamıştır (Penninckx, 2000).

Okside glutasyon miktarındaki değişimlerin kontrol grubu ile kıyaslanmasında; schiff bazı içeren tüm gruplarda belirgin düzeyde artış olduğu saptanmıştır. Bu durumun; maya hücresinin schiff bazlarına karşı bir savunma mekanizması geliştirip, glutasyon miktarını arttırması ve böylece oksidatif hasarlara karşı adaptasyon gösterebilmesi ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Izawa ve ark., (1995) yaptıkları çalışmada H₂O₂'ye karşı oluşturulmuş olan ortama sağlanmış uyumun, hücre içindeki glutasyon miktarında artışa sebep olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu çalışma, araştırmamızdaki schiff bazı gruplarında gözlemlenen artışı açıklamak adına benzer bir çalışma örneğidir. Çalışmamızdaki glutasyon miktarındaki bu artış; maya hücrelerinin ortamına ilave edilen schiff bazlarının hücrede oluşturdukları hasarları onarabilmek adına bir ölçüt olarak kabul edinilebilir.

MDA; lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve artmış olması hücre hasarının bir göstergesidir (Garcia ve ark., 1997). MDA seviyesi lipid peroksidasyonun bir ölçüsü olarak kabul edilmektedir. Kontrol ile schiff bazı gruplarındaki MDA miktarlarının karşılaştırılmasında; 10 mg/mL'lık konsantrasyon gruplarının çoğunda belirgin düzeyde azalmanın olduğu gözlemlenirken, 20 mg/mL'lık konsantrasyon gruplarının tümünde belirgin düzeyde artış olduğu tespit edildi. MDA düzeyindeki artış kullanılan test maddelerinin lipid peroksidasyonunu arttırarak hasar oluşumuna sebep olduğunun göstergesi olabilir. MDA hücre düzeyinde metabolize edilmekte ya da diffüze olmakta ve diğer hücrelerde hasar oluşturmaktadır. MDA pek çok hücrede membran bütünlüğünün bozulmasına sebep olmakta ve bunun sonucunda lizozomal membranlarda yırtılmaya, hücre membran bütünlüğünün kaybına neden olmaktadır. Yapılan benzer bir çalışmada; Bozhan (2017) 2-(2-(3-hidroksi-4-metoksiphenyl)ethylidene)hidrazinocarbothioamide schiff bazının 2, 4 ve 8 ppm konsantrasyonlardaki uygulamalar sonucunda, 8 ppm grubundaki MDA

miktarında önemli düzeyde artış olduğunu belirlemiştir, bu artışın sebebinin ise maya hücresinin ortama eklenen maddelere gösterdiği dirençten kaynaklandığını ileri sürmüştür.

Yaptığımız çalışmada yeni sentezlenmiş schiff bazlarının *S. cerevisiae*'nin kültür ortamına uygulanmasıyla oluşturulmuş gruplarda oksidatif stresten dolayı; total protein, GSH ve MDA seviyelerinin kontrol gruplarına kıyasla yüksek olması, *S. cerevisiae*'nin savunma ve biyokimyasal sistemi üzerinde farklı etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Bu veriler doğrultusunda; ilaç sanayinde sıklıkla kullanılan Schiff bazlı bileşiklerin canlı sistemler üzerindeki biyokimyasal değişimlerinin belirlenmesi ve etkilerinin ortaya konulmasına olumlu katkıda bulunulmuştur.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Agrawal YK, Talati JD, Shah MD, Desai MN, Shah NK 2004. Schiff Bases of Ethylenediamine as Corrosion Inhibitors of Zinc in Sulphuric Acid. *Journal of Corrosion Science* 46(3): 633-651.
- Allcock HR 1972. Phosphorus – Nitrogen Compounds. Academic Press. New York. London.
- Allcock HR 1992. Antibacterial Activity and Mutagenicity Studies of Water-Soluble Phosphazene High Polymers. *Journal of Biomaterials* 13: 12.
- Allcock HR, Nelson CJ, Coqqio WD, Manners I, Koros WJ, Walker DRB, Pessan LA 1993. Gas Permeation and Selectivity of Poly (Organophosphazene) Membranes. *Journal of the Macromolecules* 26: 1493-1502.
- Allen CW 1993. The Use of Phosphazenes as Fire Resistant Materials. *Journal Fire Sciences* 11: 320-328.
- Bergman LW 2001. Growth and Maintenance of Yeast. 2001. *Methods in Molecular Biology* Vol. 177, Two-Hybrid Systems: Methods and Protocols Edited by: P. N. MacDonald © Humana Press Inc, Totowa, NJ.
- Bernheim KA, Reed CS, Allcock HR 1999. Synthetic Bone: A. Polyphosphazene / Hydroxyapatite Composite. *Journal of Investigative Medicine* 47, 42A.
- Bozhan N 2017. Bazı Schiff Bazlarının *Sacharomyces cerevisiae* Kültür Ortamlarında Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 50 sy.

- Braconi D, Bernardini G, Santucci A 2015. *Saccharomyces cerevisiae* as a Model in Ecotoxicological Studies: A Post-Genomics Perspective. *Journal of Proteomics* 137: 19-34.
- Braconi D, Sotgi M, Millucci L, Paffetti A, Tasso F, Alisi C, Martini S, Rappuoli R, Lusini P, Rosa A, Rossi C, Santucci A 2006. Comparative analysis of the effects of locally used herbicides and their active ingredients on a wild-type wine (*Saccharomyces cerevisiae*) strain. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 54: 31633172.
- Brandt K, Kruszynski R, Bartczack JT, Czomperlik IP 2001. AIDS – Related lymphoma Screen Results and Molecular Structure Determination of a New Cron Ether Bearing Aziridinylcyclophosphazene, Potentially Capable of Ion – Regulated DNA Cleavage Action. *Journal of Inorganica Chimica Acta* 322: 138-144.
- Brandt K, Van de Grampel JC, Meetsma A, Jekel PA 1991. Recueil Des Travaux Chimiques Des. *Journal of Pays-Bas* 110(1): 27-28.
- Davies DB, Clayton AT, Eaton RJ, Shaw RA, Egan A, Hursthouse MB, Sykara GD, Porwollik-Czomperlik, I, Siwy M, Brandt K 2000. Chiral Configurations of Cyclotriphosphazatrienes. *Journal of The American Chemical Society* 122: 12447-12457.
- Gleria M, Jaeger DR 2004. Phosphazenes. Nova Science Publishers Inc. New York.
- Hertzsch T, Budde F, Weber E, Hulliger J 2002. Supramolecular-Wire Confinement of I₂ Molecules in Channels of the Organic Zeolite Tris(α -Phenylenedioxy)Cyclotriphos-Phazene. *Angew Chemistry International Edition* 41: 2281-2284.
- Izawa S, Inoue Y, Kimura A 1995. Oxidative Stress Response in Yeast: Effect of Glutathione on Adaptation to Hydrogen Peroxide Stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of FEBS Letters* 368(1): 73-76.
- İspir E, Toroglu S, Kayraldız A 2008. Syntheses, characterization, antimicrobial and genotoxic activities of new Schiff bases and their complexes. *Transition Metal Chemistry* 33(8): 953-960.
- Karataş F, Karatepe M, Baysar A 2002. Determination of Free Malondialdehyde in Human Serum by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Analytical Biochemistry* 311(19): 76-79.
- Karatepe M 2004. Simultaneous Determination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human by HPLC-UV. *Journal of LC-GC North America* 22: 62-365.
- Kılıç A, Beğec S, Çetinkaya B, Kılıç Z, Gündüz N, Yıldız M, Hökelek T 1996. Unusual Products in the Reaction of Hexachlorocyclotriphosphazatriene with Sodium Aryl Oxides. *Journal of Heteroatom Chemistry* 44(7): 249-256.
- Klejdus B, Zehnalek J, Adam V, Petrek J, Kizek R, Vacek J, Trnkova L, Rozik R, Havel L, Kuban V 2004. Sub-Picomole High-Performance Liquid Chromatographic/Mass Spectrometric Determination of Glutathione in the Maize (*Zea mays* L.) Kernels Exposed to Cadmium. *Analitica Chimica Science* 520(1-2): 117-124.
- Laguna MTR, Tarazona MP, Carriedo GA, Allonso FJG, Fidalgo JI, Saiz E 2002. Thermal Degradation and Solution Properties of Poly (2, 2' – Dioxybiphenylphosphazene). *Journal of Macromolecules* 35: 7505-7515.
- Lakshmi S, Lee DA, Bender JD, Allcock HR, Laurencin CT 2003. In Vitro Evaluation of Novel Biodegradable Polyphosphazenes for Bone Tissue Engineering. *Proceeding of the Joint Conference of the 47th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society* 6-7 August 2009, Newyork Universtiy-Newyork, 937.
- Langone F, Lora S, Veronese FM, Calicet P, Pornigotto PP, Valenti F, Palma G 1995. Peripheral Nerve Repair Using Poly (Organo) Phosphazene Tubular Prosthesis. *Journal of Biomaterials* 16(5): 347-353.
- Laurencin CT, Koh HJ, Neenan TX, Allcock HR, Langer R 1987. Controlled Release Using a New Biodegradable Polyphosphazene Matrix System. *Journal of Biomedical Materials Research* 21: 1231-1246.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ 1951. Protein Measurement with the Folin-Phenol Reagent. *The Journal of Biochemistry* 193: 265-277.
- Moore FJ, Gale RD 1908. The Colored Salts of Schiff's Bases. A Contribution to Our Knowledge of Color as Related to Chemical Constitution. *Journal of The American Chemical Society* 30: 394-404.
- Moriya K, Yamane T, Suzuki T, Masuda T, Mizusaki H, Yano S, Kajiwrw M 2003. Mesogenicity of Organophosphazenes: The Effects of Phosphazene Ring and Side Groups on the Phase Transition. *Journal of The Chemical Information and Modeling* 34 (4).
- Öztürk AI, Yılmaz Ö, Kırbağ S, Arslan M 2000. Antimicrobial and Biological Effects of Ipephos and Amphos on Bacterial and Yeast Strains. *Journal of Cell Biochemistry and Function* 18: 17-126.
- Penninckx M 2000. A Short Review on the Role of Glutathione in the Response of Yeasts to Nutritional, Environmental, and Oxidative Stresses. *Journal of Enzyme and Microbiol Technology Sciences* 26(9-10): 737-742.
- Peterson ES, Stone ML, Mc Caffery RR, Cummings DG 1993. Mixed-Gas Separation Properties of Phosphazene Polymembranes. *Journal of Separation Technology Science* 28(1-3): 425.
- Pratap UR, Jawale DV, Bhosle MR, Mane RA 2011. *Saccharomyces cerevisiae* catalyzed one-pot three component synthesis of 2,3-diaryl-4-thiazolidinones. *Tetrahedron Letters* 52(14): 1689-1691.

- Schiff H 1869. Untersuchungen Über Salicinderivate. *Journal of The American Chemical Society* 150: 193-200.
- Shaw RA, Fitzsimmon BW, Smith BC 1962. The Phosphazenes (Phosphonitrilic Compounds). *Journal of Chemistry Reviews* 62: 242-281.
- Song SC, Lee BS, Lee HB, Ha HW, Lee KT, Sohn YS 2003. Synthesis and Antitumor Activity of Novel Thermosensitive Platinum (II)- Cyclophosphazene Conjugates. *Journal of Controlled Releases* 90: 303-311.
- Tamarit J, Cabisco E, Ros J 1998. Identification of the major oxidatively damaged proteins in *Escherichia coli* cells exposed to oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 273: 3027 – 3032.
- Taş E, Kılıç A, Aslanoğlu M, Kaplan Ö, İlhan S, Ulusoy M 2005. Dört Dişli Salisilaldimin Schiff Bazı Ligandları ile Bunların Co(II) ve Cu(II) Komplekslerinin Sentezi Karakterizasyonu ve Redoks Özellikleri. XIX. Ulusal Kimya Kongresi, Kuşadası, s:328.
- Tümer M, Akgün E, Toroğlu S, Kayraldız A, Donbak L 2008. Synthesis and characterization of Schiff base metal complexes: their antimicrobial, genotoxicity and electrochemical properties. *Journal of Coordination Chemistry* 61(18): 2935-2949.
- Van der Huizen AA 1984. Aziridinly Cyclophosphazenes, Synthesis, Structure and Cytostatic Activity. Doctor These Ones, Universty of Groningen, Hollanda.
- Vandorpe J, Schacht E, Stolnik S, Garnett MC, Davies MC, Illum L, Davis SS 1996. Poly(organo phosphazene) Nanoparticles Surface Modified with Poly(Ethylene Oxide). *Journal of Biotechnology and Bioengineering Sciences* 52(1): 89-95.
- Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL 2004. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Journal of Endocrinology Revision* 25(4): 612-28.
- Walker BJ 1972. Organophosphorus Chemistry. Penguin Books Ltd. Harmondsworth. England.
- Yılmaz O, Keser S, Tuzcu M, Guvenc M, Cetintaş B, Irtegun S, Tastan H, Sahin K 2009. A Practical HPLC Method to Measure Reduced (GSH) and Oxidized (GSSG) Glutathione Concentrations in Animal Tissues. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8(2): 343- 347.
- Yılmaz Ö, Arslan F, Öztürk AI, Vanlı NS, Kırbağ S, Arslan M 2002. Antimicrobial and Biological Effects of N- Diphenylphosphoryl- P- Triphenylmono phosphazene- II and N- Dio (o-tolyl) Phosphoryl- P- tri (o- tolyl) Monophosphazene- III on Bacterial and Yeast Cells. *Journal of Bioorganic Chemistry* 30(5): 303-314.



Antioxidant Activity, Isolation and Identification of Some Chemical Constituents of *Sphaerophysa kotschyana*

Abdussamat GÜZEL^{1*}, Mahfuz ELMASTAŞ²

¹Department of Chemistry, Science and Arts Faculty, Gaziosmanpaşa University, 60250, Tokat, ²Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Health Sciences, 34668, Istanbul, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-7810-4510>, ²<https://orcid.org/0000-0002-7149-7427>

✉: a.sametguzel@gmail.com

ABSTRACT

Sphaerophysa kotschyana, an endemic plant belonging to Fabaceae, is distributed around the Tuz Lake in the Konya region. In this study, methanolic extract of *S. kotschyana* was evaluated for antioxidant capacity. According to obtained data; free radical scavenging capacity (DPPH•) and reducing power activity were observed to be lower than standard antioxidants, cation radical scavenging activity (ABTS•+) was similar to the standard antioxidants. Total phenolic compound was found in leaf-stem and fruit 0.357 mg GAE/kg DW and 0.006 mg GAE/kg DW, respectively. D-pinitol and sucrose were isolated and identified by chromatographic and spectroscopic techniques.

Research Article

Article History

Received : 05.11.2019

Accepted : 19.12.2019

Keywords

Sphaerophysa kotschyana

Antioxidant Capacity

Isolation

Sphaerophysa kotschyana Bitkisinin Antioksidan Aktivitesi ve Bazı Kimyasal Bileşenlerinin İzolasyonu ve Belirlenmesi

ÖZET

Fabaceae'ye ait endemik bir bitki olan *Sphaerophysa kotschyana*, Konya bölgesindeki Tuz Gölü çevresinde dağılım gösterir. Bu çalışmada, *S. kotschyana* bitkisinden elde edilen metanol ekstraktından antioksidan kapasitesi değerlendirildi. Elde edilen antioksidan aktivite sonuçlarına göre; serbest radikal (DPPH•) giderme aktivitesi ve indirgeme gücü aktivitesi standart antioksidanlara göre düşük olduğu gözlemlenirken, katyon radikal (ABTS•+) giderme aktivitesi standart antioksidanlara benzer bir aktivite göstermektedir. Toplam fenolik bileşiklerin tayininde sırasıyla yaprak-sapı ve meyvede, 0,357 mg GAE / kg kuru bitki ve 0,006 mg GAE / kg kuru bitki olarak bulunmuştur. D-pinitol ve sukroz kromatografik ve spektroskopik teknikler ile izole edildi ve yapısı aydınlatıldı.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 05.11.2019

Kabul Tarihi : 19.12.2019

Anahtar Kelimeler

Sphaerophysa kotschyana

Antioksidan kapasite

İzolasyon

To Cite: Güzel A, Elmastaş M 2020. Antioxidant activity, isolation and identification of some chemical constituents of *Sphaerophysa kotschyana*. KSU J. Agric Nat 23 (2): 289-296. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.642953.

INTRODUCTION

The *Sphaerophysa* genus belonging to the Fabaceae is represented by two species in the world. These are *Sphaerophysa kotschyana* Boiss. and *S. salsula* DC. (Polhill, 1981). *Sphaerophysa salsula* is widely distributed in the Middle-Asian and northwest of China. In traditional Chinese medicine, *S. salsula* is used as a phytotherapeutic agent for the cure of certain diseases such as nephritis, hypertension, chronic hepatitis and angioneurotic oedema. The plant is resistant to normal drought and plays an important role in improving inefficient soil environments (Lin et al., 2009; Ma et al., 2004). Phytochemical investigation on *S. salsula* resulted in the isolation of flavonoids (Ma et al., 2004), isoflavans (Jiao et al., 2018), sterols (Li et al., 2005), lignan (Ma et al., 2003) and stilbenes (Ma et

al., 2002). *Sphaerophysa kotschyana* included in the list of preservation plant which is halophyte plant is endemic for the Central Anatolian province (Hamzao and Aksoy, 2009; Trouwborst, 2014; Yildiztugay et al., 2013). It can resist salt-related damages at low salt concentrations (Yildiztugay et al., 2013). This property may come from its secondary metabolites contents.

Oxygen that produces reactive oxygen species is a reactive substance with a capacity to damage living tissue. This is a contrast to metabolism (Davies, 2000; Halliwell and Gutteridge, 1984). Oxidation, takes place by electron transfer, compose an important part of metabolic activities. ATP production, the last electron acceptor in the electron transport chain (ETC) is oxygen (Gülçin et al., 2003; Halliwell and Cross, 1994). During electron flow, unpaired electrons are

formed. Unpaired electrons in free radicals want to go into a stable state and take electrons from a stable compound and convert it into a new free radical (Davies, 2000; Gülçin, 2012). This sequence of chain reactions initiated by free radicals continues until stopped by antioxidants. If the antioxidants remain insufficient, then these electrons form free radicals and cause various damages to the organism (Gulcin et al., 2008; Halliwell and Cross, 1994). The increase of free radicals can cause various diseases because it can damage the function of the cell (Attaur Rahman and Choudhary, 2001; Davies, 1995).

All aerobic organisms and human beings have defence mechanisms to preserve against these oxidant damages. These defence mechanisms are called antioxidant defence mechanisms (Davies, 2000; Vermerris and Nicholson, 2006). The antioxidant defence mechanism can act in many different stages of an oxidative sequence. Antioxidants carry out defence mechanisms such as preventing radical formation, capturing radicals, increasing elimination of damaged molecules, and destroying excess damaged DNA cells to prevent the growth of transformed cells (Halliwell and Gutteridge, 2007).

According to our literature research, we did not find any studies on isolation and antioxidant capacity of *S. kotschyana*. Therefore, we aim to work determination of antioxidant capacity of methanolic extract of the plant. The second aim of the study is isolation and identification of some chemical compounds. As a result of this study, new information about phytochemical properties of this plant will be given to the literature.

MATERIALS and METHODS

General experimental procedures

NMR spectrum analyses were performed by Bruker-400 MHz spectrometer (400 MHz for proton and 100 MHz for carbon analysis). UV measurements were executed on a Hitachi U-2900 UV-VIS spectrometer. Column chromatography was performed on Silica Gel (60-230 mesh, E. Merck, Germany). TLC was carried out on aluminium plates coated with Silica Gel (0.25 mm, E. Merck, Germany). Material detection was carried out by spraying seric sulfate solution over TLC and then heating.

BHT, BHA, Trolox, trichloroacetic acid (TCA), ABTS, Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, DPPH·, Potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$), potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) were used for antioxidant assays and All solvents and chemical compounds supplied from chemical company E. Merck (Germany).

Plant Material

The plant materials were collected from Konya, the central Anatolia region of Turkey during the fruit period in July and identified by Prof. Dr. Murad Aydn

Şanda and sent to our laboratory for leaf-stem and fruit chemical analysis of the *S. kotschyana* plant which was dried in a way that would not see the sun. (Herbarium Number: Şanda 2350).

Extraction and isolation

Extraction for total phenolic compound analysis and antioxidant activity assay

The leaf-stem and fruits of arial plant were dried and powdered. 0.2 g the leaf-stem and 0.2 g fruits weighed into capped glass tubes then extracted with 10 mL methanol/dichloromethane mixture (4: 1). It was vortexed and left in the ultrasonic bath for 15 minutes and then incubated for 1 day.

Extraction for isolation

Dried and powdered leaf-stem extracted with methanol. Filtered extract was evaporated in rotary evaporator and 8 g extract were obtained from leaf-stem.

Isolation

Isolation was accomplished by adding methanol extract (8 g) to the silica gel column (5x120 cm, DxL). Fractionation was performed with increasing polarity from hexane to EtOAc and from EtOAc to MeOH. In the isolation study, a total of 373 fractions were collected by taking 100 ml into each tube. All eluates were subjected to thin layer chromatography and then the compounds having the same R_f value were combined. Pinitol (1) and Sucrose (2) were isolated from the fractions of 209 and 288, respectively.

Evaluation of Antioxidant Activities

Ferric Ions (Fe^{3+}) Reducing Antioxidant Power Assay (FRAP)

The reducing powers of *S. kotschyana* leaf-stem and fruits extracts were determined by modified Oyaizu method (Elmastaş et al., 2006; Oyaizu, 1986). To the *S. kotschyana* extract solutions (40, 80, 120 μ g/mL) in 1 mL of methanol was mixed with 2.5 mL of phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) and 2.5 mL of 1% potassium ferricyanide [$K_3Fe(CN)_6$]. The mixtures were incubated at 50°C for 20 min. Trichloroacetic acid (2.5 mL, 10%) was added to each mixture and they were centrifuged (at 3,000 rpm for 10 min). The upper layers of solutions (2.5 mL) were mixed with distilled water (2.5 mL) and $FeCl_3$ (0.5 mL, 0.1%), and absorbances were measured at 700 nm. Increased absorbance of the reaction mixture indicates an increase of reduction capability.

DPPH· Free Radical Scavenging Activity

DPPH· free radical scavenging activity of *S. kotschyana* leaf-stem and fruits extracts and

standards were measured by the method of Blois (Blois, 1958). 0.1 mM solution of DPPH[•] in ethanol was prepared and 1mL of this solution was added to 3mL of the samples solution in methanol at different concentrations (60, 80, 160 µg/mL). These solutions were vortexed thoroughly and kept in the darkness for 30 min. The absorbance was measured at 517 nm by a spectrophotometer and the lower absorbance of the reaction mixture revealed the higher free radical scavenging activity. The capability to scavenge DPPH[•] radical was calculated using the following equation:

$$\text{DPPH}^{\bullet} \text{ scavenging effect (\%)} = (\text{Absorbance of control} - \text{Absorbance of sample}) / \text{Absorbance of control} \times 100$$

ABTS^{•+} Radical Cation Scavenging Assay

ABTS^{•+} scavenging activity assay was carried out according to Re method (Re et al., 1999). The process of ABTS^{•+} (2.0 mM) in water with potassium persulfate (K₂S₂O₈) (2.45 mM) at room temperature in dark for 4 h gave the ABTS cation radical. Dilution of ABTS^{•+} was applied with phosphate buffer (0.1 mol/L, pH 7.4) to measure the absorbance at 734 nm. The reactions of ABTS^{•+} solution (1.0 mL) with samples solution in ethanol (3.0 mL) at different concentrations (2.5, 5.0, 10.0 µg/mL) were performed. The inhibition was calculated at 734 nm for each concentration. The scavenging ability of ABTS^{•+} was calculated as the following equation:

$$\text{ABTS}^{\bullet+} \text{ scavenging activity (\%)} = [(Ac - As) / Ac] \times 100$$

where Ac is the initial concentration of ABTS^{•+} and as

is the absorbance of the remaining concentration of ABTS^{•+} in the samples.

Determination of Total Phenolic Compounds

Folin-Ciocalteu reagent and gallic acid as a standard were used to determine the total phenolic constituent of *S. kotschyana* leaf-stem and fruits extracts (Slinkard and Singleton, 1977). 10-fold diluted Folin-Ciocalteu reagent (2.5 mL) and Na₂CO₃ (2 mL, 75 g/L) were added to the plant extract (0.5 mL, 1 mg/mL). After this mixture was vortexed and incubated for 2 hours. The absorbance measurement was performed at 760 nm by a spectrophotometer. Calibration graph was performed according using gallic acid. Accordingly, the results were calculated as milligram gallic acid equivalent (GAE) per kg dry plant.

Statistical analysis

The results of the study were performed by taking the average ± SD of at least three independent measurements.

RESULTS and DISCUSSION

Natural products

In this study, D-pinitol (1) and sucrose (2) are isolated from methanol extract by silica gel column chromatography (Figure 1). Their molecular formula was determined as C₇H₁₄O₆ (1) and C₁₂H₂₂O₁₁ (2) by 1H-NMR, HETCOR, COSY, HMBC, 13C-NMR, APT, DEPT-90 and DEPT-135 spectrums.

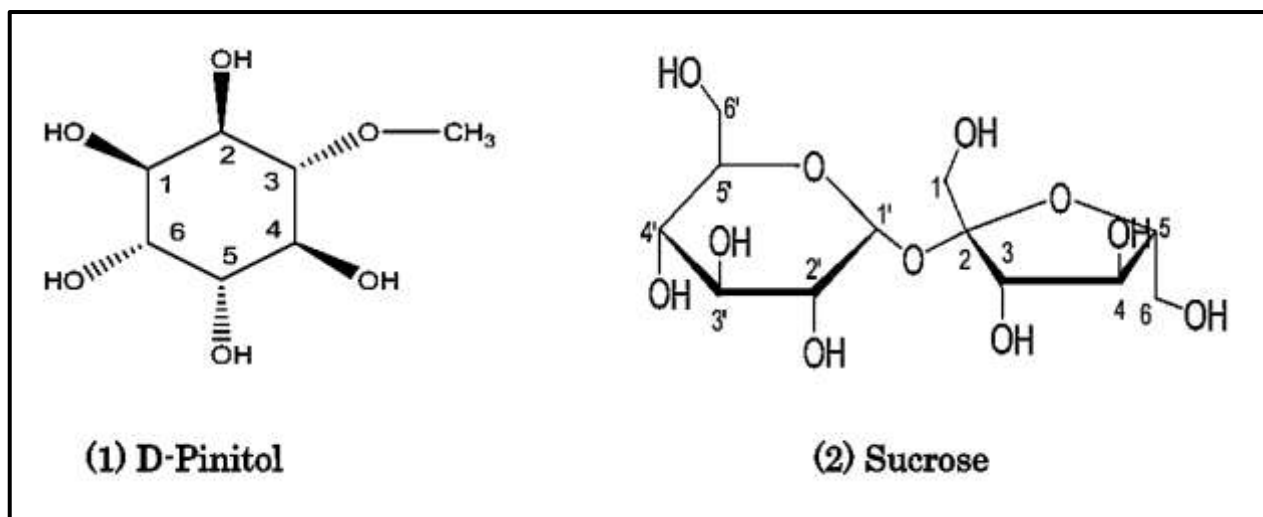


Figure 1. Structures of compounds isolated from *S. kotschyana*
Şekil 1. *S. kotschyana* bitkisinden izole edilen bileşiklerin yapısı

D-Pinitol (3-O-Methyl-D-chiro-inositol) compound was shown to have seven carbon atoms in the 13 C-NMR, APT, DEPT-90 and DEPT-135 spectra (Figure 2.A). The DEPT-90 spectrum showed six methines carbons. The carbon at 60.06 ppm belongs to the methyl carbon in the methoxy group from the DEPT-135 and APT spectra. From the 1H-NMR spectrum of the D-pinitol

compound, the -OH protons range from 4.3 to 4.8; The H-3 proton was triplet at 3.01 (*J* = 9.04 Hz) and the H-4 proton at 3.50 ppm as a multiplet resonance. While H-5 and H-6 protons signal at 3.63 and 3.62 ppm, -OCH₃ protons showed singlet at 3.43 ppm (Figure.2.B). D-Pinitol In the HMBC spectrum, -OCH₃ carbon (60.07 ppm) with H-3 proton (3.01 ppm),

C-6 carbon (72.85 ppm) with H-5 proton (3.63 ppm) and C-3 carbon (84.21 ppm) with H-1 proton (3.44 ppm) was seen to interact with long distance (Table 1). NMR

values of D-Pinitol compound are consistent with those given in the literature (Blanco *et al.*, 2008; Misra and Siddiqi, 2004; Sharma *et al.*, 2016).

Table 1. ¹H-NMR, ¹³C-NMR chemical shift values and HMBC correlations of D-Pinitol and Sucrose (400 MHz, 100 MHz, DMSO-d₆)

Çizelge 1. D-Pinitol ve Sukroz bileşiğinin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR kimyasal kayma değerleri ve HMBC korelasyonları (400 MHz DMSO-d₆)

D-Pinitol				Sucrose		
C/H	δ _c (ppm)	δ _H (ppm)	HMBC	δ _c ppm	δ _H ppm (Hz)	HMBC
1	71.38	3.44, m		62.58	3.55	H ₃
2	73.04	3.35		104.18		H _{1'}
3	84.21	3.01, (t, J=9.04)	H ₁	77.50	3.87 (t, J=8.00)	
4	70.53	3.50, m		74.45	3.76	ND
5	72.40	3.63, m		83.00	3.56	H ₆
6	72.85	3.62, m	H ₅	62.52	3.40	H ₄
1'				92.23	5.17	
2'				72.09	3.16	H _{1'}
3'				73.27	3.48	H _{5'}
4'				70.31	3.16	
5'				73.27	3.65	H _{3'}
6'				60.95	3.59	
OCH ₃	60.07	3.43, s	H ₃			

Sucrose was isolated in crystalline form. The ¹³C spectrum revealed the presence of twelve carbons compatible with the structure (Figure 2.C). The peaks of 4.30-5.30 ppm in the ¹H-NMR spectrum of sucrose compound belong to -OH protons (Figure 2.D). The triplet at 83.87 belongs to proton H-3 (J = 8.00 Hz) (Table 1). In the HMBC spectrum, protons H-1 (5.17 ppm) with C-2 (104.18 ppm) and C-2 (72.09 ppm), H-6 (3.40 ppm) proton with C-5 (83.00 ppm) carbon, C-3' and C-5' carbons (73.27 ppm) with H-5 and H-3' protons (3.16 ppm) was showed to interact with long distance (Table 1). The signal values of the sucrose compound are proper with the literature data (El-Domiaty *et al.*, 2009; Popov *et al.*, 2006).

Antioxidant activities

Antioxidant properties of functional compounds in foods are important for medical bioactivity. In this work, the antioxidant activity of methanol extract of *S. kotschyana* leaf-stem and fruits were compared to standard antioxidants (BHA and trolox). The activity of the *S. kotschyana* of the leaf-stem and fruit section was high in the determination of ABTS^{•+} cation free radical scavenging activity (Figure 3).

As shown in figure 3 and figure 4, *S. kotschyana* is low in DPPH, FRAP and total phenolic compounds. Phenols and their derivatives have antioxidant activity because they have hydroxyl groups. 0,357 and 0,006 mg gallic acid equivalent of phenols were detected in leaf-stem and fruit respectively. The presence of low amounts of total phenolic compounds

content in this work may be the cause of these low antioxidant activities. However, the ABTS^{•+} cation radical scavenging activity of *S. kotschyana* showed the same activity as standard antioxidants (Figure 5). This may be due to chemical contents in the plant which react with ABTS^{•+} cation radical.

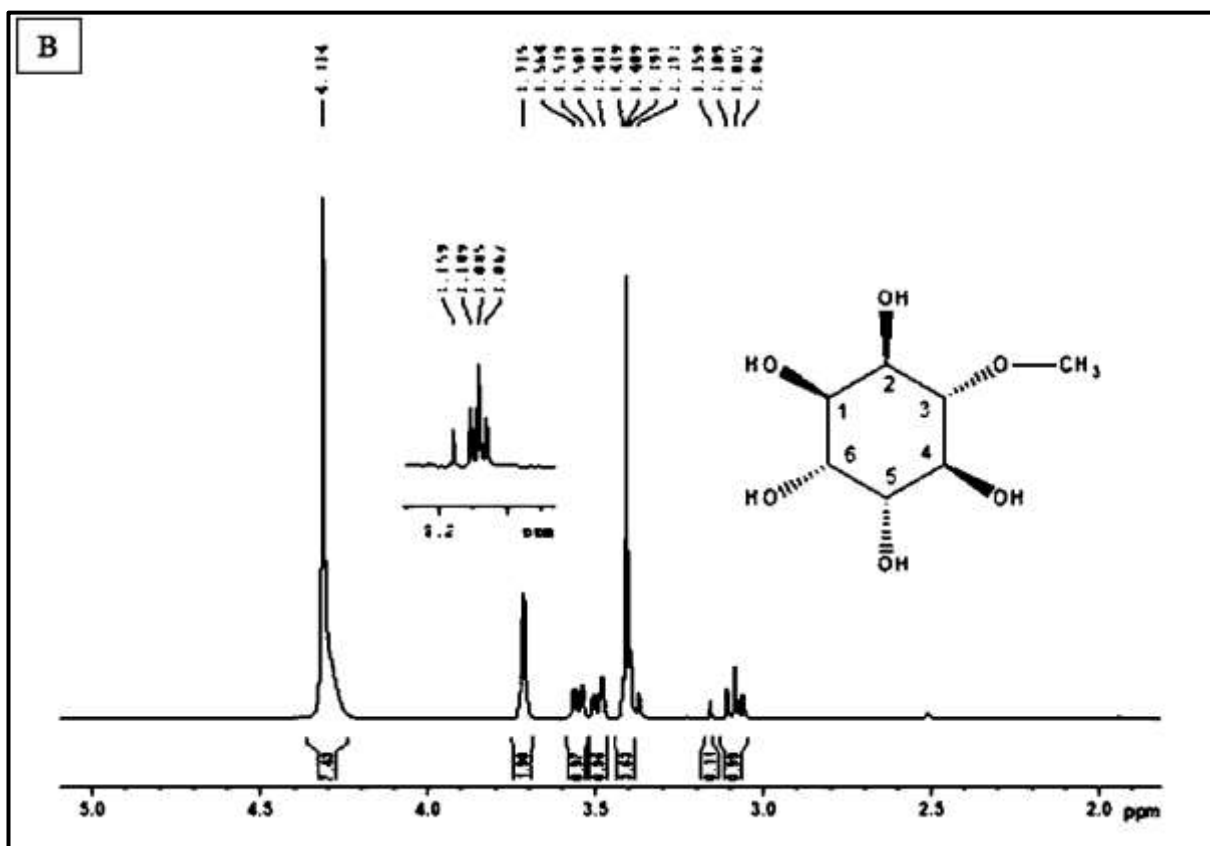
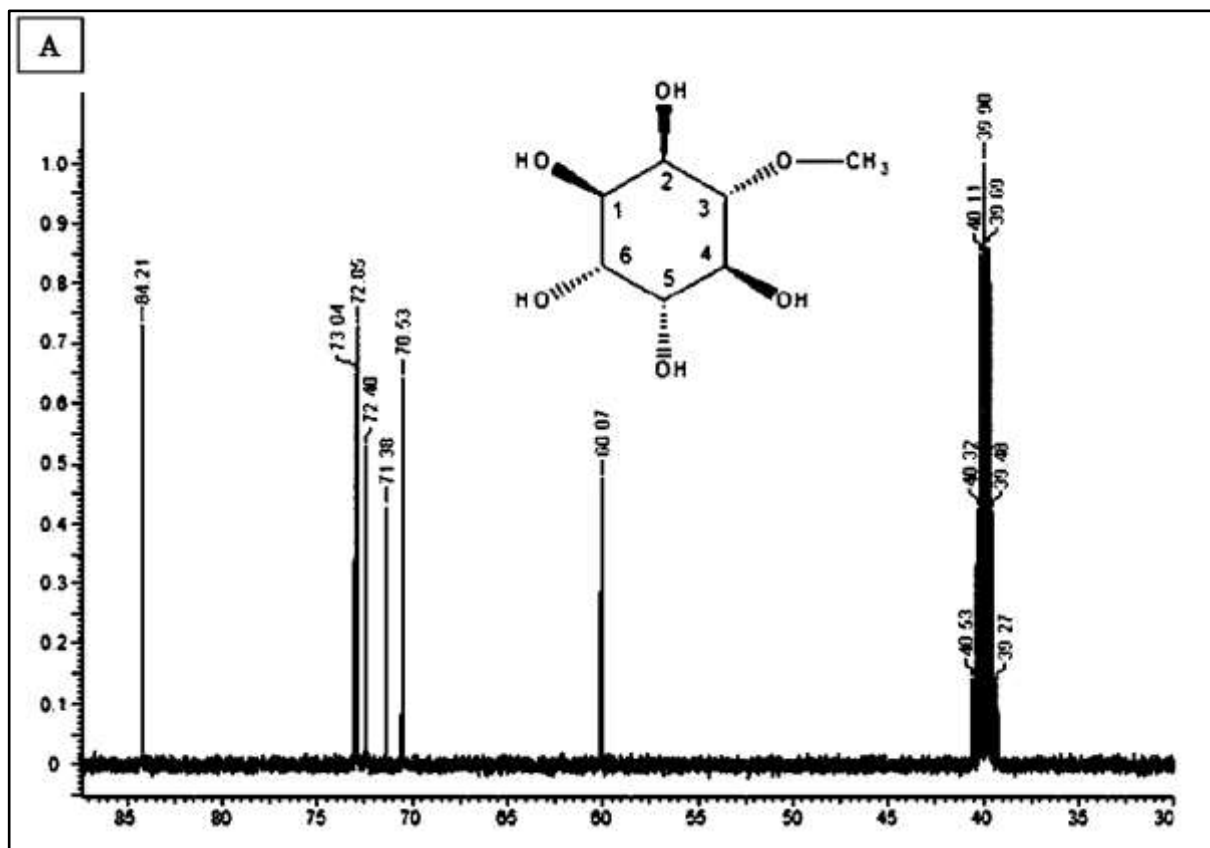
Sucrose and D-Pinitol isolated from the *S. kotschyana* firstly and obtained results from the study was presented new data into literature. Because sucrose and D-pinitol isolated and elucidated their structures from *S. kotschyana* first time. DPPH, superoxide scavenging activity, nitric oxide scavenging activities of D-pinitol were reported previously. It was reported that its activity was close to standard (Rengarajan *et al.*, 2014). At the same time D-pinitol has been found to have an anti-inflammatory effect (Singh *et al.*, 2001).

CONCLUSION

When the results are evaluated, it is seen that there is a paradox in terms of antioxidants. Because ABTS^{•+} is higher than other antioxidant tests. However, ABTS^{•+} can be used as a free radical cation clearing agent. In the future studies on *S. kotschyana* can be performed for other chemical content isolation and elucidation.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Murat Aydın Sanda for supplying plant material and identifying species. This study practised in Plant Research Laboratory A (BALAB) in Tokat Gazisomanpasa University.



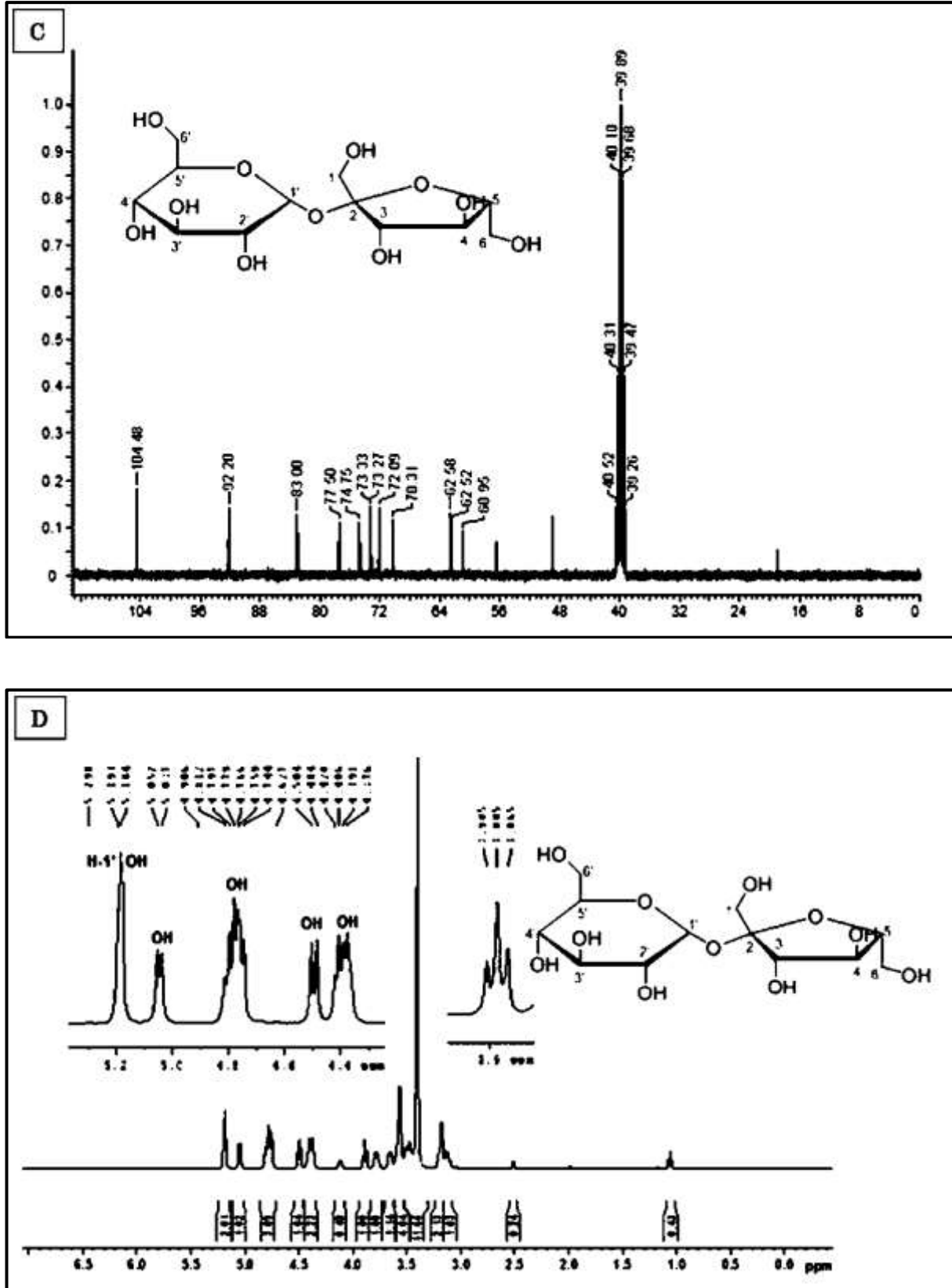


Figure 2. (A) ¹³C-NMR spectrum of the compound D-Pinitol (100 MHz, DMSO-d₆). (B) 400 MHz ¹H-NMR of D-pinitol in D₂O. (C) ¹³C-NMR spectrum of the compound Sucrose (100 MHz, DMSO-d₆). (D) 400 MHz ¹H-NMR of Sucrose in D₂O

Şekil 2.(A) D-Pinitol bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu (100 MHz, DMSO-d₆). (B) D-Pinitol bileşiğinin D₂O'lu 400 MHz ¹H-NMR spektrumu. (C) Sukroz bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu (100 MHz, DMSO-d₆). (D) Sukroz bileşiğinin D₂O'lu 400 MHz ¹H-NMR spektrumu.

DPPH

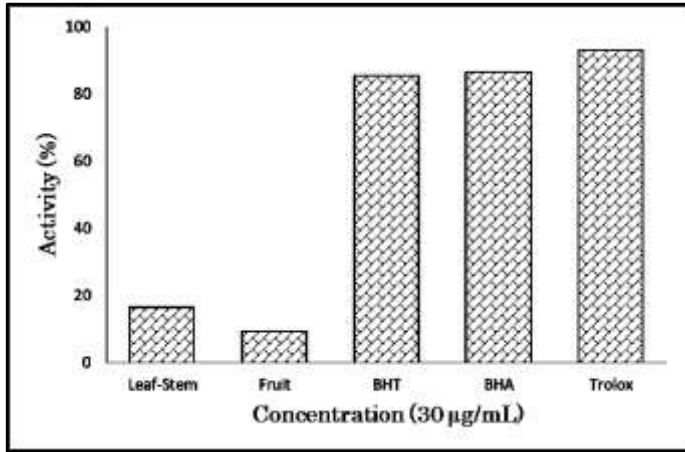


Figure 3. DPPH free radical scavenging activity of extracts and standard antioxidants

Şekil 3. Ekstraktların ve standart antioksidanların DPPH serbest radikal giderme aktivitesi

FRAP

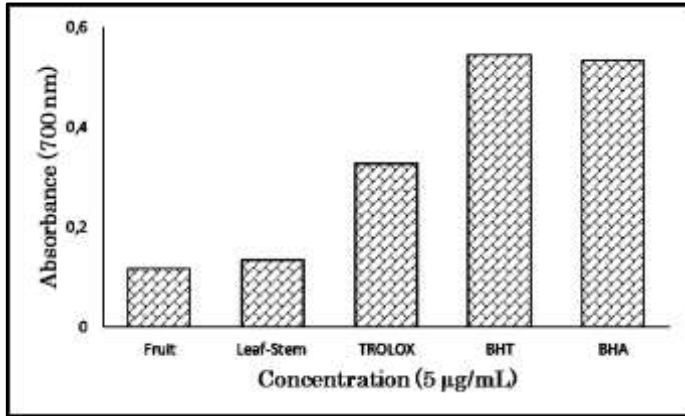


Figure 4. FRAP reducing power activity of extracts and standard antioxidants

Şekil 4. Ekstraktların ve standart antioksidanların FRAP indirme gücü aktivitesi

ABTS

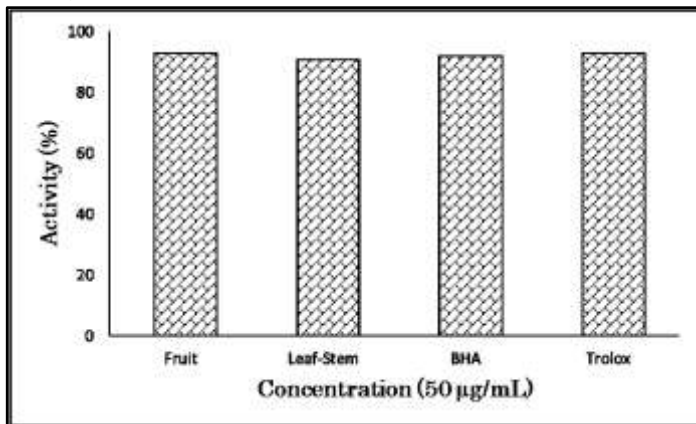


Figure 5. ABTS cation radical scavenging activity of extracts and standard antioxidants

Şekil 5. Ekstraktların ve standart antioksidanların ABTS katyon serbest radikal giderme aktivitesi

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Attaur Rahman, Choudhary MI 2001. Bioactive natural products as a potential source of new pharmacophores. A theory of memory. Section Title: General Biochemistry 73 (3): 555–560.
- Blanco N, Flores Y, Almanza GR 2008. Secondary Metabolites From Senna Versicolor. Revista Boliviana de Química 25 (1): 36–42.
- Blois MS 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199–1200.
- Davies KJ 1995. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. Biochemical Society symposium 61: 1–31.
- Davies KJ 2000. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. IUBMB Life 50: 279–289.
- El-Domiaty MM, Aal MMA, Abou-Hashem MM, Abd-Alla RH, Wink M 2009. Antihepatotoxic Activity and Chemical Constituents of Buddleja asiatica Lour. Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences 64 (1–2): 11–19.
- Elmastaş M, Gülçin I, Beydemir Ş, Küfreviolu ÖI, Aboul-Enein HY 2006. A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (Juniperus communis L.) fruit extracts. Analytical Letters 39: 47–65.
- Gülçin I 2012. Antioxidant activity of food constituents: An overview. Archives of Toxicology 86 (3): 345–391.
- Gülçin I, Oktay M, Kireççi E, Küfrevioğlu ÖI 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (Pimpinella anisum L.) seed extracts. Food Chemistry 83 (1): 371–382.
- 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 (2): 450–471.
- Halliwell B, Cross CE 1994. Oxygen-derived species: Their relation to human disease and environmental stress. Environmental Health Perspectives 102 (10): 5–12.
- Halliwell B, Gutteridge JMC 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochemical Journal 219: 1–14.
- Halliwell B, Gutteridge JMC 2007. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, New York 905–2015 .
- Hamzaoğlu E, Aksoy A 2009. Phytosociological studies

- on the halophytic communities of central Anatolia. *Ekoloji* 14: 1–14.
- Jiao LJ, Wang WD, Tao YD, Shao Y, Mei LJ, Liu ZG, Wang QL, Dang J 2018. 8-isopentenyl isoflavone derivatives from the whole herb of *Sphaerophysa salsula*. *Natural Product Research* 32 (21): 2542–2546.
- Li GY, Wang JH, Li X 2005. Sterols from the pericarp of *Sphaerophysa salsula* DC. *Journal of Asian Natural Products Research* 7 (2): 165–169.
- Lin X, Jiajie X, Qiaoli L, Ruimei X, Gehong W 2009. Genetic diversity in rhizobia isolated from *Sphaerophysa salsula* in several regions of northwestern China. *Biodiversity Science* 17 (1): 69–75.
- Ma Z, Fujii I, Ebizuka Y, Li X, Shimomaki S, Sakano Y 2004. Flavonoids from the seeds of *Sphaerophysa salsula*. *Journal of Asian Natural Products Research* 6 (1): 69–73.
- Ma Z, Li X, Li N, Wang J 2002. Stilbenes from *Sphaerophysa salsula*. *Fitoterapia* 73 (4): 313–315.
- Ma Z, Tian J, Fujii I, Ebizuka Y, Li X 2003. A new lignan from the seeds of *Sphaerophysa salsula*. *Natural Product Research* 17 (6): 423–425.
- Misra LN, Siddiqi SA 2004. Dhaincha (*Sesbania bispinosa*) leaves: A good source of antidiabetic (+)-pinitol. *Current Science* 87 (11): 1507.
- Oyaizu M 1986. Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics* 44 (6): 307–315.
- Polhill RM 1981. Advances in legume systematics: parts 1 & 2. Kew, Royal Botanic Gardens 2: 1–7.
- Popov KI, Sultanova N, Rönkkömäki H, Hannu-Kuure M, Jalonen J, Lajunen LHJ, Bugaenko IF, Tuzhilkin VI 2006. ¹³C NMR and electrospray ionization mass spectrometric study of sucrose aqueous solutions at high pH: NMR measurement of sucrose dissociation constant. *Food Chemistry* 96 (2): 248–253.
- 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): 1231–1237.
- Rengarajan T, Rajendran P, Nandakumar N, Balasubramanian MP, Nishigaki I 2014. Free radical scavenging and antioxidant activity of D-pinitol against 7, 12 dimethylbenz (a) anthracene induced breast cancer in sprague dawley rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 4 (5): 384–390.
- Sharma N, Verma MK, Gupta DK, Satti NK, Khajuria RK 2016. Isolation and quantification of pinitol in *Argyrobolium roseum* plant, by ¹H-NMR. *Journal of Saudi Chemical Society* 20 (1): 81–87.
- Singh RK, Pandey BL, Tripathi M, Pandey VB 2001. Anti-inflammatory effect of (+)-pinitol. *Fitoterapia* 72 (2): 168–170.
- Slinkard K, Singleton V 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *The American Journal of Enology and Viticulture* 28: 49–55.
- Trouwborst A 2014. Exploring the legal status of Wolf-dog hybrids and other dubious animals: International and EU law and the wildlife conservation problem of hybridization with domestic and alien species. *Review of European, Comparative and International Environmental Law* 23 (1): 111–124.
- Venkateswarlu S, Satyanarayana B, Sureshbabu C V, Subbaraju G V 2003. Synthesis and antioxidant activity of 4-[2-(3,5-dimethoxyphenyl)ethenyl]-1, 2-benzenediol, a metabolite of *Sphaerophysa salsula*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 67 (11): 2463–2466.
- Vermerris W, Nicholson R 2006. Phenolic compounds and their effects on human health. In *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, Dordrecht 235–255.
- Yildiztugay E, Ozfidan-Konakci C, Kucukoduk M 2013. *Sphaerophysa kotschyana*, an endemic species from Central Anatolia: Antioxidant system responses under salt stress. *Journal of Plant Research* 126 (5): 729–742.

Effects of 6-benzylaminopurine and Activated Carbon on Indirect Organogenesis of *Fritillaria Imperialis*

Nigar SAEED^{1*}, Sabahattin CÖMERTPAY²

¹Sulaimani Polytechnic University, Bakrajo Technical Institute, Sulaymaneyah, Iraq, ²Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Faculty of Agriculture, Agricultural Biotechnology Department, Kahramanmaraş-Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-9903-5339>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4850-6927>

✉: nigar.saeed@spu.edu.iq

ABSTRACT

Fritillaria imperialis needs 2-3 years to regenerate from seeds, which makes its production quite challenging. In this study, effects of three concentrations of 6-Benzylaminopurine (BAP) (0.00, 0.10 and 0.15 mg/L) and three different amounts (0.0, 3.0 and 3.5 g/L) of activated carbon (AC) on the growth of *F. imperialis* plantlets *in vitro* were determined. The auxins were at similar concentration (0.01 mg/L of NAA and 0.01 mg/L of IAA) for all treatments. It has been found that the size and number of bulblets, as well as root and shoot numbers in regenerated plantlets were increased significantly ($p<0.05$) by adding 3.5 g/L of AC in culture medium supplemented with 0.10 mg/L of BAP. Moreover, addition of AC significantly reduced the length of roots in all doses studied ($p<0.05$). The supreme concentration of BAP (0.15 mg/L) decreased the bulblet number in all treatments, however, when supplemented with 3.5 g/L of AC, it was found to raise all the values measured ($p<0.05$). Overall, the best growth of the plant parts from callus were achieved with the highest concentration of AC and 1.5 mg/L of BAP.

Research Article

Article History

Received : 30.09.2019

Accepted : 11.11.2019

Keywords

Activated charcoal
Bulblet
Crown imperial
Cytokinin
Micropropagation

6-benzilaminopurin ve Aktif Karbonun *Fritillaria Imperialis*'in Dolaylı Organogenezi Üzerindeki Etkileri

ÖZET

Fritillaria imperialis türü bitkiler, tohumlarını yenilemek için iki yıldan fazla bir süreye ihtiyacı duymakta ve bu durum üretimlerini zorlaştırmaktadır. Bu çalışmada, üç farklı derişimdeki 6-Benzilaminopurinin (BAP) (0.00, 0.10 ve 0.15 mg/L) ve üç farklı miktardaki (0.0, 3.0 ve 3.5 g/L) aktif karbonun (AC) *F. imperialis* bitkilerinin büyümesine etkisi *in vitro* olarak incelenmiştir. Tüm muamele grupları için benzer konsantrasyonda oksin (0.01 mg/L NAA ve 0.01 mg/L IAA) kullanılmıştır. 0.10 mg/L BAP ilave edilmiş kültür ortamlarına 3.5 g/L AC eklenmesinin bitkilerin yumru çap uzunluğu ve sayısının yanında kök ve sürgün sayılarını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ($p<0.05$) arttırdığı gözlenmiştir. Dahası, AC eklenmesi, çalışılan tüm dozlarda kök uzunluklarını önemli ölçüde azaltmıştır ($p<0.05$). Yüksek BAP konsantrasyonunun (0.15 mg/L) çalışılan tüm grupların yumru sayılarını azalttığı, ancak 3.5 g/L AC ile desteklendiğinde ölçülen tüm değerlerin artışı sağladığı bulunmuştur ($p<0.05$). Genel olarak, kallustan bitki kısımlarının en iyi şekilde büyümesi, en yüksek konsantrasyonda AC ve 1.5 mg/L BAP ile elde edilmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 30.09.2019

Kabul Tarihi : 11.11.2019

Anahtar Kelimeler

Aktif karbon
Yumru
Ters lâle
Sitokinin
Mikropropagasyon

To Cite : Saeed N, Cömertpay S 2020. Effects of 6-benzylaminopurine and activated carbon on indirect organogenesis of *Fritillaria imperialis*. KSU J. Agric Nat 23 (2): 297-303. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.627056

INTRODUCTION

Fritillaria imperialis L. belongs to Liliaceae family, and it can be used as ornamental plant and in flower arrangements. Besides, it is considered as a valuable

plant material for medicine because of possessing steroidal alkaloids with multiple pharmaceutical properties (Eshaghi et al., 2018). The fact that the bulbs of *F. imperialis* have extreme amounts of

alkaloids and non-alkaloids led to their role in traditional drug in Turkey, China and Japan (Li et al., 2000; Wang et al., 2005). In addition to these remedies, most species of *Fritillaria* have high starch content and they can be used as new starch sources for the food production (Wang et al., 2005; Li et al., 2011).

Fritillaria imperialis usually lives more than two years, and the species belonging to *Fritillaria* genus are dispersed around different regions on the earth including Middle East (Iraq, Turkey, and Iran), Anatolia, Southern Asia and some places of United States (Rønsted et al., 2005). In the natural environment, a complete growth of the requires more than two years through sexual production (Sun and Wang, 1991). Moreover, the low rate of propagation from seeds hampers large scale cultivation of the species. Consequently, the number of bulbs produced in wild becomes insufficient to meet the demand adequately, therefore it is necessary to solve the problem by using *in vitro* techniques such as micropropagation (Almeida et al., 2005).

In vitro culture methods are essential components of plant genetic resources management and they are becoming more important for the conservation of endangered and rare plant species (Bhatia et al., 2002; Almeida et al., 2005). Micropropagation techniques can allow fast and large-scale propagation of plants. Regeneration without crossing callus is named as direct organogenesis. Indirect organogenesis, which includes the crossing of callus, has been applied for overcoming geophyte dependency and keeping long period to totipotency in *Cuminum cyminum* (Ebrahimie et al., 2006).

Under *in vitro* culture conditions, the growth of the bulblets of *F. imperialis* can be stimulated by a combination of plant growth hormones (Li et al., 2011). Suitable bulblet size for acclimatization is also achieved by transferring the plantlets to a growth medium containing no plant growth regulator (PGR) but an elevated level of carbohydrate contained with activated carbon (Staikkidou et al., 2000).

In *in vitro* culture, AC is widely used to promote the rooting of micropropagated plantlets since it helps the uptake of vitamins, ferritin, hormones, and darkens the medium (Dumas and Monteuis, 1995). Besides, the detrimental substances generated by the explant or culture medium are adsorbed by AC (Fridborg and Eriksson, 1975; Fridborg et al., 1978). Cytokinin hormone is an important component of the medium for micropropagation, particularly at the proliferation stage. It has been widely known that cytokinin plays various roles in plant growth such as protein synthesis, simulation of division and cell expansion (George et al., 2008). This study investigates the impact of varying amounts of AC alone and combined with different concentrations of BAP. on the development of micropropagated *F. imperialis* grown in the media

containing the same amount of Naphthaleneacetic acid (NAA) and Indole-3-acetic acid (IAA).

MATERIALS and METHODS

Plant materials

The plant materials were kindly provided by Prof. Dr. Mehmet Nuri Nas of Horticulture Department of Kahramanmaraş Sutcu Imam University. The fresh bulbs before sterilization are seen in Figure 1. Soil particles, dead parts and insects were removed from the bulb surface by washing them thoroughly by tap water and rinsing with sterile water three times (Figure 2)



Figure 1. The fresh bulbs of *F. imperialis* before sterilization process

Şekil 1. Sterilizasyon işleminden önce *F. imperialis*'in taze soğanlığı



Figure 2 Washing the samples with water

Şekil 2. Örneklerin su ile yıkanması

Growth medium

In our experiment, we used Murashige and Skoog (MS) basal medium to grow the explants. The medium pH was set to 5.5 ± 0.9 and it was autoclaved at 121°C for 15 minutes before adding 5.5 g/L of agar plant (Duchefa Biochemie, Netherland) into the medium in order to provide it with a gel-like texture. As the energy and carbon source, 30 g/L of sucrose was added to the

medium. The plant materials were cultured in a growth room with a constant $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ temperature and $66\pm 4\%$ humidity and 16/8 hours light/dark period (sustained by enlightening with white fluorescence).

Callus Formation

The clean bulbs were cut into smaller pieces and soaked in 1% (w/v) NaClO (sodium hypochlorite) (Hypo, Turkey) with Tween-20 (1%) (OGH, Germany) for fifteen minutes (Figure 3). Then, the surface-sterilized pieces were prepared washed extensively with distilled water for four times and cultured (Figure 4) on MS supplemented with 0.125 mg/L of TDZ (Thidiazuron) (Sigma-Aldrich, Germany).



Figure 3. The bulbs of *Fritillaria imperialis* in sterilization process.

Şekil 3. *Fritillaria imperialis* soğancıklarının sterilizasyonu



Figure 4 Surface-sterilization of the pieces before placing them on media

Şekil 4. Besiyeri içerisine koymadan önce yüzey sterilizasyonu

Experimental Set Up

Once the callus was generated, the parts with $2*2\text{ cm}^2$ surface area were selected, and cultured in MS containing various amounts (0.0, 3.0, 3.5 g/L) of AC (Merck KGaA, Germany), three concentrations (0.00, 0.10, 0.15 mg/L) of BAP (Duchefa Biochemie, Netherland) and an equal concentration of auxins (0.01 mg/L NAA and 0.01 mg/L IAA). All the above-

mentioned processes were performed under sterilized conditions.

Statistical analysis

IBM SPSS Statistics software was used to perform statistical analyses. In order to distinguish the effect of activated charcoal and hormones, and to find out their interaction, variance analyses were made by Two Way ANOVA. Groups with a p value lower than 0.05 were considered as significantly different ($p<0.05$). For the purpose of confirmation of the results of Two-Way ANOVA and to label the experimental and control groups depending on their similarities, Tukey's HSD post hoc test was applied.

RESULTS and DISCUSSION

We evaluated the impact of three different doses (0.0, 3.0 and 3.5 g/L) of AC by itself or in combination with three different amounts (0.00, 0.10, 0.15 mg/L) of BAP on the growth of the plantlets of *F. imperialis*, cultured via indirect organogenesis. When we made the first measurements on the 9th week, we found that the moderate amount (0.10 mg/L) of BAP along with the maximum dose of AC (3.5 g/L) produced more bulblets, roots and shoots (13.00 ± 3.1 , 23.40 ± 5.6 and 16.60 ± 1.9) compared to the control group (1.20 ± 0.4 ; 14.60 ± 2.0 ; 14.20 ± 3.30) to which no AC and no BAP was applied (Table 1). When the plantlets were grown in the media containing no AC but with moderate concentration (0.10 mg/L) of BAP, the lowest number of roots and shoots (6.80 ± 1.9 and 8.20 ± 1.9) were generated. Our results showed that adding AC to the growth media stimulated and fed plants tissue more effectively and that helped the explants in modification and differentiation. These observations were in agreement with the reports authored by Sipayung and co-workers in 2018. Similarly, Olah (2017) demonstrated that AC could improve bulblet growth by possibly prohibiting exudates that cause tissue browning. Moreover, according to Cheng et al. (2013), AC could act as a promoter of embryogenesis in the microspore culture of different *Capsicum annum* L genotypes.

After 13 weeks of treatment, number of roots, shoots and the bulblets were determined (Table 2). We found that adding AC to the media with no cytokinin has an increasing impact on the number of bulblets, roots and shoots in a dose-dependent manner, which reached their maximum level with the highest doses of AC as 8.40 ± 1.8 , 73.20 ± 5.8 , and 25.40 ± 4.9 , respectively. Besides, our results revealed that, of all conditions studied for 13 weeks, the medium containing the highest dose (3.5 g/L) of AC with 0.10 mg/L of BAP generated the greatest number (13.00 ± 3.1 , 76.60 ± 17.7 and 32.00 ± 7.5) of bulblets, roots and shoots respectively (Table 2).

Table1. Bulblet, Root and Shoot Number of *F. imperialis* plantlets after 9 Weeks of Growth.

Tablo 1. 9 Hafta Büyümeden sonra *F. imperialis* Bitkiciklerindeki Soğancık, Kök ve Sürgün Sayısı

AC g/L	BAP mg/L	Number of bulblets <i>Soğancık sayısı</i>	Number of roots <i>Kök sayısı</i>	Number of shoots <i>Sürgün sayısı</i>
0.0AC	0.00Cyto	1.20 ^{Aa} ±0.4	14.6 ^{Ab} ±2.0	14.20 ^{Ab} ±3.3
	0.10Cyto	2.60 ^{Ab} ±0.5	6.80 ^{Aa} ±1.9	8.20 ^{Aa} ±1.9
	0.15Cyto	1.80 ^{Aa} ±0.4	8.40 ^{Aa} ±1.5	10.20 ^{Aa} ±1.7
3.0AC	0.00Cyto	3.40 ^{Aa} ±0.5	16.80 ^{Aa} ±3.6	12.80 ^{Aa} ±1.9
	0.10Cyto	3.20 ^{Aa} ±0.8	23.40 ^{Bb} ±5.6	17.80 ^{Ba} ±3.7
	0.15Cyto	2.40 ^{Aa} ±0.5	24.00 ^{Bb} ±4.7	16.60 ^{Ba} ±3.8
3.5AC	0.00Cyto	5.20 ^{Aa} ±1.3	15.80 ^{Aa} ±2.4	17.20 ^{Ab} ±4.3
	0.10Cyto	13.00 ^{Bb} ±3.1	27.40 ^{Bb} ±3.5	16.60 ^{Bb} ±1.9
	0.15Cyto	8.20 ^{Ba} ±1.9	11.00 ^{Aa} ±1.8	11.20 ^{Aa} ±1.3

Means within a column followed by same letters are not significantly different at (P<0.05) as determined by Tukey's HSD test (n=5). Capital letters indicate AC effect, small letters indicate BAP effect.

Table 2. Number of Bulblets, Roots and Shoots of *F. imperialis* after 13 Weeks of Growth.

Tablo 2. 13 Hafta Büyümeden sonra *F. imperialis* Bitkiciklerindeki Soğancık, Kök ve Sürgün Sayısı

AC g/L	BAP mg/L	Number of bulblets <i>Soğancık sayısı</i>	Number of roots <i>Kök sayısı</i>	Number of shoots <i>Sürgün sayısı</i>
0.0AC	0.00Cyto	2.20 ^{Aa} ±0.4	31.80 ^{Ab} ±5.8	12.20 ^{Aa} ±1.9
	0.10Cyto	3.80 ^{Ab} ±0.8	23.00 ^{Aa} ±4.6	12.40 ^{Aa} ±2.3
	0.15Cyto	4.40 ^{Ab} ±0.5	19.00 ^{Aa} ±3.8	18.60 ^{Ab} ±3.2
3.0AC	0.00Cyto	5.20 ^{Ba} ±1.3	43.00 ^{Ba} ±1.2	23.00 ^{Ba} ±2.9
	0.10Cyto	4.80 ^{Ab} ±1.0	27.00 ^{Aa} ±2.2	16.60 ^{Aa} ±3.3
	0.15Cyto	8.80 ^{Bb} ±2.1	48.00 ^{Bb} ±8.6	20.60 ^{Aa} ±4.2
3.5AC	0.00Cyto	8.40 ^{Ca} ±1.8	73.20 ^{Cc} ±5.8	25.40 ^{Bb} ±4.9
	0.10Cyto	13.00 ^{Bb} ±3.1	76.60 ^{Bc} ±17.7	32.00 ^{Bb} ±7.5
	0.15Cyto	8.20 ^{Ba} ±1.9	59.20 ^{Cb} ±3.7	22.40 ^{Aa} ±2.8

Means within a column followed by same letters are not significantly different at P<0.05 as determined by Tukey's HSD test (n=5). Capital letters indicate AC effect, small letters indicate BAP effect.

Despite the fact that they worked on another species (*Narcissus tazetta*), Steinits and Yahel (1982) also showed that AC promoted the growth of bulblets, which was in line with our findings. The presence of AC in the growth media was likely to increase the efficiency of cytokinin hormone which in turn improves the growth of the explants (Nhut et al., 2001). Besides, activated charcoal was also known to remove the effect of inhibitory compounds from the medium (Anagnostakis, 1974). Expectedly, we have observed the lowest number of shoots and bulblets (2.20±0.4 and 12±1.9) in the culture medium containing neither AC nor BAP (Table 1). As for the roots, the fewest numbers (19.00±3.8) were determined in the medium containing the highest concentration of BAP (0.15mg/L) without AC (Table 2).

The inhibition observed in embryogenesis and morphogenesis of the plants grown in no AC containing media is most likely to be related to the presence of phenolic compounds in the growth medium, as it was previously reported by Nayanakantha et al. (2010) Although the concentration of BAP was more than ten folds less compared to our previous (Saeed and Cömertpay, 2017) work (1.75 mg/L), but the negative impact of the phenolic compounds was observed on root

numbers in the absence of AC in the growth medium.

When the measurements obtained for both the 9th and the 13th week were compared, it was revealed the best growth performance of bulblets (number and diameter) were determined when moderate hormone concentration (0.10 mg/L) BAP and the highest dose of AC (3.5 g/L) were added to the media (Figure 5). These results were in accordance with of Staikkidou and coworkers (2000), who reported that the bulblets were grown better when PGR levels were reduced during the multiplication phase, which counts for the role of activated charcoal in adsorbing PGR. The highest amount (3.5g/L) of AC and moderate concentration (0.10 mg/L) of BAP increased the diameter of bulblets to 0.46±0.1 and 0.75±0.1 after 9 and 13 weeks of growth respectively (Figure 5).

Within 9 weeks of growth, the longest roots (3.50±0.5) were produced when the plantlets were treated with 0.10 mg/L of BAP accompanied by 3.5g/L of AC. Surprisingly, when the treatment duration was extended to 13 weeks, the plantlets grown in the media supplemented with 0.15 mg/L of BAP and a higher dose of AC (3.5 g/L) generated the longest root (10.00±1.5) (Figure 6).

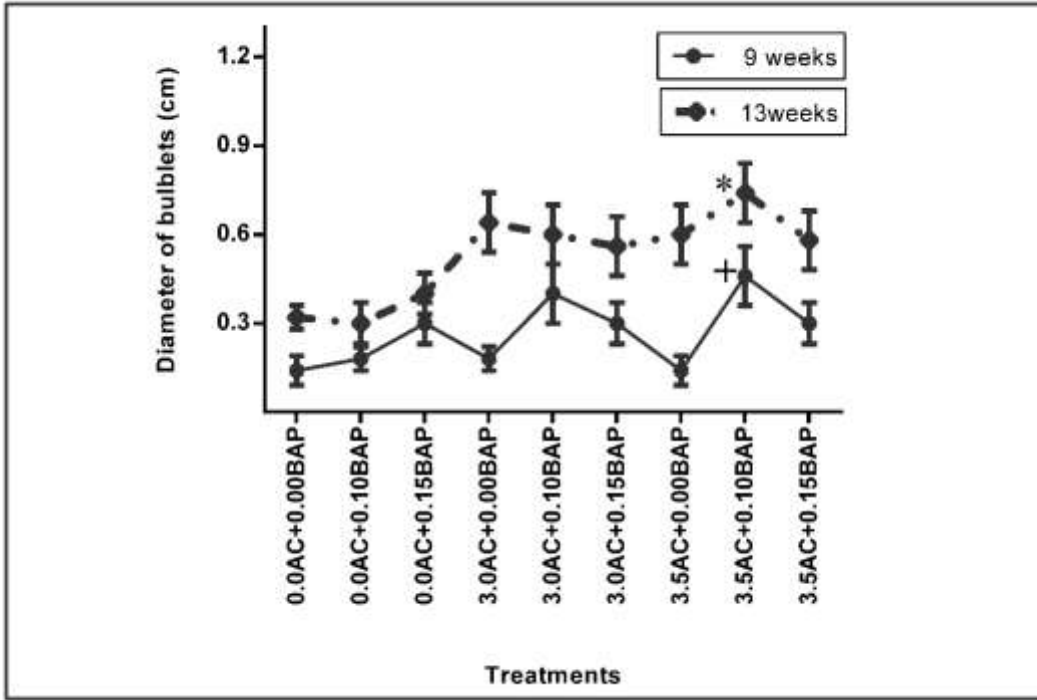


Figure 5. Bulblets Diameter of *F. imperialis* Plantlets after 9 and 13 weeks of Growth (n=5), (+): represents the best condition for bulblets diameter in 9 weeks. (*) represents the best condition for bulblets diameter in 13 weeks.

Şekil 5. 9 ve 13 haftalık büyümelerden sonra *F. imperialis* bitkiciklerinin soğanlık çapları (n=5), (+) 9 haftalık büyüme için soğanlık çapı bakımından en iyi koşulu temsil etmektedir. (*) 13 haftalık büyümede soğanlık çapı bakımından en iyi koşulu temsil eder

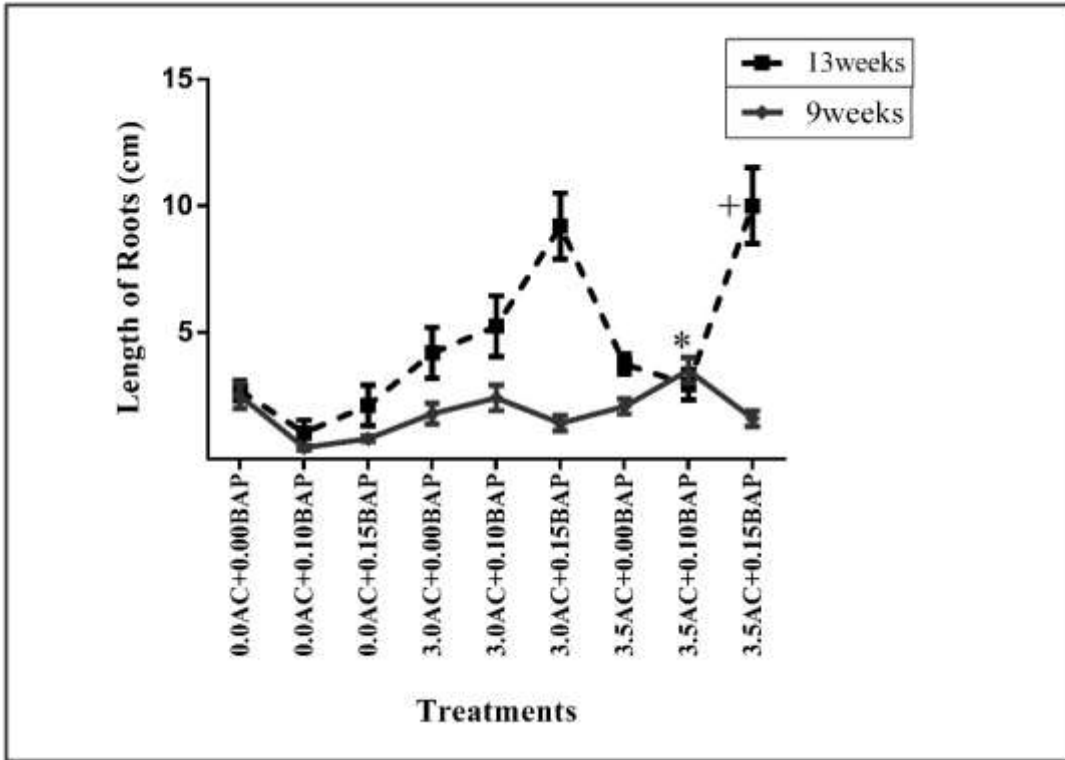


Figure 6. Root Length in Centimeter of *F. imperialis* Plantlets after 9 and 13 weeks (n=5), (*) represents the best condition for length of root in 9 weeks. (+) represents the best condition for length of root in 13 weeks.

Şekil 6. 9 ve 13 haftalık büyümelerden sonra *F. imperialis* bitkiciklerinin santimetre cinsinden kök boyları (n=5), (*) 9 haftalık büyüme için kök boyu bakımından en iyi koşulu temsil etmektedir. (+) 13 haftalık büyüme için en iyi kök uzunluğu koşulunu temsil eder.

On the contrary, and regardless to the duration of the treatment, shorter roots were produced when 0.10 mg/L of BAP was used in the growth media with no AC. Similar to what we have observed, Staikkidou et al. (2000) stated that charcoal effected the development of the plantlets by inducing the formation of large number of roots and stimulating root elongation. Some representative figures of plantlet development are presented in Figure 7.

CONCLUSION

Results of our study indicate the positive role of AC in the growth media on the development of the *F. imperialis* plantlets, especially on bulblet, root and shoot formation. The positive effects of AC is more pronounced at low concentrations of BAP with an adverse tendency at higher BAP levels. More studies are needed to address the interaction between nutrients and the AC in the growth media to standardize the application of the active carbon.

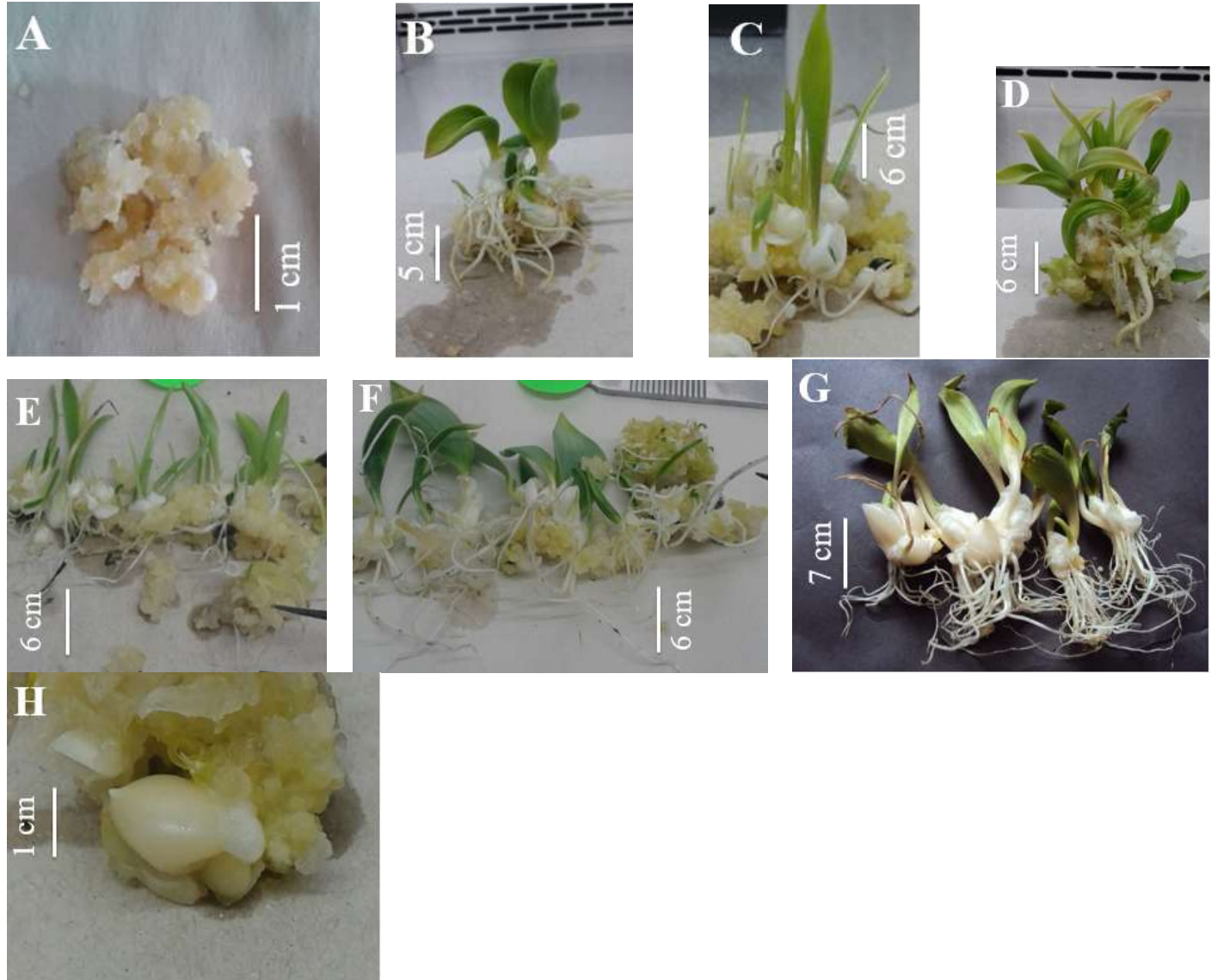


Figure 7. Plantlets of *F. imperialis* grown in different media

Şekil 7. Farklı besiyerinde büyümüş *F. imperialis* bitkicikleri.

(A)-Developed Callus on MS Medium after 40 Days of Incubation (40 günlük inkübasyon sonunda MS besiyerinde gelişen kallus)

(B)-MS Medium without BAP and AC (BAP ve AC içermeyen MS besiyeri)

(C) MS Medium with 0.10mg/ L BAP (0.10mg/ L BAP içeren MS besiyeri)

(D) MS Medium with 0.15 mg/ L BAP (0.15 mg/ L BAP içeren MS besiyeri)

(E) MS Medium with 3.0 g/ L AC (3.0 g/ L AC içeren MS besiyeri)

(F) MS Medium with 3.5 g/ L AC (3.5 g/ L AC içeren MS besiyeri)

(G) MS Medium with 0.10mg/L BAP and 3.5 g/L AC (0.10mg/L BAP ve 3.5 g/L AC içeren MS besiyeri)

(H) Regenerated Bulblet After 13 Weeks (13 hafta sonunda üretilen soğançıklar)

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Scientific Research Projects (BAP) Unit of Kahramanmaraş Sutcu Imam University with the project number of 2017/4-28D.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Almeida R, Goncalves S, Romano A 2005. *In vitro* micropropagation of endangered *Rhododendron Ponticum* L. subsp. Baeticum (Boissier and Reuter) Handel-Mazzetti. *Biodiversity and Conservation*, 14(5): 1059-1069.
- Anagnostakis S 1974. Haploid plants from anthers of tobacco - Enhancement with charcoal. *Planta*, 155(3): 281-283.
- Bhatia P, Bhatia N, Ashwath N 2002. *In vitro* propagation of *Stackhousia tryonii* Bailey (Stackhousiaceae): A rare and serpentine-endemic species of central Queensland, Australia. *Biodiversity Conservation*, 11(8): 1469-1477.
- Cheng Y, Ma R, Jiao Y, Qiao N, Li T 2013. Impact of genotype, plant growth regulators and activated charcoal on embryogenesis induction in microspore culture of pepper (*Capsicum annuum* L). *African Journal of Botany*, 88: 306-309
- Dumas E, Monteuis O 1995. *In vitro* rooting of micropropagated shoots from juvenile and mature *Pinus pinaster* explants: influence of activated charcoal. *Plant Cellular Tissue and Organ Culture*, 40(3): 231-235.
- Ebrahimie E, Habashy A, Mohammadi-Dehcheshmeh M, Ghannadha M, Ghareyazie B, Yazdi-Amadi B 2006. Direct shoot regeneration from mature embryo as a rapid and genotype-independent pathway in tissue culture of heterogeneous diverse sets of cumin (*Cuminum cyminum* L.) genotypes. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 42(5): 455-460.
- Eshaghi M, Shiran B, Fallahi H, Ravash R, Deri B 2018. Identification of genes involved in steroid alkaloid biosynthesis in *Fritillaria imperialis* via de novo transcriptomics. *Genomics*, <https://doi.org/10.10161/jygeno>.
- Fridborg G, Eriksson T 1975. Effects of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell cultures. *Physiologia Plantarum*, 34(4): 306-308.
- Fridborg G, Pedersen M, Landstrom, LE, Eriksson T 1978. The effect of activated charcoal on tissue culture: adsorption of metabolites inhibiting morphogenesis. *Physiologia Plantarum*, 43(2): 104-106.
- George EF, Hall MA, Klerk GJD 2008. Plant tissue culture procedure – background. In: George EF, Hall MA, Klerk GJD (Eds.), *Plant Propagation by Tissue Culture*, Springer, Dordrecht, pp. 1-28.
- Li S, Li P, Lin G, Chan S, Ho Y 2000. Simultaneous determination of seven major isosteroidal alkaloids in bulb of *Fritillaria* by gas chromatography. *Chromatographia*, 873(2): 221-228.
- Li X, Gao W, Jiang Q, Huang L, Liu C 2011. Study on the morphology crystalline structure, and thermal properties of *Fritillaria ussuriensis* Maxim starch acetates with different degrees of substitution. *Starch-Starke*, 63(1): 24-31.
- Nayanakantha N, Singh B, Kumar A 2010. Improved culture medium for micropropagation of *Aloe vera* L. *Tropical Agricultural Research and Extension*, 30: 87-93.
- Nhut D, Van Le, Fukai S, Tanaka M, Van K 2001. Effects of activated charcoal, explant size, explant position and sucrose concentration on plant and shoot regeneration of *Lilium longiflorum* via young stem culture. *Plant Growth Regulation*, 33(1):59-65.
- Olah R 2017. The use of activated charcoal in grapevine tissue culture. *Grapevine research*, 56: 161-171.
- Rønsted N, Law S, Thornton H, Fay M, Chase M 2005. Molecular phylogenetic evidence for the monophyly of *Fritillaria* and *Lilium* (Liliaceae; Liliales) and the infrageneric classification of *Fritillaria*. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 35: 509-527
- Saeed N, Cömertpay S 2017. Activated charcoal improves growth of *F. imperialis* propagated by indirect organogenesis. *Columella/ Journal of Agricultural Environmental Sciences*, 4(1): 59-64.
- Sipayung P, Matanri J, Br Lafau M, Sri Sulastri Y, Ginting B, Sihombing D, Pandiangan M, Giawa T 2018. The effect of AC dose and benzyl amino purine concentration on the growth of orchid plantlets in Murashige and Skoog media *in vitro*. In: International Conference on Agribusiness, IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 20-21 October, Nusa Dua, Bali, pp. 012025
- Staikkidou I, Selby C, Hanks G 2000. Stimulation of *in vitro* bulblet growth in *Galanthus* species with sucrose and activated charcoal. *Acta Horticulturae*, 725: 421-426.
- Steinitz B, Yahel H 1982. *In vitro* propagation of *Narcissus tazetta*. *Horticulture Science*, 17(3): 333-334.
- Sun C, Wang D 1991. *Fritillaria* (Fritillary): *In vitro* culture and the regeneration of plants. In: Bajaj YPS (Eds.), *Medicinal and Aromatic Plants III. Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Springer, Berlin, pp. 258-269.
- Wang S, Gao W, Chen H, Xiao P 2005. New starches from *Fritillaria* species medicinal plants. *Carbohydrate Polymerases*, 61(1): 111-114.

Bakır Oksit Nanopartikülü Etkisinde Kalan Memelilerde (*Rattus norvegicus* var. *albinos*) Bazı Metabolik Tepkilerin İncelenmesi

Esin G. CANLI

Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Sarıçam Adana /Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-0132-3712>

✉: egcanli@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada, dişi sıçanlara 14 gün boyunca oral gavaj ile farklı dozlarda (kontrol (0), 0.5, 5, 50 mg/kg/gün) CuO nanopartikülü (NP) verildi. Bunu takiben böbrek, beyin ve ince bağırsak dokularında ATPaz aktiviteleri ve beyin dokusunda asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi ölçüldü. Ayrıca, karaciğerde farklı glutatyon formları (toplam GSH, rGSH, GGSG) ve lipid peroksidasyonu ürünü olan TBARS (tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri) düzeyleri de ölçüldü. Diğer yandan, dokularda CuO NP birikimi bir transmisyon elektron mikroskobu (TEM) yardımıyla görüntüldü. Sonuçlar, beyin AChE aktivitesinde anlamlı ($P<0.05$) azalmalar olduğunu göstermiştir. Beyin ve ince bağırsak ATPaz aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı değişimler göstermezken ($P>0.05$), böbrek ATPaz aktivitesinde istatistiksel olarak ($P<0.05$) anlamlı azalışlar olmuştur. Farklı glutatyon formlarının düzeyleri en yüksek doz haricinde anlamlı bir şekilde değişmemiştir. Benzer şekilde, TBARS düzeyleri sadece en yüksek dozda istatistiksel olarak anlamlı ($P<0.05$) artışlar göstermiştir. TEM görüntüleri CuO NP'lerin sıçan dokularda birikebileceğini göstermiş olup, bu görüntüler sıçanlarda enzimatik ve enzimatik olmayan biyobelirteçlerde meydana gelen değişikliklerin dokularda CuO NP birikmesinden kaynaklandığını vurgulamıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 15.05.2019

Kabul Tarihi : 08.11.2019

Anahtar Kelimeler

Metal

Bakır oksit

Nanopartikül

Memeli

Biyomarkır

TEM

Investigation of Some Metabolic Responses in Mammals (*Rattus norvegicus* var. *albinos*) Exposed to Copper Oxide Nanoparticles

ABSTRACT

In this study, different doses (control (0), 0.5, 5, 50 mg/kg b.w./day) of CuO nanoparticle (NP) were administered to female rats via oral gavage for 14 days. Following the exposures, the activities of ATPases in the kidney, brain and small intestine and activity of acetylcholinesterase (AChE) in the brain were measured. Levels of different glutathione forms (total GSH, rGSH, GGSG) and TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) were also measured in the liver of rats. The accumulation of CuO NPs in the tissues were demonstrated following capture of tissue images by a transmission electron microscope (TEM). Data demonstrated that activity of AChE in the brain decreased significantly ($P<0.05$). ATPase activity in the brain and small intestine did not change significantly ($P>0.05$), though there were significant decreases ($P<0.05$) in ATPase activity in the kidney. Levels of glutathione forms did not change significantly, except the highest dose. Similarly, levels of TBARS increased significantly ($P<0.05$) at the highest dose. TEM images showed that CuO NPs were able to accumulate in the tissues, emphasizing occurred alterations in enzymatic and non-enzymatic biomarkers were due to CuO NP accumulation in the tissues.

Research Article

Article History

Received : 15.05.2019

Accepted : 08.11.2019

Keywords

Metal

Copper oxide,

Nanoparticle

Mammale

Biomarker

TEM

GİRİŞ

Son yıllarda ağır metallerin nanoteknolojide kullanımları hız kazanmıştır. Nanopartikül denen bu maddeler 1-100 nm arasında olup, çeşitli, metallerle (Ag, Cu, Ti, Zn vb.) oluşturulan özgün kristallerdir. Metal-oksit nanopartikülleri üstün fiziko-kimyasal özellikleri sayesinde nanoteknoloji alanında aranan maddeler haline gelmiştir. Nanopartikülleri özgün yapan özellikler arasında geniş yüzey alanlarına sahip olmaları, özgün yüzey yapıları, şekilleri, fonksiyonel grupları, reaktiviteleri, elektronik ve kristal özellikleri sayılabilir (Handy ve Shaw, 2007; Bahadar ve ark., 2016). Bu özellikleri sayesinde nanopartiküller ilaç endüstrisi, beyaz eşyalar, güneş kremi, besin endüstrisi, dokuma sanayi, diş macunu, filtreler, nemlendirici, çocuk oyuncakları, paketleme ürünleri ve elektronik cihazlar gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Diğer yandan, bazı metal nanopartikülleri (AgO ve CuO) çeşitli antimikrobiyal ürünlerde istenmeyen mikroorganizmaların üremelerini durdurmak için de sıklıkla kullanılmaktadır (Handy ve Shaw, 2007; Asharani, ve ark., 2008; Schrand ve ark., 2010). Metallerin nano teknolojik amaçlar için kullanımı önemli ekonomik sonuçlar ve yenilikler sunarken, içermiş oldukları toksik metaller sebebiyle çevreye ve insanlara yapacakları olumsuz etkiler de çevrecileri düşündürmektedir (Auffan ve ark, 2011; Canli ve ark. 2019a; Canli ve ark., 2019b). Bu nedenle, nanopartiküllerin çevresel risklerinin ve toksisitelerinin farklı hayvan gruplarında erken belirlenmesi daha sonra meydana gelebilecek büyük felaketlerin önlenmesi bakımından önemlidir.

Yapılan çalışmalar nanopartiküllerin hem sucul, hem de karasal hayvanların biyolojik zarlarından geçerek kan yoluyla taşınabildiğini ve hedef dokularda birikerek toksik etkiler yaptığını göstermiştir (Hagen ve ark., 2007; De Jong ve Borm, 2008; Canli ve ark., 2018; Canli ve ark. 2019a; Canli ve Canli, 2019). Bu nedenle, her yaşta insan nanopartiküllere maruz kalabilir ve bunun sonucu olarak hayati organlar olumsuz yönde etkilenebilir. NP'ler bir kere vücuda girdikten sonra, yarılanma ömürleri uzun olduğundan vücuttan atılmaları oldukça zordur. Ayrıca, aynı metal NP'leri karşılaştırıldığında daha küçük boyutlu olan NP'lerin büyüklere oranla daha toksik oldukları gösterilmiştir (Yang ve Watts, 2005; Mostafalou ve ark., 2013). Nanopartiküllerin metal içeriği toksisiteleri bakımından önemlidir. Örneğin ZnO, Al₂O₃, TiO₂ nanopartiküllerinin farelerde farklı düzeylerde doku hasarlarına neden olduğu, benzer şekilde farklı düzeylerde oksidatif strese yol açtıkları gösterilmiştir (Shrivastava ve ark. (2014). Benzer şekilde, Canli ve ark. (2017) oral yolla verilen nanopartiküllerin (Al₂O₃, CuO ve TiO₂) sıçanların serum değerlerinde farklı biyokimyasal etkilere neden olduklarını göstermişlerdir. Gerçekte, çevreye bir

şekilde yayılan nanopartiküller bütün organizmaları değişik düzeylerde etkileyebilmektedir (Bondarenko ve ark. 2013). Araştırmacılar farklı nanopartiküllerin (AgO, CuO, ZnO) algler, mantarlar, protozoanlar, kabuklular, nematodlar, balıklar ve memeliler üzerinde toksik etkileri olduğunu gösterirken, organizmaların etkilenme düzeylerinin de farklı olabileceğini vurgulamışlardır.

Na-K-ATPaz hücre zarında bulunan bir enzim olup 2 K iyonunun hücre içine girişini ve diğer yandan 3 Na iyonunun hücre dışına atılmasını katalizleyerek ozmoregülasyonda önemli görevleri olan bir enzimdir. İyon taşınımı ozmotik gradientin tersi yönde yapıldığından (aktif taşıma) çok miktarda ATP harcanmış olur. Şöyle ki, hücrelerin ihtiyaç duyduğu toplam enerjinin yaklaşık %30 u Na,K-ATPaz tarafından kullanılmaktadır. Mg-ATPaz ise sitoplazmada ve mitokondride bulunur ve hücre içindeki Mg iyon konsantrasyonunu düzenler ve mitokondride oksidatif fosforilasyonda kullanılır (Howarth ve ark., 2012). ATPaz grubu enzimlerin çevresel kirleticilere karşı duyarlı oldukları gösterilmiştir (Guo ve ark., 2013; Singh ve ark., 2013; Canli ve Canli, 2017; Canli ve ark. 2019a; Canli ve Canli, 2019b). AChE sinir sisteminde görev alan ve impuls iletimi sırasında en fazla aktivite gösteren bir enzimdir. Bu enzimin görevi nörotransmitter madde olan asetilkolinin asetat ve koline parçalanmasının sağlanmasıdır. Yapılan çalışmalar, bu enzimin de çevre kirleticileri tarafından olumsuz yönde etkilendiğini göstermiştir (Durmaz ve ark., 2006; Piner and Uner, 2012; Silva-Herdade ve Saldanha, 2013; Yılmaz ve ark. 2015; Canli ve ark., 2019a; Canli ve ark., 2019b).

Enzimatik biyobelirteçler gibi, enzimatik olmayan biyobelirteçler de nanopartiküller dahil çevre kirleticilerin etkilenmektedir. En çok kullanılan biyobelirteçler arasında metabolizmada etkili bir antioksidan olduğundan farklı glutatyon ürünleri (GSSG, rGSH, tGSH) sayılabilir. Glutatyon doğal olarak veya kirletici etkisiyle oluşan serbest radikalleri yok eden indirgeyici bir tripeptit olarak bilinmektedir (Pena-Llopis ve ark 2001; Hidalgo ve ark, 2002; Kanak ve ark, 2014; Canli ve ark 2017; Canli ve ark, 2019b). Organizmalarda normal şartlarda antioksidanlar ve oksidanlar arasındaki bir denge vardır. Bu dengenin antioksidanların lehine bozulması sonucu oksidatif stres meydana gelir (Winston, 1991). Nanopartiküllerin oksidatif strese neden olduğuna ilişkin çalışmalar mevcut olmasına karşın, yeterli bilgi henüz elde edilememiştir (Canli ve ark. 2019b). Syama ve ark. (2013) nanopartiküllerin memelilerde oksidatif strese yol açtığını ve antioksidan sisteminin nanopartiküller tarafından olumsuz etkilendiğini belirtmişlerdir. Hücre zarları da serbest radikaller nedeniyle hasar görebilmektedir. Bunun sonucu zar lipitlerden elektronlar çalınmakta

ve böylece lipid peroksidasyonu meydana gelmektedir. Çevre kirleticilerinin lipid peroksidasyonuna neden olup olmadığını belirlemek için MDA (malondialdehit) veya TBARS seviyeleri ölçülmektedir. Böylece, bu veriler organizmanın yaşadığı oksidatif stres için önemli belirteç olmaktadır (Wang ve ark., 2009; Lei ve ark., 2015; Hong ve ark., 2015; Yılmaz ve ark. 2017; Canli ve ark., 2019b).

Bu çalışma CuO NP etkisinde kalan albino Wistar sıçanlarının farklı sistemlerinin vermiş olduğu tepkiler belirlenmiştir. Bunun için, yetişkin dişi sıçanlar 14 gün boyunca farklı dozlarda NP'lere (0, 0.5, 5, 50 mg/kg/gün) maruz bırakılmış ve farklı metabolik sistemlere ait enzimatik ve enzimatik olmayan biyobelirteç değerleri ölçülmüştür. Diğer yandan, CuO NP'lerin dokularda birikimi TEM ile görüntülenerek meydana gelen toksik etkilerin NP etkisi ile olduğu vurgulanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Dişi albino sıçanlar (*Rattus norvegicus* var. albino) Çukurova Üniversitesi DETAUM Merkezinden temin edildi ve laboratuvar şartlarına uyum sağlamaları için bir hafta süreyle 12 saat aydınlatması ve 22 ± 1.5 °C sıcaklığa sahip (nem % 50) deney odasında bekletildi. Deneylerin yapılabilmesi için Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 26.09.2017 tarih ve 8 sayılı toplantı kararı ile izin alınmıştır. Deneylerde ağırlıkları 195-206 g arasında değişen yetişkin dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçan ağırlıkları kontrol ve diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark ($P>0.05$) göstermemiştir.

Deneylerin Yapılışı

Deneyler biri kontrol grubu ve üçü CuO NP grupları olmak üzere 4 grup halinde yürütülmüştür. Hayvanlar hem adaptasyon süresince, hem de deneyler sırasında normal sıçan yemi ile beslendi ve kısıtlamasız bir şekilde su erişimi sağlandı. Deneylerde kullanılan CuO nanopartikülü Sigma-Aldrich (Germany) şirketinden temin edilmiştir. Nanopartikül deneylerde kullanılmadan önce 20 dakika süre ile buz içerisinde sonikasyona (Bandelin HD2200, Germany) maruz bırakılmıştır. Deneylerde kullanılacak son NP derişiminin (0.5, 5, 50 mg/kg/gün) sağlanması için bir stok hazırlanmıştır. Bu derişimlerin sıçanlar için aynı deneysel şartlar altında on dört gün süre sonunda lethal olmadığı daha önceki çalışmamızda gösterilmiştir (Canli ve Canli, 2017). Sıçanlara bakır NP oral olarak (200 µl su ile) verilmiş olup, kontrol hayvanlar sadece aynı miktarda su almışlardır. On dört gün süren deney sonrası bütün sıçanlar güçlü bir anestezi ile (ketasol 10%, Harson Lab. India) öldürüldü ve dokuları alınarak -80 °C derin dondurucuda (Esco UUS-480A) bir ay kadar saklandı.

Dokuların Homojenizasyonu

Analizi yapılacak olan doku derin dondurucudan çıkartıldıktan sonra buzun çözülmesi beklendi ve 90 saniye süre ile buz içinde homojenizde (9500 rpm) edildi. Homojenizasyon tamponu (100 mM KH_2PO_4 (pH 7.4), 100 mM KCl, 1 mM EDTA) kullanılan doku ağırlığına göre (1:10 w/v) kullanıldı. Homojenize edilen dokular daha sonra soğutmalı (+4 °C) santrifüjde (Hettich Universal 30 RF) 30 dakika süre ile 10,000 g de santrifüj edildi. Üst kısmında bulunan kısım (supernatant) dikkatli bir şekilde başka tüplere aktarılarak bütün analizlerde kullanıldı.

Biyobelirteç Analizleri

Dokulardaki ATPaz ($\mu\text{mol Pi/mg/protein/h}$) ve AChE (U/mg protein) aktiviteleri sırasıyla Atkinson ve ark. (1973) ve Ellman ve ark. (1961) metotlarına göre yapıldı. Dokulardaki TBARS (U/mg protein) ve glutasyon (U/mg protein) düzeyleri ise sırasıyla Ohkawa ve ark. (1979) ve Griffith (1980) metotları kullanılarak yapıldı. Bütün dokularda protein analizleri ise Lowry metodu (Lowry ve ark., 1951) kullanılarak yapıldı ve protein değerleri biyomarkır değerlerini normalize etmek için kullanıldı.

Nanopartikül Karakterizasyonu ve TEM analizleri

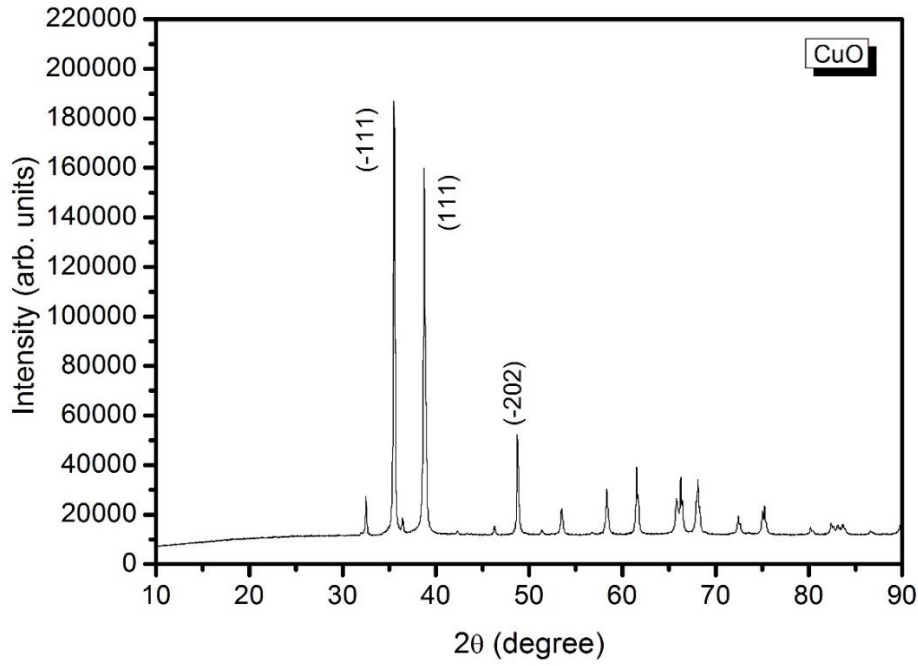
Deneylerde kullanılan CuO NP'lerin boyutu (~40 nm), saflığı (>99 %), yüzey alanı (>20 m²/g) ve yoğunluğu (6.50 g/cm³) olarak belirtilmiştir. Daha detaylı analizler için TEM, XRD ve EDX cihazları kullanılmıştır. Bakır NP'lerin geçirimli TEM görüntüsü Jeol JEM-1010 TEM (80kW) (GATAN 782 ES500W Erlangshen kameralı) cihazı ile elde edilmiştir (Şekil 1a). XRD analizleri Rigaku RadB SmartLab marka bir diffraktometre cihazı kullanılarak (CuK α 1, $\lambda=1.5405$ Å, 30 kV, 15 mA, $2\theta=10^\circ-90^\circ$, scanning rate 2°/min) yapılmıştır. XRD analiz verilerine göre CuO NP'leri polikristal yapıda ve monoklinik fazdadır (Şekil 1b). EDX analizleri ise FE-SEM (taramalı elektron mikroskobu) (Zeiss/Supra 55 VP) ile elde edilmiştir (Şekil 1c). Buna göre CuO NP'lerinde Cu atomları %48.74 olarak bulunmuştur. Ağırlık olarak hesaplandığında CuO NP'lerinde Cu atomları %79.06 olarak bulunmuştur. Geri kalan kısmın sadece oksijen atomlarından ibaret olduğu belirlenmiştir. Dokularında nanopartikül birikiminin belirlenmesi için de aynı TEM cihazı kullanılmış olup, doku görüntüleri Şekil 2-5 de verilmiştir.

İstatistiksel Analizler

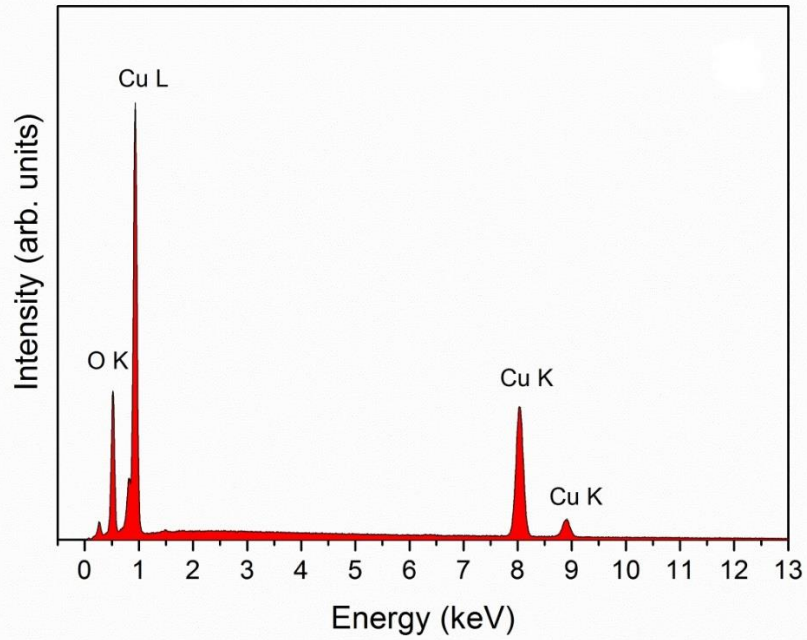
Biyomarkır verilerinin analizinde SPSS istatistiksel paket program kullanılmıştır (SPSS 20, Chicago, IL, ABD). Veri dağılımına bağlı olarak istatistiksel karşılaştırmalar için One-way ANOVA veya Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Anlamli düzeylerde fark ($P<0.05$) bulunan veriler, farklılığa neden olan

grupları belirlemek için bir post-hoc testi ile yeniden analiz edilmiştir. Bütün biyomarkır verileri şekil 6-9 da verilmiştir. Bu veriler 6 sıçandan elde edilen

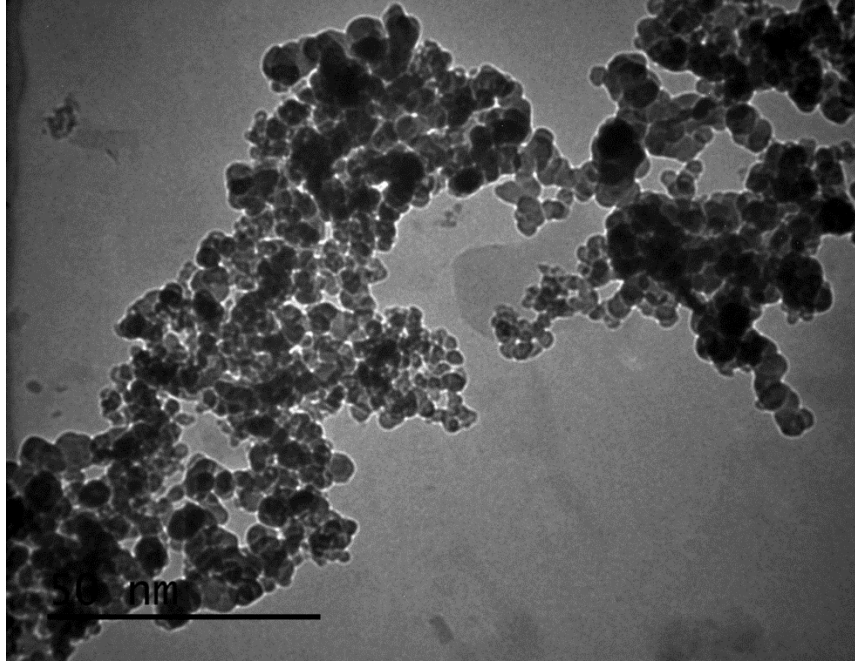
rakamlar (ortalama \pm standart hata) olup, kontrolden anlamlı düzeyde ($P < 0.05$) farklı olanlar işaretlenmiştir.



1a.



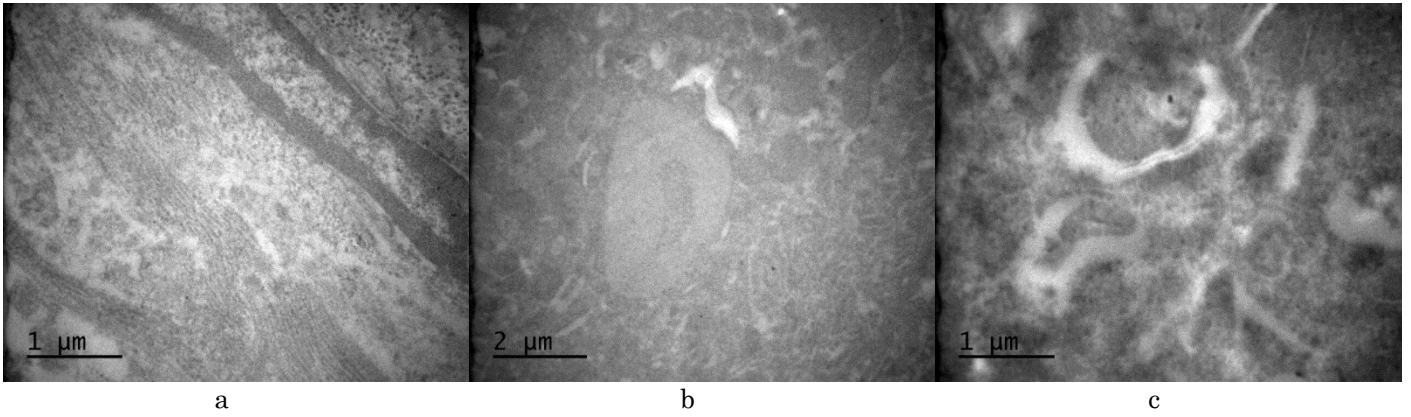
1b.



1c.

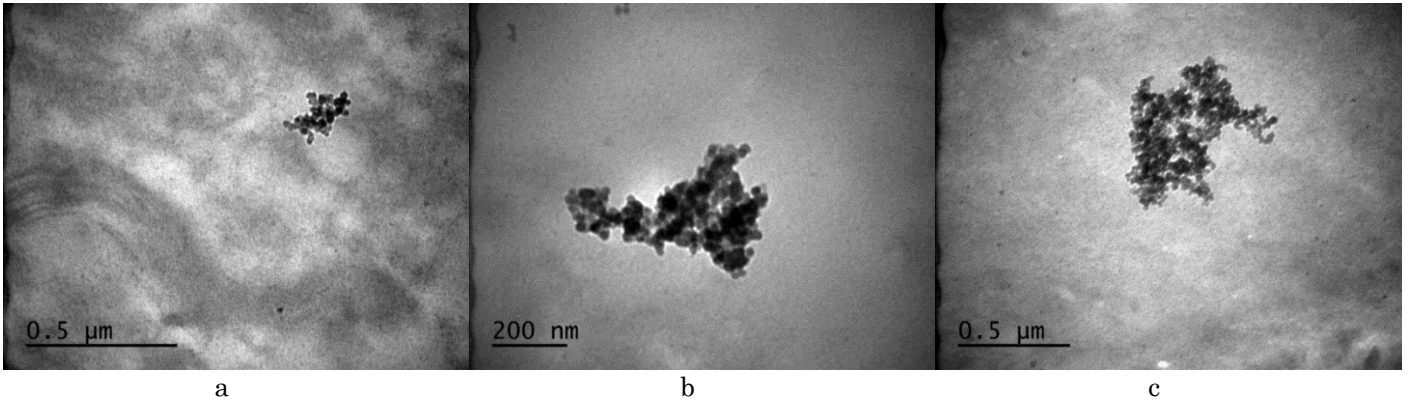
Şekil 1. CuO nanopartikülünün karakterizasyonu. CuO nanopartikülünün XRD deseni (a), EDX spektrumu (b) ve TEM görünümü (c) verileri.

Figure 1. Characterization of CuO nanoparticle. XRD pattern (a), EDX spectra (b) and TEM image (c) of CuO nanoparticle.



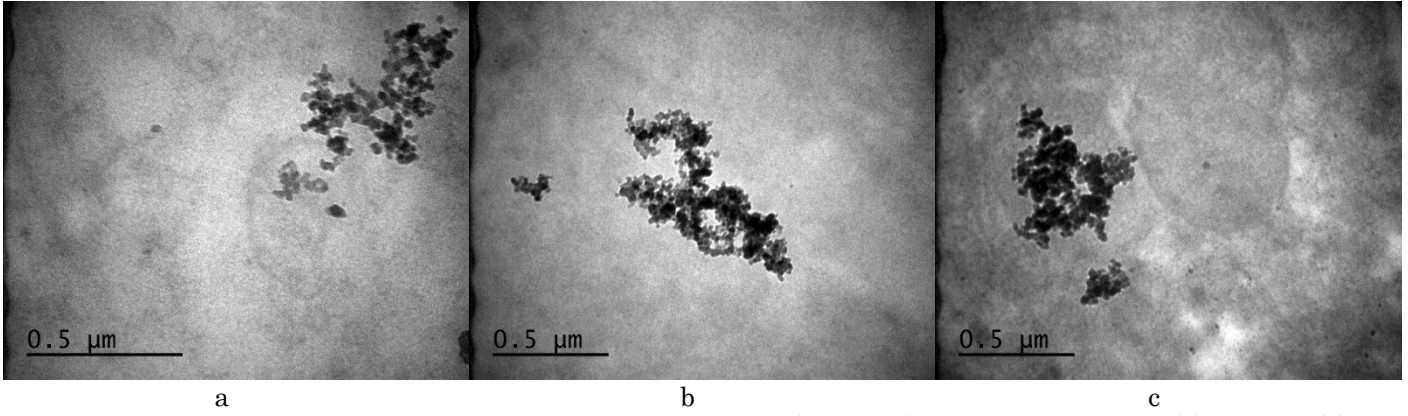
Şekil 2. Kontrol sıçanda beyin (a), böbrek (b) ve karaciğer (c) dokusunun TEM görüntüleri.

Figure 2. TEM images of brain (a), kidney (b) and liver (c) of control rats.

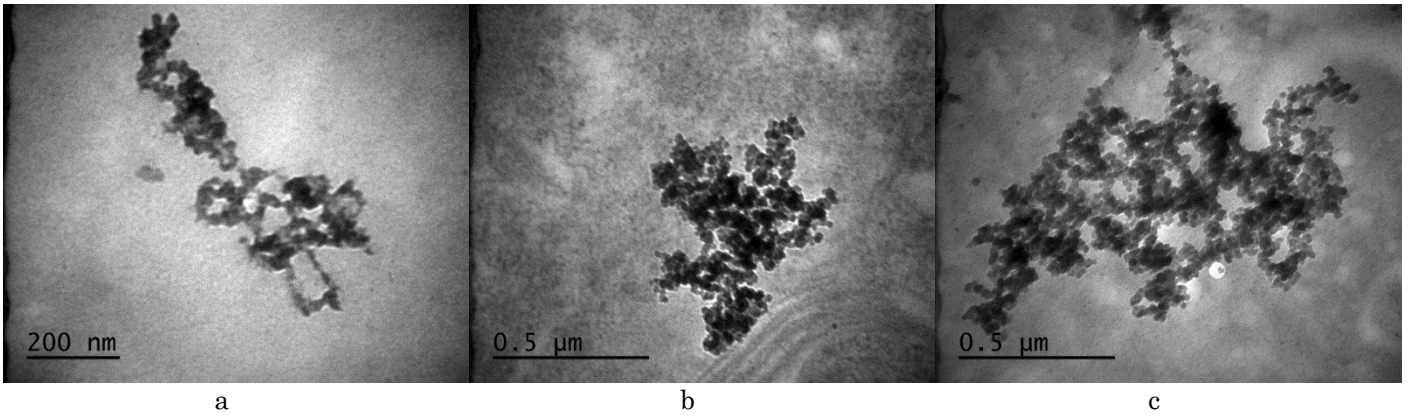


Şekil 3. On dört gün süresince oral olarak en düşük dozda CuO NP (0.5/kg/gün) alan sıçanda beyin (a), böbrek (b) ve karaciğer (c) dokusunda nanopartikül birikimini gösteren TEM görüntüleri.

Figure 3. TEM images of brain (a), kidney (b) and liver (c) tissues of rats received the lowest dose of CuO NP (0.5 mg/kg/day) for 14 days.



Şekil 4. On dört gün süresince oral olarak orta dozda CuO NP (5/kg/gün) alan sıçanda beyin (a), böbrek (b) ve karaciğer (c) dokusunda nanopartikül birikimini gösteren TEM görüntüleri.
Figure 4. TEM images of brain (a), kidney (b) and liver (c) tissues of rats received the medium dose of CuO NP (5 mg/kg/day) for 14 days.



Şekil 5. On dört gün süresince oral olarak en yüksek dozda CuO NP (50/kg/gün) alan sıçanda beyin (a), böbrek (b) ve karaciğer (c) dokusunda nanopartikül birikimini gösteren TEM görüntüleri.
Figure 5. TEM images of brain (a), kidney (b) and liver (c) tissues of rats received the highest dose of CuO NP (50 mg/kg/day) for 14 days.

BULGULAR ve TARTIŞMA

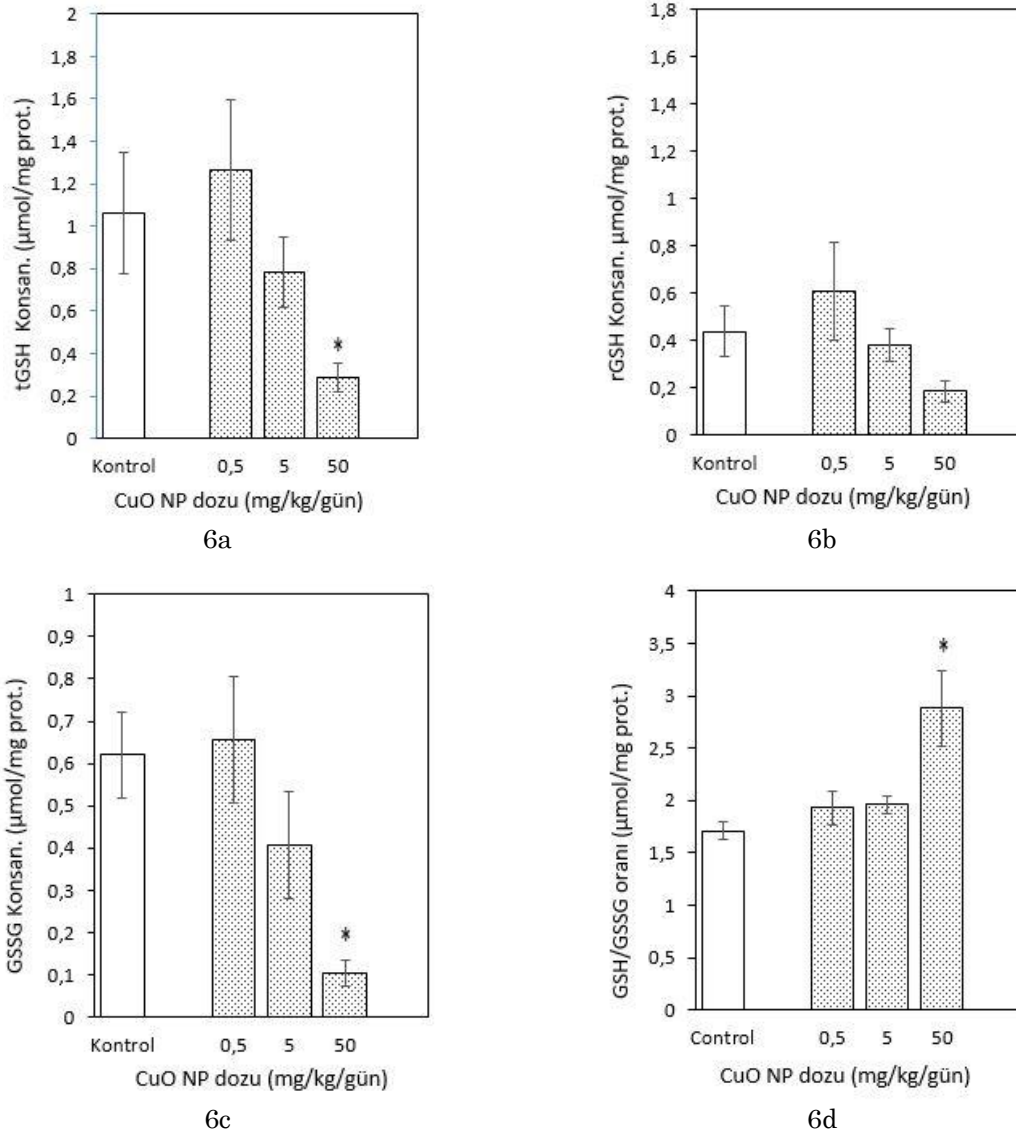
Bakır oksit NP dozlarının (0, 0.5, 5, 50 mg/kg/gün) hiçbiri 14 gün içinde sıçanları öldürmemiş olup, aynı zamanda deneyler sırasında görünür bir sağlık sorunu da (örneğin göz rengi, beslenme alışkanlığında değişim, aktivite azlığı veya fazlalığı) olmamıştır. Bu nedenle, çalışılan CuO NP dozları, 14 gün oral uygulama için subletal olarak kabul edilmiştir. TEM görüntülerine bakıldığında kontrol hayvan dokularında herhangi NP varlığına rastlanmazken, NP verilen sıçanların dokularında TEM görüntüleri doza bağlı olarak CuO NP varlığını göstermiştir (Şekil 2-5). Bu görüntülerden de görüleceği üzere dokulardaki CuO NP birikimi en düşük doza göre yüksek dozlarda daha yoğun olarak belirlenmiştir. Bu görüntüler oral yolla verilen CuO NP'lerin bağırsak duvarından geçtiğini ve damarlara geçip oradan kan yoluyla dokulara ulaşarak dokularda biriktiğini göstermektedir. Literatür verileri incelendiğinde bezer durumlara rastlanmıştır (Meena ve Paulraj, 2012; Shrivastava ve ark., 2013; Jovanovic, 2015; Canli ve ark., 2018; Tang ve ark., 2019; Canli ve ark., 2019b). Aynı metalin NP formu ile iyonik formu arasında

toksosite bakımından ciddi farklar olabileceği bildirilmiştir (Ema ve ark., 2016). Literatür verileri ayrıca NP toksisitesinin uygulama süresi ve dozundaki artışlarla artabileceğini göstermektedir (Janrao ve ark., 2014; Rizk ve ark., 2017; Chen ve ark., 2019).

Dokularda nanopartikül birikimi ve doz arasındaki pozitif ilişki genellikle biyomarkır düzeylerinde meydana gelen anlamlı değişimlere de yansımıştır. Biyomarkır tepkileri genellikle en yüksek dozda daha fazla görülmüştür. Örneğin karaciğer tGSH, rGSH ve GSSG düzeyleri sadece en yüksek dozda anlamlı azalmalar gösterirken, bunun sonucu olarak GSH/GSSG oranı da yine en yüksek dozda değişmiştir (Şekil 6a-d). Bilindiği gibi glutatyon bir tripeptit olup, serbest radikallere karşı iyi bir indirgen ve güçlü bir antioksidan olarak bilinmektedir (Hidalgo ve ark., 2002; Kanak ve ark., 2014; Canli ve ark., 2017). Bu nedenle, glutatyon düzeyinde meydana gelebilecek artış veya azalışların organizmanın yaşadığı oksidatif stresin göstergesi olabildiği çeşitli araştırmalarda vurgulanmıştır (Yu ve ark., 2014; Hu ve ark., 2015; Lei ve ark., 2015; Rizk ve ark., 2017; Canli ve ark., 2019a).

Bu durum NP'lerin enzimatik reaksiyonlara müdahale ederek veya enzimlerin aktif bölgelerine bağlanarak metabolizmada değişimlere neden olabildiğini göstermektedir. Literatür verileri TiO₂, CuO, ZnO ve Al₂O₃ NP'lere maruz kalan memeli hayvanlarda serbest radikal artışı ile antioksidan sisteminin yetersizliği arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Buna tepki olarak hayvan metabolizması glutatyon miktarını artırarak oksidatif stresle mücadele etmeye

çalışmaktadır (Yu ve ark., 2014; Hu ve ark., 2015; Lei ve ark., 2015; Park ve ark., 2015; Rizk ve ark., 2017). Diğer yandan, literatür verileri glutatyon düzeylerinin tepkisinin hem artış, hem de azalış yönünde olabileceğini ve her iki durumda da organizmanın antioksidan sisteminin olumsuz etkilendiğini belirtmişlerdir (Rizk ve ark., 2017; Elnagar ve ark., 2018).



Şekil 6. On dört gün süresince oral olarak CuO NP alan sıçanların karaciğerinde toplam glutatyon (a), indirge glutatyon (b), okside glutatyon (c) ve toplam glutatyonun okside glutatyona oranı (d). Veriler 6 sıçanın ortalamasını göstermektedir. (Yıldızlar kontrol ve farklı dozlarda NP alan sıçanlar arasındaki anlamlı ($P<0.05$) farkları göstermektedir).

Figure 6. Levels of total glutathione (a), reduced glutathione (b), oxidized glutathione (c) and the ratio between reduced and oxidised glutathione (d) in the liver of rat orally received CuONPs for 14 days. Data are the mean of 6 rats. Asterisks indicate significant ($P<0.05$) differences between control rats and rats received different doses of NPs).

Ozmoregülatör organlar olan böbrek ve ince bağırsağın CuO NP'lere olan tepkisi farklı yönlerde olmuştur. İncelenen dokular arasında sadece böbrek ATPaz aktiviteleri anlamlı ($P<0.05$) değişime uğramıştır (Şekil 7a-c). İlginç bir şekilde, daha önce yayınlanmış olan verilerimiz, sıçanların eritrositlerinde ATPaz

aktivitelerinin NP etkisinde ciddi azalmalar gösterdiğini vurgulamıştır (Canli ve Canli, 2017). Bezer sonuçları Li ve ark. (2008) beyaz tavşanlarda göstermişlerdir. Araştırmacılar NP'lerin eritrositlein yüzeyine adsorbe olduğunu ve özellikle zar enzimleri inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Bilindiği gibi,

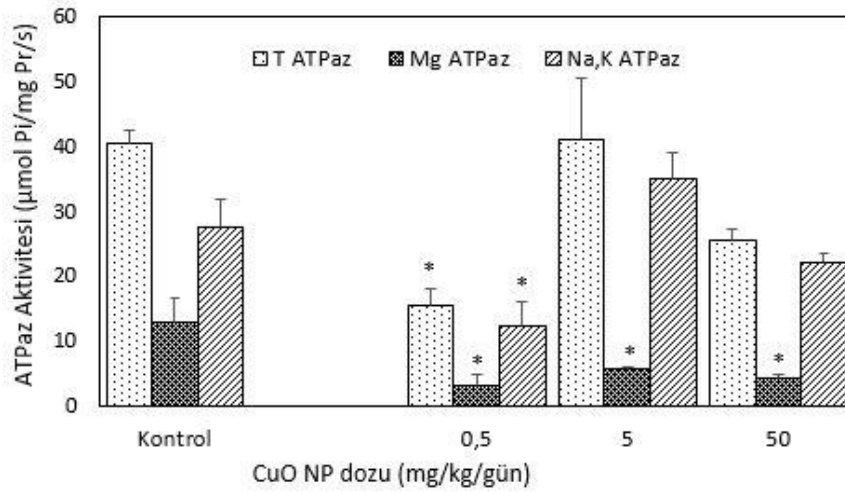
eritrositler kanda serbest dolaşan NP'lerle geniş yüzey alanları sayesinde karşı karşıya gelebilir ve bunun sonucu olarak NP'ler eritrositlerin hücre zarına bağlanarak iyon taşınmasını engelleyebilir. Böylece NP'lerin farklı dokularda farklı etkiler gösterebileceğini sonucu çıkarılabilir (Canli ve Canli, 2017). Kumari ve ark. (2012) Fe-NP verilen sıçanların beyin dokusunda Na,K-ATPaz, Mg-ATPaz ve Ca-ATPaz aktivitelerinin anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir. Benzer şekilde, Zhou ve ark. (2017) 90 gün süresince burun yoluyla titanyum NP (1-5 mg/kg/gün) verdikleri farelerde Na,K-ATPaz, Ca-ATPaz ve Mg-ATPaz aktivitelerinde anlamlı azalmalar olduğunu belirtmişlerdir. ATPaz aktivitelerinde olan azalmalar Hong ve ark. (2015) tarafından da gösterilmiştir. Araştırmacılar 2 ay süresince 2.5-10 mg/kg/gün dozlarındaki TiO₂ NP alan erkek farelerde Na,K-ATPaz ve Ca-ATPaz aktivitelerinde anlamlı azalmalar olduğunu gösterirken, altın NP verilen sıçanların beyinde Na,K-ATPaz aktivitesinin % 100 arttığını, buna karşın Mg-ATPaz aktivitesinin ise değişmediğini belirtmişlerdir. Chichova ve ark. (2014), NP'lerin toksik etkilerinin, hücre zarlarından difüzyon kapasiteleri ile ilişkili olduğunu, mitokondrinin iç zarında olan Mg-ATPaz enziminin inhibe olabilmesi için buraya kadar ulaşma özelliğinde olması gerektiğini vurgulamışlardır. Bu çalışmada, Mg-ATPaz aktivitesinde görülen azalmalar CuO NP'lerin mitokondri iç zarına kadar ulaşabildiğini vurgulamaktadır. Metal toksisitesinde olduğu gibi, nanopartiküllerin toksik etkileri araştırmada deneylerin sonuçları *in vitro* veya *in vivo* özelliklerine göre değişmektedir (Vasic ve ark., 2009). Benzer şekilde, Canli ve Stagg (1996) *in vivo* şartlar altında enzimlerin farklı davrandığını ve *in vitro* şartlarda görülen toksik etkilerin *in vivo* şartlarda görülmeyebileceğini vurgulamışlardır. Buna neden olarak, enzimlerin *in vivo* şartlarda turnover sayılarını artırabilmelerini göstermişlerdir. Bu nedenle, ATPaz grubu enzimler söz konusu olduğunda *in vivo* ve *in vitro* deneylerin sonuçlarının yorumlanmasında dikkatli olunması gerektiğini belirtmişlerdir.

AChE enzimi her çeşit kas kasılması esnasında oluşan impuls sırasında nörotransmitter olarak görev yapan önemli bir enzim olup hem çevresel, hem de merkezi sinir sistemi için anahtar rolü olan enzimdir. Yapılan çalışmalar bu enzimin çevre kirleticilerine karşı oldukça hassas olduğunu göstermiştir (Frasco et ve ark., 2005; Yılmaz ve ark., 2015; Canli ve ark., 2019a). Memelilerde beyin AChE aktivitesinin nanopartikül etkisinden en fazla etkilenen enzim olduğu görülmektedir. Hem bu çalışmada, hem de daha önceki çalışmalarımızda (Canli ve ark., 2019a) NP'lerin sıçanlarda beyin AChE aktivitesini (Şekil 8) anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir. AChE aktivitesinde görülen azalmalar çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

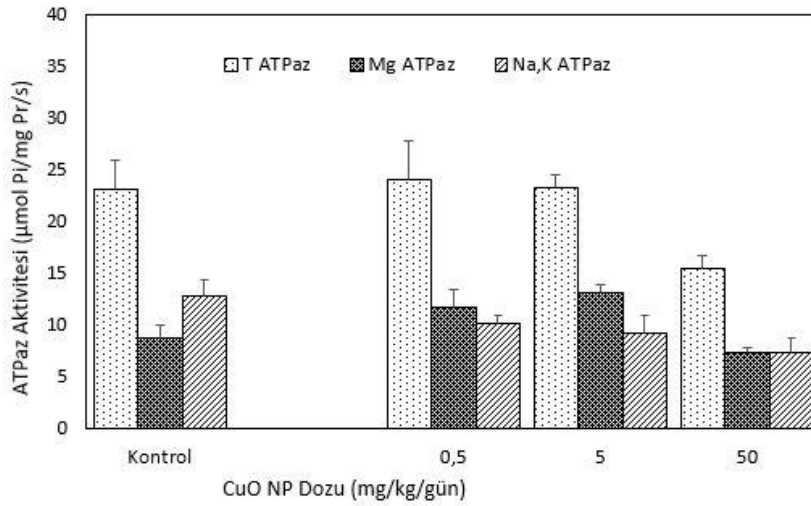
Singh ve ark., (2013) oral olarak yüksek dozda MnO NP verdikleri sıçanlarda AChE aktivitesinin anlamlı olarak azaldığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, MnO NP'lerin aynı zamanda biyokimyasal, histolojik ve genetik değişimlere de neden olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde altın NP'ler (100 µg/kg) 24 saat içerisinde sıçanların beyin AChE aktivitesinde anlamlı azalmalara yol açtığını belirtmişlerdir. Kumari ve ark. (2012) demir NP verdikleri sıçanlarda eritrosit ve beyin AChE aktivitelerinde önemli değişimlerin olduğunu belirtirken, demir gibi düşük toksisiteye sahip bir metalin NP formunda daha toksik olabileceğini vurgulamışlardır. Demir gibi alüminyum metali de NP formunda memelilerin beyin AChE aktivitesini anlamlı olarak azaltabilmektedir (M'rad ve ark., 2018; Canli ve ark., 2019a). Literatür verileri ve bu çalışmanın sonuçlarına göre, NP etkisinde kalan memelilerde beyin AChE aktivitesi en fazla etkilenen biyomarkırlar olarak göze çarpmaktadır. Özellikle oral yolla alınmasına karşın enzim aktivitesinde anlamlı azalmaların olması insanlar için de bir alarm niteliğindedir. Çünkü insanlar günlük yaşamda nanoteknolojik ürünleri sıkça kullanmaktadır.

Karaciğer TBARS düzeyleri CuO NP etkisinde kalan sıçanlarda genelde bir artış görülmekle birlikte, sadece en yüksek CuO NP dozunda istatistiksel olarak anlamlı artışlar görülmüştür (Şekil 9). Literatür incelendiğinde memelilerde karaciğer TBARS ve MDA düzeyleri lipit peroksidasyonunu göstergesi olarak kullanılmaktadır (Rohner ve ark., 2007; Wang ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2015; 2017; Canli ve ark., 2019a). Oksidatif strese neden olan ksenobiyotiklerin aynı zamanda lipit peroksidasyonuna da neden olduğu bilinmektedir. Verilere bu açıdan bakıldığında, glutasyon düzeylerini etkileyen en yüksek CuO NP dozunun aynı zamanda TBARS düzeylerini de etkilediği görülmektedir. Bu nedenle, en yüksek CuO NP dozunun hem oksidatif strese, hem de lipit peroksidasyonuna neden olduğunu söylemek mümkün gözükmemektedir (Lei ve ark., 2015; Hong ve ark., 2015). Bu çalışma CuO NP'lerin lipit peroksidasyonuna neden olarak muhtemelen zar yapısını bozduğunu göstermektedir. Wang ve ark. (2009) silica NP'lere maruz kalan insanların embriyonik hücrelerinde TBARS düzeylerinin arttığını gösterirken, lipit peroksidasyonuna dikkat çekmişlerdir. Benzer şekilde, alüminyum NP etkisinde kalan sıçanların karaciğerinde TBARS düzeylerinde artışlar olduğu gösterilmiştir (M'rad ve ark., 2018; Canli ve ark., 2019a).

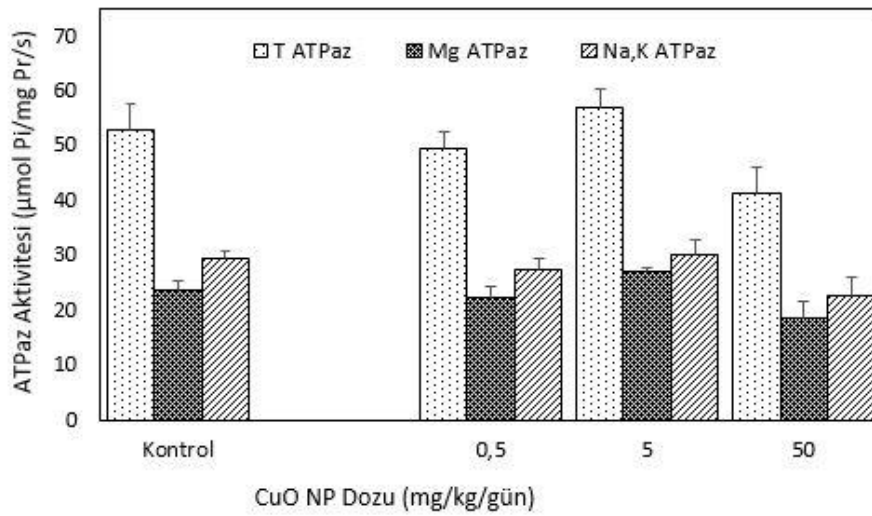
Bu çalışma sıçan metabolizmasına ait enzimatik ve enzimatik olmayan biyomarkırların CuO NP etkisine verdiği tepkileri göstermektedir. Sonuçlar, dokuya özgün ve/veya biyomarkıra bağlı olarak değişen etkilerin olabileceğini vurgulamıştır. Sıçanların beyin ve böbrek dokuları CuO NP'lerden en fazla etkilenmek-



7a



7b



7c.

Şekil 7. Sıçan böbreğinde (a), ince bağırsağında (b) ve beyininde (c) ATPaz aktiviteleri. Detaylar Şekil 6 da verilmiştir.

Figure 7. Activities of ATPases in the kidney (a), intestine (b) and brain (c) of rats. Details are given in Fig. 6.

le beraber, karaciğer dokusu da en yüksek dozda etkilenmiştir. TEM görüntüleri bu etkilerde NP birikiminin rolü olabileceğini net bir şekilde vurguladığından önemli görüntülerdir. Aynı zamanda, sonuçlar NP etkisinin ve etki mekanizmalarının daha kapsamlı olarak araştırılması gerektiğini de vurgulamıştır. Ayrıca, memeli hayvanlarda metal oksit nanopartiküllerinin letal dozlarının ve besin kabul edilebilirlik düzeylerinin belirlenmesi de gereklidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın verilerinin bir kısmı Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenen projeye (FDK-2017-8197) aittir. Fizikçi hocam Prof. Dr. CebraİL Gümüş'e nanopartikül karakterizasyonu konusunda ve Doktora Tez Danışmanım Prof. Dr. Hasan. B. İla'ya desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarı herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

AshaRani PV, Mun GLK, Hande MP, Valiyaveettil S 2009. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *Acs. Nano.* 3:279-290.

Atkinson A, Gateby AO, Lowe, AG 1973. The Determination of Inorganic Orthophosphate in Biological Systems. *Biochimica Et Biophysica Acta* 320: 195-204.

Auffan M, Flahaut E, Thill A, Mouchet F, Carriere M, Gauthier L, Bottero JY 2011. Ecotoxicology: Nanoparticle reactivity and living organisms. In *Nanoethics and Nanotoxicology* pp. 325-357. Springer, Berlin, Heidelberg.

Bahadar H, Maqbool F, Niaz K, Abdollahi M 2016. Toxicity of nanoparticles and an overview of current experimental models. *Iranian Biomed J* 20(1): 1-11.

Bondarenko KJ, Ivask A, Kasemets K, Mortimer M, Kahru A 2013. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. *Archives of Toxicology* 87: 1181-1200.

Canli M, Stagg RM 1996. The effects of in vivo exposure to cadmium, copper and zinc on the activities of gill ATPases in the Norway lobster, *Nephrops norvegicus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 31: 494-501.

Canli EG, Atli G, Canli M 2017. Response of the antioxidant enzymes of the erythrocyte and alterations in the serum biomarkers in rats following oral administration of nanoparticles. *Environ. Toxicol. Phar.* 50: 145-150.

Canli EG, Canli M 2017. Effects of aluminum, copper, and titanium nanoparticles on some blood parameters in Wistar rats. *Turk. J. Zool.* 41: 259-266.

Canli E.G, Dogan A, Canli M 2018. Serum biomarker levels alter following nanoparticle (Al₂O₃, CuO, TiO₂) exposures in freshwater fish (*Oreochromis niloticus*). *Environ. Toxicol. Phar.* 62: 181-187.

Canli EG, İla HB, Canli M 2019a. Responses of biomarkers belonging to different metabolic systems of rats following oral administration of aluminium nanoparticle. *Environ. Toxicol. Pharma.* 69: 72-79.

Canli EG, İla HB, Canli M 2019b. Response of the antioxidant enzymes of rats following oral administration of metal-oxide nanoparticles (Al₂O₃, CuO, TiO₂). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26(1): 938-945.

Canli, E.G., Canli, M., 2019. Nanoparticles (Al₂O₃, CuO, TiO₂) decrease ATPase activity in the osmoregulatory organs of freshwater fish (*Oreochromis niloticus*); histopathological investigations of tissues by transmission electron microscope. *EC Pharmacology and Toxicology* 7, 909-924

Chen Z, Zhou D, Wang Y, Zhao L, Hu G, Liu J, Jia, G 2019. Combined effect of titanium dioxide nanoparticles and glucose on the cardiovascular system in young rats after oral administration. *J. App. Toxicol.* 39(4): 590-602.

Chichova M, Shkodrova M, Vasileva P, Kirilova K, Doncheva-Stoimenova D (2014). Influence of silver nanoparticles on the activity of rat liver mitochondrial ATPase. *J. Nanopart. Res.* 16: 1-14.

De Jong WH, Borm PJ 2008. Drug delivery and nanoparticles: applications and Hazards. *Int. J. Nanomed.* 3(2): 133-149.

Durmaz M, Sevgiler Y, Uner N 2006. Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in *Oreochromis niloticus*. *Pestic. Biochem. Phys.* 84: 215-226.

Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-Stone RM 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7: 88-95.

Elnagar AMB, Ibrahim A, Soliman AM 2018. Histopathological effects of titanium dioxide nanoparticles and the possible protective role of N-acetylcysteine on the testes of male albino rats. *Int. J. Fertil. Steril.* 12(3): 249-256.

Ema M, Hougaard KS, Kishimoto A, Honda K 2016. Reproductive and developmental toxicity of carbon-based nanomaterials: A literature review. *Nanotoxicology* 10: 391-412.

Frasco MF, Fournier D, Carvalho F, Guilhermino L 2005. Do metals inhibit acetylcholinesterase (AChE)? Implementation of assay conditions for the use of AChE activity as a biomarker of metal

- toxicity. *Biomarkers* 10(5): 360-375.
- Griffith OW 1980. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione-reductase and 2-vinylpyridine. *Analytical Biochemistry* 106: 207-212.
- Guo D, Bi H, Wang D, Wu Q 2013. Zinc oxide nanoparticles decrease the expression and activity of plasma membrane calcium ATPase, disrupt the intracellular calcium homeostasis in rat retinal ganglion cells. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 45: 1849-1859.
- Hagens WI, Oomen AG, de Jong WH, Cassee FR, Sips AJ 2007. What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body? *Regulatory Toxicol. Pharma.* 49(3): 217-229.
- Handy RD, Shaw JS 2007. Toxic effects of nanoparticles and nanomaterials: implications for public health, risk assessment and the public perception of nanotechnology. *Health, Risk and Society* 9: 125-144.
- Hidalgo MC, Exposito A, Palma JM, de la Higuera M 2002. Oxidative stress generated by dietary Zn-deficiency: studies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int. J Biochem. Cell. Biol.* 34: 183-193.
- Hong F, Si W, Zhao X, Wang L, Zhou Y, Chen M, Ge Y, Zhang Q, Wang Y, Zhang J 2015. TiO₂ nanoparticle exposure decreases spermatogenesis via biochemical dysfunctions in the testis of male mice. *J. Agric. Food. Chem.* 63: 7084-7092.
- Howarth C, Gleeson P, Attwell D 2012. Updated energy budgets for neural computation in the neocortex and cerebellum. *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* 32: 1222-1232.
- Hu H, Guo Q, Wang C, Ma X, He H, Oh Y, Feng Y, Wu Q, Gu N 2015. Titanium dioxide nanoparticles increase plasma glucose via reactive oxygen species-induced insulin resistance in mice. *J. Appl. Toxicol.* 35: 1122-1132.
- Janrao KK, Gadhave MV, Banerjee SK, Gaikwad DD 2014. Nanoparticle induced nanotoxicity: an overview. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* 4(32): 1-7.
- Jovanović B 2015. Critical review of public health regulations of titanium dioxide, a human food additive. *Integrated environmental assessment and management* 11(1): 10-20.
- Kanak EG, Dogan Z, Eroglu A, Atli G, Canli M 2014. Effects of fish size on the response of antioxidant systems of *Oreochromis niloticus* following metal exposures. *Fish. Physiol. Biochem.* 40: 1083-1091.
- Kumari M, Rajak S, Singh SP, Kumari SI, Kumar PU, Murty USN, Mahboob M, Grover P, Rahman MF 2012. Repeated oral dose toxicity of iron oxide nanoparticles: biochemical and histopathological alterations in different tissues of rats. *J. Nanosci. Nanotechno.* 12: 2149-2159.
- Lei R, Yang B, Wu C, Liao M, Ding R, Wang Q 2015. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage in the liver and kidney of rats following exposure to copper nanoparticles for five consecutive days. *Toxicol. Res.* 4(2): 351-364.
- Li SQ, Zhu RR, Zhu H, Xue M, Sun XY, Yao SD, Wang SL 2008. Nanotoxicity of TiO₂ nanoparticles to erythrocyte in vitro. *Food and Chemical Toxicology* 46(12): 3626-3631.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farra NJ, Randall RJ 1951. Protein Measurements with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Meena R, Paulraj R 2012. Oxidative stress mediated cytotoxicity of TiO₂ nano anatase in liver and kidney of Wistar rat. *Toxicol. Environ. Chem.* 94(1): 146-163.
- Mostafalou S, Mohammadi H, Ramazani A, Abdollahi M 2013. Different biokinetics of nanomedicines linking to their toxicity; an overview. *DARU Journal of Pharmaceutical* 21: 14-18.
- M'rad I, Jeljeli M, Rihane N, Hilber P, Sakly M, Amara S 2018. Aluminium oxide nanoparticles compromise spatial learning and memory performance in rats. *Excli. J.* 17: 200-210.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358.
- Park EJ, Sim J, Kim Y, Han BS, Yoon C, Lee S, Cho MH, Kim JH 2015. A 13-week repeated-dose oral toxicity and bioaccumulation of aluminum oxide nanoparticles in mice. *Arch. Toxicol.* 89: 371-379.
- Pena-Llopis S, Pena JB, Sancho E, Fernandez-Vega C, Ferrando MD 2001. Glutathione-dependent resistance of the European eel *Anguilla anguilla* to the herbicide molinate. *Chemosphere* 45: 671-681.
- Piner P, Uner N 2012. Oxidative and apoptotic effects of lambda-cyhalothrin modulated by piperonyl butoxide in the liver of *Oreochromis niloticus*. *Environ. Toxicol. Phar.* 33: 414-420.
- Rizk MZ, Ali SA, Hamed MA, El-Rigal NS, Aly HF, Salah HH 2017. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles: effect of dose and time on biochemical disturbance, oxidative stress and genotoxicity in mice. *Biomed. Pharmacotherapy* 90: 466-472.
- Rohner F, Ernst FO, Arnold M, Hibe M, Biebinger R, Ehrensperger F, Pratsinis SE, Langhans W, Hurrell RF, Zimmermann MB 2007. Synthesis, characterization, and bioavailability in rats of ferric phosphate nanoparticles. *J. Nutr.* 137: 614-619.
- Schrand AM, Rahman MF, Hussain SM, Schlager JJ, Smith DA, Ali SF 2010 Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment. *Wires. Nanomed. Nanobi.* 2:544-568.
- Shrivastava R, Raza S, Yadav A, Kushwaha P, Flora SJS 2014. Effects of sub-Acute exposure to TiO₂, ZnO and Al₂O₃ nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain. *Drug Chem. Toxicol.* 37: 336-347.

- Silva-Herdade AS, Saldanha C 2013. Effects of acetylcholine on an animal model of inflammation. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 53: 209-2016.
- Singh SP, Kumari M, Kumari SI, Rahman MF, Mahboob M, Grover P 2013. Toxicity assessment of manganese oxide micro and nanoparticles in Wistar rats after 28 days of repeated oral exposure. *J. Appl. Toxicol.* 33: 1165-1179.
- Syama S, Sreekanth, PJ Varma HK, Mohanan PV 2013. Effect of zinc oxide nanoparticles on cellular oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in mouse liver. *Toxicological and Environmental Chemistry* 95: 495-503.
- Tang T, Zhang Z, Zhu X 2019. Toxic Effects of TiO₂ NPs on Zebrafish. *Int. J. Environ. Res. Pub. Health.* 16(4): 523-537.
- Vasic VM, Colovic MB, Krstic DZ 2009. Mechanism of Na⁺/K⁺-ATPase and Mg²⁺-ATPase inhibition by metal ions and complexes. *Hem. Ind.* 63: 499-509.
- Wang F, Gao F, Lan MB, Yuan HH, Huang YP, Liu JW 2009. Oxidative stress contributes to silica nanoparticle-induced cytotoxicity in human embryonic kidney cells. *Toxicol in Vitro* 23: 808-815.
- Winston GW 1991. Oxidants and Antioxidants in Aquatic Animals. *Comp. Biochem. Physiol. C-Pharma. Toxicol. Endocrin* 100: 173-176.
- Yang L, Watts DJ 2005. Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. *Toxicol. Lett.* 158(2): 122-132.
- Yilmaz M, Rencuzogullari E, Canli M 2015. The effects of cyfluthrin on some biomarkers in the liver and kidney of Wistar rats. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22: 4747-4752.
- Yilmaz M, Rencuzogullari E, Canli M 2017. Investigations on the effects of etoxazole in the liver and kidney of Wistar rats. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24: 19635-19639.
- Yu XH, Zhao XY, Ze YG, Wang L, Liu D, Hong J, Xu BQ, Lin A, Zhang C, Zhao Y, Li BY, Hong FS 2014. Changes of serum parameters of TiO₂ nanoparticle-induced atherosclerosis in mice. *J. Hazard. Mat.* 280: 364-371.
- Zhou Y, Hong F, Wang L 2017. Titanium dioxide nanoparticle-induced cytotoxicity and the underlying mechanism in mouse myocardial cells. *J. Nano. Res.* 19(11): 356-369.



Effect of Farmyard Manure on Mineral Nutrition of Rye (*Secale cereale* L.) Plant

Aydın ADILOĞLU¹, Korkmaz BELLİTÜRK², Sevinç ADILOĞLU³, Yusuf SOLMAZ^{4*}

Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, Department of Soil Science and Plant Nutrition, Tekirdağ/Turkey.

¹<https://orcid.org/0000-0002-7926-509X>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4944-3497>, ³<https://orcid.org/0000-0002-0062-0491>,

⁴<https://orcid.org/0000-0003-2170-0375>

✉: ysolmaz@nku.edu.tr

ABSTRACT

This research was conducted to determine the effect of increasing pellet farmyard manure on mineral nutrition of rye (*Secale cereale* L.) plant. For this purpose, a pot experiment was established in greenhouse conditions with three replications. Five farmyard manure doses (FM₀: 0 %, FM₁: 4 %, FM₂: 8 %, FM₃: 12 % and FM₄: 16 %) were applied to pots a month prior to sowing. Nitrogen (14 kg N da⁻¹), phosphorus (8 kg P₂O₅ da⁻¹ and potassium (5 kg K₂O da⁻¹) were applied to each pot from NH₄NO₃ and KH₂PO₄ fertilizers. Rye (*Secale cereale* L.) was harvested 60 day after planting and dry matter yield and some macro and micro element (N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn and Mn) contents of plants were determined. According to the results, significant increases of dry matter yield of plants were determined with increasing farmyard manure applications. Also, increasing farmyard manure application on N, P, K, Fe, Cu, Zn and Mn contents of rye (*Secale cereale* L.) were found statistically significant at the level of 5 %.

Research Article

Article History

Received : 19.08.2019

Accepted : 08.11.2019

Keywords

Farmyard manure
Macro element
Trace element
Rye.

Çiftlik Gübresinin Çavdar (*Secale cereale* L.) Bitkisinin Mineral Beslenmesine Etkisi

ÖZET

Bu araştırma, artan miktarlarda çiftlik gübresi uygulamasının çavdar bitkisinin (*Secale cereale* L.) mineral beslenmesi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla sera koşullarında üç paralelli bir saksı denemesi yapılmıştır. Denemede beş doz pellet haline getirilmiş çiftlik gübresi (Ç₀: % 0, Ç₁: % 4, Ç₂: % 8, Ç₃: % 12 ve Ç₄: % 16) tohum ekiminden bir ay önce uygulanmıştır. Saksıların her birine 14 kg N da⁻¹, 8 kg P₂O₅ kg da⁻¹ ve 5 kg K₂O da⁻¹ NH₄NO₃ ve KH₂PO₄ gübrelerinden uygulanmıştır. Bitkiler ekimden 60 gün sonra hasat edilmiş ve kuru madde miktarları ile birlikte bazı makro ve mikro bitki besin elementi içerikleri (N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn ve Mn) belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, artan miktarlarda çiftlik gübresi uygulamaları ile birlikte çavdar bitkisinin kuru madde miktarı üzerinde önemli artışlar saptanmıştır. Ayrıca çiftlik gübresinin artan miktarları ile çavdar bitkisinin N, P, K, Fe, Cu, Zn ve Mn içeriklerinde de % 5 düzeyinde önemli artışlar olduğu görülmüştür.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 19.08.2019

Kabul Tarihi : 08.11.2019

Anahtar Kelimeler

Çiftlik gübresi
Makro besin elementi
Mikro besin elementi
Çavdar

To Cite : Bellitürk K, Adiloğlu A, Adiloğlu S, Solmaz Y 2020. Effect of Farmyard Manure on Mineral Nutrition of Rye (*Secale cereale* L.) Plant. KSU J. Agric Nat 23 (2): 316-320. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.606574.

INTRODUCTION

In the last century, the developed countries, that were trying to solve the nutrition problem of humanity, have proposed to use fertilizers that are more chemical on unit area in order to increase productivity in agriculture. However, even the yields may have increased by the application of more chemical fertilizers on the unit area; this caused

serious impairment of product quality, environmental pollution, especially the pollution of natural sources, notably soil and water resources, and important health problems on the living beings.

In recent years, scientists tried to solve the problem caused by chemical fertilizers and revealed the need for the use of organic fertilizers. One advantage of organic fertilizers is that they have a capacity to

eliminate the pollution of soil and water resources caused by chemical fertilizers. Several kinds of organic fertilizers have been intensely used in agriculture lately.

In a study carried out in Chile, some plant nutrient contents of aquaculture wastes were analyzed for agricultural use. Some plant nutrient macro elements of the aquaculture wastes were found to be 1.56 % phosphorus, 3.89 % calcium, and 0.63 % potassium. Micro nutrient elements were found to be 27.948 mg/kg iron, 446 mg/kg manganese, and 393 mg/kg zinc. The researchers suggested the use of the mentioned aquaculture wastes with high element contents in organic agriculture as the plant nutrient (Salazar and Saldana, 2007).

The effects of the apple pulp used as the organic material was determined on some fertility characteristics of the soil (Yılmaz and Alagöz, 2009). Increasing amounts of apple pulp (1, 2 and 4 tone/da) showed significant increase in the organic material, N, P, Fe, Mn, and Cu contents of soil in the experiment area.

A study was conducted in France to determine the necessity of absolute use of farmyard manure in order to increase the organic material of the agricultural soils (Le villo et al., 2004).

The effects of vermicompost as organic material on the yield of red onion (*Allium cepa* L.) were analyzed in a research, in Azerbaijan. For this purpose, increasing amounts of vermicompost (2, 4, 6 tones/ha) were tested. The highest yield, protein and ascorbic acid values were obtained from the parcel where the highest dose (6 tone/ha) of vermicompost was applied (Bai and Malakouti, 2007). The need for the dissemination of the organic fertilizers in agriculture was obtained at the end of the research.

The effects of different organic materials on some nutrient elements, quality parameters and yield characteristic of the spinach (*Spinacea oleracea* L.) were determined in study where farmyard manure and organic materials commercially named bioform and perlhumus were applied together. The results showed that fertilizer applications significantly increased the yield, N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn and Mn contents of the plants compared to controls (Tepecik et al., 2012).

Increasing amounts of aquaculture waste and vermicompost were applied to lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*) in order to determine the effects of them on plant yield in greenhouse experiment. Increasing amounts of aquaculture and vermicompost significantly enhanced the plant yield, fresh weight, plant diameter, leaf number, leaf length and width. While the aquaculture application did not change Fe and Mn content of the plant, they were increased by the application of vermicompost together with

aquaculture (Adiloğlu et al., 2016).

The effects of increasing amounts of pellet farmyard manure application on the mineral nutrition of the rye plant (*Secale cereale* L.) were determined in this study.

MATERIALS and METHODS

In this study, a greenhouse pot experiment were established using rye (*Secale cereale* L.) as plant material. Overall, 300 cc in volume plastic pots were filled with soil samples taken from Application and Research area of Tekirdağ Namık Kemal University Faculty of Agriculture. Three replicates of 5 different farmyard manure doses (FM₀: 0 %, FM₁: 4 %, FM₂, 8 %, FM₃: 12 % and FM₄: 16 %) were applied to pots. The aforementioned organic fertilizer was mixed well with soil one month before sowing. After thirty days rye seeds (*Secale cereale* L.) were sown into the pots and nitrogen (14 kg N da⁻¹), phosphorus (8 kg P₂O₅ da⁻¹ and potassium (5 kg K₂O da⁻¹) applied to each pot from NH₄NO₃ and KH₂PO₄ fertilizers. Into each pot, 20 seeds were sown and dilution was applied to have homogeneous 15 plants growth. After two months of growing, plants were harvested, dry matter yield were determined (Kacar and İnal, 2010). The results were evaluated and the effects of increased amounts of farmyard manure doses on some macro and micro nutrient elements of plant growth were investigated. determined

Some physical and chemical characteristics of the farmyard manure used in this study were as follows: pH: 7.50-9.50, EC: 7.40 dS/m, organic matter: 40 %, total (humic + fulvic) acid: 5 %, total phosphorus (P₂O₅): 1.50 %, soluble potassium (K₂O): 1.50 %, carbon/nitrogen ratio (C/N): 8.90, humidity: 20 %. These results were given in some information on farmyard manure bag.

The pH, salt, lime, organic matter, available phosphorus, exchangeable potassium, calcium and magnesium contents (Sağlam, 2012), some available trace elements (Fe, Cu, Zn, Mn) contents (Lindsay and Norvell, 1978), and texture (Tuncay, 1994) of the soil analyses were conducted. Nitrogen, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn and Mn contents of the plants were determined according to Kacar and İnal (2010). Variance analyses of results were performed in MSTAT 3.00/EM software, and the means were compared with LSD test at 5% significance level (Düzgüneş et al., 1987).

RESULTS and DISCUSSION

Some Physical and Chemical Properties of Experiment Soil

Some physical and chemical properties of the soil sample are given in Table 1.

Table1. Some physical and chemical properties of the soil sample

Tablo1. Toprak örneğinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Soil property	Analysis result
pH	7.23
EC x 10 ⁶	241
Lime, %	2.80
Organic matter, %	0.71
Available phosphorus, P ₂ O ₅ , kg/da	9.25
Exchangeable, K ₂ O, kg/da	41.68
Exchangeable, Ca, %	1.51
Exchangeable, Mg, %	0.18
Available Mn, mg/kg	12.32
Available Cu, mg/kg	3.74
Available Fe, mg/kg	4.83
Available Zn, mg/kg	0.41
Texture class	Clay (C)

The Table 1 shows that the soil is in neutral reaction, salt-free, has low lime, insufficient organic matter, medium level of available phosphorus, changeable K, Ca, Mg, and sufficient available Fe, Cu and Mn, but insufficient Zn (Karaman et al., 2012a). Moreover, the texture of the soil is clay.

The effects of farmyard manure application on dry matter amount of the rye plant

The effects of the increasing doses of farmyard manure application on rye (*Secale cereale* L.) plant dry matter yield are presented in the Table 2.

Table 2. The effect of farmyard manure application on dry matter yield of rye plant,

Tablo 2. Çiftlik gübresi uygulamasının çavdar bitkisinde kuru madde miktarına olan etkisi

Farmyard manure dose	Dry matter yield, gr pot ⁻¹
FM ₀ : % 0	2.26* b**
FM ₁ : % 4	3.46 b
FM ₂ : % 8	5.11 ab
FM ₃ : % 12	6.35 a
FM ₄ : % 16	6.62 a

*: values average of three replications, **: significant at the level of 5 %

Results revealed that application of increasing amounts of farmyard manure to rye, dry matter yield of the plant increased ($p < 0.05$) (Table 2). The increase in the dry plant weight with addition of increasing amounts of organic material to the soil is an expected situation when the insufficient amount of organic matter in the experimental soil is taken into account.

Many previous researches indicated the increase of plant dry weight because of addition of increasing amounts of organic matter to soils, which were

insufficient in organic matter (Stumpe et al., 2000, Sağlam et al., 2012, Adiloğlu et al., 2016).

Effects of Farmyard Manure Application on Some Macro Nutrient Element Contents of Rye Plant

The effects of increasing amounts of farmyard manure on some macro nutrient elements of the rye (*Secale cereale* L.) are given in Table 3.

There was no significant change among the doses of the applied of increasing amounts of manure in terms of the Ca and Mg contents of the rye plant (*Secale cereale* L.) compared to control. However, the N, P, K contents of the plant increased significantly with increasing amounts of farmyard manure compared to the control.

The reason of this situation might be because of the insufficient organic matter, sufficient P and changeable K, Ca and Mg were available. Moreover, the duration of the experiment could have been short resulting a plant harvest before reaching to full harvest level.

The results of a research conducted on rye (*Secale cereale* L.) with increasing amounts of leonardite as the organic material showed that the effects of this organic material on N, P, K, Ca and Mg contents of the plant varied while plant nutrient element contents usually increased (Adiloğlu et al., 2018).

According to Werner (1997), addition of increasing amounts of organic fertilizer to the soil increased the availability of some macro nutrient elements such as N, P, and K in the soil and in the plant.

Effects of the Farmyard Manure Application on Some Trace Element Contents of Rye Plant

The effects of increasing amounts of farmyard manure on some trace elements (Fe, Cu, Zn and Mn) of rye (*Secale cereale* L.) are given in Table 4. Increasing amounts of farm manure positively affected and significantly increased ($P < 0.05$) the trace elements (Fe, Cu, Zn and Mn) of the rye compared to the control condition.

In a research by Alam et al. (2007) increasing amounts of vermicompost, which is an organic fertilizer, enhanced the contents of some trace elements of the potato plant. The results of the mentioned research are consistent with the results of this study.

A research conducted in Chile showed that increasing amounts of organic fertilizer applications significantly increased some trace elements such as Fe, Zn, Mn in plants (Celis and Sandoval, 2010).

Another related research found that different organic materials applied to lettuce significantly increased some trace elements including Fe and Mn (Adiloğlu et al., 2016).

Table 3. The effects of farmyard manure application on some macro element (N, P, K, Ca, Mg) contents of rye plant, %,

Tablo 3. Çiftlik gübresi uygulamasının çavdar bitkisindeki bazı makro elementler (N, P, K, Ca, Mg) üzerine etkisi, %

Farmyard manure dose	N**	P	K	Ca	Mg
FM ₀ : 0 %	2.83* b	0.23 b***	5.33 b	0.96 ns	0.10 ns
FM ₁ : 4 %	4.33 a	0.52 a	6.22 a	1.33 ns	0.15 ns
FM ₂ : 8 %	4.76 a	0.66 a	6.62 a	1.58 ns	0.16 ns
FM ₃ : 12 %	4.86 a	0.83 a	6.88 a	1.41 ns	0.14 ns
FM ₄ : 16 %	4.83 a	0.82 a	6.79 a	1.43 ns	0.12 ns

*: values average of three replications, **: each element was evaluated individually, ***: significant at the level of 5 %.

Table 4. The effects of farmyard manure application on some trace element (Fe, Cu, Zn ve Mn) contents of rye plant, mg/kg,

Tablo 4. Çiftlik gübresi uygulamasının çavdar bitkisindeki bazı mikro elementler (Fe, Cu, Zn ve Mn) üzerine etkisi, mg/kg,

Farmyard manure dose	Fe**	Cu	Zn	Mn
FM ₀ : % 0	39.33* b	8.83 c***	12.82 c	80.37 c
FM ₁ : % 4	110.13 a	11.95 b	20.35 b	92.52 b
FM ₂ : % 8	117.16 a	16.26 a	23.86 b	94.06 b
FM ₃ : % 12	119.93 a	16.12 a	30.64 a	105.59 a
FM ₄ : % 16	112.40 a	16.76 a	31.52 a	106.64 a

*: values average of three replications, **: each element was evaluated individually, ***: significant at the level of 5 %.

CONCLUSION

The results of this study revealed that a significant increase in dry mass of the rye (*Secale cereale* L.) were observed when increasing amounts of farmyard manure were used.

Moreover, N, P, K contents of the plant was seen significantly higher than the control by increasing amounts of manure. However, the Ca and Mg contents of the plant were not significantly different with the same applications. The Fe, Cu, Zn and Cu contents of the rye were also significantly increased with increased amount of farmyard manure.

The use of organic fertilizers to meet the needed plant nutrient element of the cultivars has been rapidly increased worldwide. Intense use of chemical fertilizer mostly degenerated the nutrition balance, resulting production of unhealthy products, which started threaten the human health seriously all over the world.

It has been an obligation to disseminate the use of organic materials such as farm manure in the agriculture in order to increase the organic matter content of our soils. The more dissemination of organic fertilizer use in agriculture would enhance the organic matter content of the soils, which may even recover some quality parameters of the plants that were destroyed by the intense use chemical fertilizers.

The absolute need for the use of farm manure was revealed with this study. The importance of

dissemination of the organic fertilizer use becomes more obvious when the organic matter insufficiency of soils of Turkey is taken into account.

Competing interests and Acknowledgements

Authors have declared that no competing interests exist.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Scientific Research Project Commission (BAP) of Namık Kemal University under the project number: NKUBAP. 03.GA.16.075.

REFERENCES

- Adiloğlu A, Bellitürk K, Adiloğlu S, Solmaz Y 2018. The effect of Increasing Leonardit Applications on Dry Matter Yield and Some Nutrient Elements Contents of Rye (*Secale cereale* L.) plant. Eurasian Journal of Forest Science, 6 (1): 44-51.
- Adiloğlu A, Eryılmaz Açıkgöz F, Adiloğlu S, Solmaz Y 2016. Artan Miktarlarda Akuakültür Atığı Uygulamasının Salata (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*) Bitkisinin Bazı Makro ve Mikro Bitki Besin Elementi İçerikleri Üzerine Etkisi. Tekirdağ Ziraat Fak. Dergisi, 13 (2): 96-101.
- Alam MN, Jahan MS, Ali MK, Ashraf MA, Islam MK 2007. Effect of Vermicompost and Chemical Fertilizers on Growth, Yield and Yield Components of Potato in Barind Soils of Bangladesh. J. Appl. Sci. Res., 3 (12): 1879-1888.
- Bai BA, Malakouti MJ 2007. The Effect of Different

- Organic Manures on Some Yield and Yield Quality Parameters in Onion. *Iran Soil and Water Sciences Journal*, 21 (1): 43-33.
- Celis J, Sandoval M 2010. Agricultural Potential of Salmon Wastes Used as Organic Fertilizer on Two Chilean Degraded Soils. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World 1 – 6 August, Brisbane, Australia.
- Doğru, A, Darçın ES, Tutar A, Dizman M, Koç Y 2012. Potasyum Humatın Mısır (*Zea mays* L.) Bitkisinin Büyümesi Üzerine Etkileri. *SAÜ Fen Edebiyat Dergisi* 14 (1): 83-93.
- Düzgüneş O, Kavuncu O, Kesici T, Gürbüz F 1987. Araştırma ve Deneme Metodları. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1021, Ankara.
- Edmeades D 2003. The Long Term Effects of Manures and Fertilizers on Soil Productivity and Quality: A review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 66: 165- 180.
- Kacar B, İnal A 2010. Bitki analizleri. Nobel Yayın, No: 849, 659s, Ankara.
- Karaman MR, Şahin S, Geboloğlu N, Turan M, Güneş A, Tutar A 2012. Humik Asit Uygulaması Altında Farklı Domates (*Lycopersicon esculentum* L.) Çeşitlerinin Demir Alım Etkinlikleri. *SAÜ Fen Edebiyat Dergisi* 14 (1): 301-308.
- Karaman MR, Adiloğlu A, Brohi R, Güneş A, İnal A, Kaplan M, Katkat V, Korkmaz A, Okur N, Ortaş İ, Saltalı K, Taban S, Turan M, Tüfenkçi Ş, Eraslan F, Zengin M, 2012a. Bitki Besleme. Dumat Ofset, Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti., 1080 s, Ankara.
- Le Villo M, Arruays D, Deslais W, Clegeot D, Daroussin J, Bissonnais Y 2004. Interest of the Compost as a Source of Organic Matter to Restore and Maintain Physical Properties of French Soils. Symposium No: 57, Paper No: 1529. <http://www.sfst.org>.
- Lindsay WL, Norvell WA 1978. Development of a DTPA Soil Test for Zinc, Iron, Manganese and Copper, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42: 421- 428.
- Sağlam MT, Özel EZ, Bellitürk K 2012. İki Farklı Tekstüre Sahip Yoprakta Leonardit Organik Materyalinin Mısır Bitkisinin Azot Alımına Etkisi. *SAÜ Fen Edebiyat Dergisi*, 14 (1): 383- 391.
- Sağlam MT 2012. Toprak ve Suyun Kimyasal Analiz Yöntemleri. Namık Kemal Üniversitesi, Yayın No: 2, Tekirdağ.
- Salazar FJ, Saldana RC 2007. Characterization of Manures from Fish Cage Farming in Chile. *Bioresource Technology* 98: 3322–3327.
- Stumpe H, Garz J, Schliephake W, Wittenmayer L, Merbach W 2000. Effects of Humus Content, Farmyard Manuring and Mineral N Fertilization on Yield and Soil Properties in a Long Term Trial. *J. of Plant Nutrition and Soil Science*, 163 (6): 657-662.
- Tepecik M, Ongun AR, Okur B, Bozkalfa K, Eşiyok D 2012. Farklı Organik Materyallerin Ispanak Bitkisinin (*Spinacea oleracea* L.) Bazı Besin Elementi, Kalite Öğeleri ve Verim Özellikleri Üzerine Etkisi. *SAÜ Fen Edebiyat Dergisi*, 14 (1): 243- 252.
- Tuncay H 1994. Toprak Fiziki Uygulama Kılavuzu. E. Ü. Ziraat Fakültesi Teksir No: 29, İzmir.
- Werner M 1997. Earthworm Team up with Yard Trimmings in Orchards. *Biocycle*, 38 (6): 64-65.
- Yılmaz E, Alagöz Z 2009. Organik Materyal (Elma posası) Uygulamasının Toprağın Bazı Verimlilik Özelliklerine Etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (2): 233- 250.

The Effect of Sewage Sludge Applications on the Growth of Maize (*Zea mays* L.) and Some Soil Properties

Huda Nur ÇAKIR¹, Kerim Mesut ÇİMRİN^{2*}

Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, Department of Soil Science and Plant Nutrition, 31034, Hatay/Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-4219-9663>, ²<https://orcid.org/0000-0001-5158-8412>

✉: mcimrin@hotmail.com

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the existing changes for corn yield with the changes on the soil properties after the applications of increased sewage sludge (SS 0 %, 2.5 %, 5 %, 7.5 %, 10 %). While statistically significant decreases were determined in the pH and lime contents of the experimental soil, there were also statistically significant increases for the contents of organic matter and salt of the soil by the effects of applied sewage sludge at the increased doses. The applications statistically increased corn fresh and dry root weights, fresh and dry shoot weights, plant height and diameter compared to the control in the all treatments. It can be concluded that that sewage sludge is not appropriate to use in the agricultural soils in the present form because of very high salt amounts presence in the sewage sludge although there were some positive effects on the plant and soil properties to some great extent with no determined heavy metal toxicity by the application of that sewage sludge into soil at different rates taken freshly from the biological sewage sludge foundation of district İskenderun of province Hatay.

Research Article

Article History

Received : 02.10.2019

Accepted : 19.11.2019

Keywords

Soil properties

Sewage sludge

Corn

Yield

Kentsel Arıtma Çamuru Uygulamalarının Mısır Bitkisinin (*Zea mays* L.) Gelişimi ve Bazı Toprak Özellikleri Üzerine Etkisi

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, artan arıtma çamuru (% 0, % 2.5, % 5, % 7.5, % 10) uygulamaları sonrası mısır bitkisinin verim ve deneme toprağının bazı özellikleri üzerindeki değişimler ile mısır bitkisinin, kök ve kök üstü kısımları ile bitki boyu ve çapında meydana gelen değişimleri incelemektir. Artan dozda uygulanan arıtma çamurunun etkisiyle deneme toprağının pH ve kireç içeriklerinde istatistiki açıdan önemli azalmalar belirlenirken, toprağın tuz, organik madde içeriklerinde ise istatistiki açıdan önemli artışlar meydana gelmiştir. Uygulamalar mısır bitkisinin kök yaş ve kuru ile kök üstü yaş ve kuru verimleri, bitki boyu ve bitki çapını tanığa göre tüm uygulamalarda istatistiki açıdan önemli olarak arttırmıştır. Sonuç olarak, Hatay ili İskenderun ilçesi Biyolojik arıtma tesisinden taze alınan arıtma çamurunun farklı oranlarda toprağa uygulaması ile her ne kadar bazı bitki ve toprak özelliklerine olumlu etkilerinin bulunmasına rağmen bu arıtma çamurunda bulunan çok yüksek tuz miktarları nedeniyle, bu haliyle tarım topraklarında kullanılmasının uygun olmadığı söylenebilir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 02.10.2019

Kabul Tarihi : 19.11.2019

Anahtar Kelimeler

Toprak özellikleri

Arıtma çamuru

Mısır

Verim

To Cite : Çakır HN, Çimrin KM 2020. The Effect of Sewage Sludge Applications on the Growth of Maize (*Zea mays* L.) and Some Soil Properties. KSU J. Agric Nat 23 (2): 321-327. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.565751.

INTRODUCTION

Urban sewage purification systems and municipal waste water treatment plants hold a place as a reciprocal response for sewage sludge come out. Various methods such as storing, burning, discharging to the sea and using in agricultural land are applied

for the disposal of these sewage sludge. However, most of these methods are temporary solutions, and when uncontrolled conditions return to the soil, mainly by the dynamics of the environmental conditions, the consequent risks take place for food chain resulting from the contamination of soil, groundwater and

plants. Recently, it has become more and more important to apply the sludges into agricultural land and to evaluate the soil as a source of organic matter and plant nutrients (Çimrin et al. 2000; Demir and Çimrin, 2011; Yalçın et al. 2011). When these wastes are involved into the soil in appropriate quantities and proportions under controlled conditions, there will be alternative or having sustaining effect for the commercial fertilizers resulting from the content differences (Çimrin et al. 2000; Angın and Yağanoğlu 2009; Yalçın ve ark., 2011).

The application of sewage sludge can improve the physical and chemical properties of the soil and increase its efficiency but the salt and heavy metal content of the treated sewage sludge may affect the soil and environment health negatively. Thus, different properties of the sludge originated from the different materials can alter the effects on the treated soil and the yield and their usage possibilities. The treated sludges must be analyzed and their contents determined before applying into the soil, and for this reason, it is necessary to determine the most appropriate, if necessary, doses by testing different treated sludges in different soil.

The aim of this study is to determine the effects on the plant corn grown on the agricultural soil by the application of freshly treated sewage sludge obtained from the biological municipal wastewater treatment plant of the district İskenderun of province Hatay.

MATERIALS and METHODS

Table 1. Some physical and chemical properties of soil and sludge used in the experiment

Çizelge 1. Denemede kullanılan arıtma çamuru ve toprağın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Soil properties (<i>Toprak özellikleri</i>)		Sewage sludge properties (<i>Arıtma çamuru özellikleri</i>)	
Clay, Kil (%)	62.04		
Silt, Silt (%)	25.00		
Sand, Kum (%)	12.96		
Texture, Tekstür	Killi		
pH (1:2.5 water)	7.76	pH (1:2.5 su)	6.91
Salt, Tuz (µs/cm)	967.5	Salt, Tuz (µs/cm)	21060
Lime, Kireç (%)	13.19	Lime, Kireç (%)	9.71
Organic mat.,Organik mad.(%)	1.71	Organic mat.Organik mad (%)	33.8
N, Azot (%)	0.13	N, Azot (%)	4.07
Available P, Alınabilir P (mg/kg)	12.74	Available P, Alınabilir P (mg/kg)	868.51
Exchangeable K, Değişebilir K (mg/kg)	584.0	Total K, Toplam K (mg/kg)	34800

According to the analytical data, the trial soil is clayey structure, slightly alkaline reaction, unsalted, highly calcareous, organic matter content in the middle, nitrogen and phosphorus content is sufficient, potassium content is high. The pH of the treatment sludge used in the study is slightly acidic, extremely highly salty, high in organic matter content, nitrogen and phosphorus contents are found high with very high potassium content.

The experiment was carried out as four replicates, according to the trial design of random plots, in a total

The soil used in the study is placed district of Reyhanlı in province of Hatay called as Gazimürsel hill surface soil. The sewage sludge used in the study was brought to the laboratory on the same day after putting into plastic bag freshly from the production facility of Iskenderun Municipality biological domestic wastewater treatment plant. Soil and sludge brought to the laboratory were first used after air drying under shade. In the study, Pioneer 1570 summer hybrid seed of plant corn (*Zea mays* L.) with 99 % germination rate was used as plant material.

According to Jackson (1958) the textures were prepared for the analysis and determined according to Bouyoucous (1951), in soil and sludge the reaction was 1: 2.5 in soil / water suspension Jackson (1958), total salt 1: 2.5 soil / water suspension in Richards (1954) with the electric conductivity meter lime with Scheibler calcimeters (Hızalan and Ünal, 1966), organic matter modified Walkley Black method (Walkley and Black, 1934), total nitrogen Bremner (1965), available phosphorus by sodium bicarbonate method (Olsen et al., 1954), the coloring was determined in blue and the sludge samples and colored with Barton yellow color method (Kacar, 1984). Exchangeable potassium in soil and sewage sludge by shaking of 1 N ammonium acetate (Thomas 1982) and the extracts were determined by microwave plasm (MPAES) atomic emission spectrophotometer (Table 1).

of 20 pots at five different sludge doses, as a pot experiment at Mustafa Kemal University greenhouses. On the basis of the weight principle, fresh sewage sludge was removed from the biological domestic wastewater treatment plant in Iskenderun Municipality and air-dried, at doses of 0%, 2.5%, 5%, 7.5% and 10%. Accordingly, the trial subjects used in this study were generated as follows.

- 1- SS₀ :(% 100 Soil) (Control)
- 2- SS_{2.5} :(% 97.5 Soil + % 2.5 Sewage Sludge)
- 3- SS₅ :(% 95 Soil + % 5 Sewage Sludge)

- 4- SS_{7.5} :(% 92.5 Soil + % 7.5 Sewage Sludge)
5- SS₁₀ :(% 90 Soil + % 10 Sewage Sludge)

After adding air-dried sewage sludges to the experimental soil, it was allowed to incubate for approximately 50 days by irrigating with pure water. After the incubation period of eight seeds were sown in the pots and irrigated with distilled water. On the 3rd day of sowing, the first germination was observed and germination was completed on the 8th day and four plants were left in the each pot. Basic dressings was applied to each pot in the form of 100 mg kg⁻¹ N, 40 mg kg⁻¹ P and 40 mg kg⁻¹ K in 18+18+18 fertilizers. During the experiment, the plants were irrigated with pure water and the experiment was terminated on the forty-eighth day after seed sowing. The data obtained from the study was subjected to analysis of variance using the SPSS-22 statistical package program, significant effects on the average present application are grouped according to Duncan's multiple range test.

RESULTS and DISCUSSION

Effects of sewage sludge on some physical and chemical properties of soil after the harvest

The effects of soil (pH) on the pH, salt, lime and organic matter content of the treated sewage sludge applied to experimental soils with the subsequent statistical evaluations are given in Table 2. As can be seen from the analysis of the table, the effects of soil sewage sludge treatments on pH, total salt, lime and organic matter contents were found to be significant (P < 0.01). While the soil's average pH and lime content showed a linear gradual decrease by the effect of the treatment sewage sludge applied to the soil in the gradually increasing doses, a linear gradual increase was observed in the mean salt and organic matter contents of the soil. The highest value measured in average pH values with the application of increased sewage sludge was found in the control application (SS₀) in which the treatment sludge was not applied with 7.81, followed by an SS₅ dose of 7.80 to SS_{2.5} and 7.74, and these three applications were included in the same Duncan group. The applications of SS_{7.5} and SS₁₀ were taken into different Duncan groups by taking pH values of 7.63 and 7.25, respectively (Table 2). Different results were found in the studies conducted in different places related to the subject. For example, Bozkurt et al. (2001) reported that the effect of increasing sludge doses on soil pH was not significant as a nitrogen source in winter barley. Snyman et al. (1998) reported that the effects of treatment sludge on the pH of soil are significant. This could be explained by the difference in the physical and chemical properties of the different sewage sludge and treated soil.

With increasing amounts of soil treatment sludge applications, a linear increase has occurred in the average salt content of the soil. The salt content of SS₀, SS_{2.5}, SS₅ and SS_{7.5} applications to soil were

determined as 596.00, 655.25, 721.38 and 924.13 µS/cm respectively and all of them were in the same Duncan group. However, the salt content of the soil applied by sewage sludge at the highest rate was SS₁₀ 2555.00 µS / cm, and was determined as a different group from all others where the salt level reached to the highest average value in the Duncan test (Table 2).

Significant decreases in the lime content of the soil were determined by increasing Sewage sludge applications in soil. The highest content of lime without sewage sludge treatment was determined as 12.86 % by SS₀ treatment being in the same Duncan group with in 12.62 % by SS_{2.5} treatment followed by 12.54% by SS₅, 11.96% by SS_{7.5} and 11.22% by SS₁₀ ones as percentage values in the order of linearly decreasing direction. However the reverse was the case for the organic matter contents starting with 1.78% as the lowest value up to the highest value of 2.92% in the order of gradually increasing direction by the treatments in the same order (Table 2). That is consistent with findings of many researchers of soil organic matter increase by sewage sludge treatment (Mantovi et al., 2005; Demir & Çimrin, 2011). On the other hand, sewage sludge applications resulted in similar trends in many studies in terms of increasing the salt and organic matter content of the soil but reducing the content of pH and lime (Unal and Katkat, 2003; Angin and Yaganoglu, 2009; Çiçek et al. 2013).

Application of Corn Yield and Plant Height and Diameter Effects:

Increasing sewage sludge treatment to the soils affected significantly fresh root and shoot and, dry shoot weight at P < 0.001, while on the root dry weights at P < 0.01 level was statistically significant.

When the effect of sewage sludge on fresh root and shoot weights was examined, it was observed that all applications increased the yield gradually according to the witness but there were statistically insignificant decrements in the increases in question starting by SS_{7.5} treatment for fresh root weight but the statistically significant decrease for dry root weight by SS₁₀ treatment. Nevertheless, statistically significant yield decrease for fresh and dry shoot weights were determined by the SS₁₀ treatment but statistically insignificant decrease started by SS₅ treatment for dry shoot weight (Table 3). That indicates the changing toxicity effect starting point of treatments independent from each other to decrease yield.

Fresh root weights of corn plants obtained from witness application (SS₀) with the lowest yield value of 6.98 g increased statistically significantly with increasing doses by SS_{2.5} as the value of 9.42 g and by SS₅ as the value of 11.30 g but insignificant decreases were determined in the increases in question at the following doses by SS_{7.5} treatment as the value of 10.90 g and SS₁₀ treatment as the value of 9.42 g. (Table 3).

Table 2. Mean values of soil, pH, salt, lime and organic matter contents of sewage sludge applications and Fcan with Duncan groups showing the difference between standard errors and averages

Çizelge 2. Arıtma çamuru uygulamalarının toprağın pH, tuz, kireç ve organik madde içeriklerine ait ortalama değerleri ile standart hataları ve ortalamalar arasındaki farkı gösteren Duncan grupları ile önem düzeyleri

Treatment, Uygulamalar	pH	Salt, Tuz (µS/cm)	Lime, Kireç (%)	Organic matter, Organik mad. (%)
Sewage Sludge (Arıtma çamuru (SS, %))				
SS ₀	7.81±0.01 a	596.00± 53.18 b	12.86±0.29 a	1.78±0.06 c
SS _{2.5}	7.80±0.02 a	655.25±106.14 b	12.62±0.14 a	2.32±0.06 b
SS ₅	7.74±0.03 a	721.38± 33.78 b	12.54±0.08 ab	2.43±0.07 b
SS _{7.5}	7.63±0.06 b	924.13± 68.88 b	11.96±0.16 b	2.90±0.05 a
SS ₁₀	7.25±0.03 c	2555.00±265.82 a	11.22±0.22 c	2.92±0.08 a
F values	45.05***	37.82***	11.46***	50.08***

a, b, c: the difference between the values shown in the same letter (P> 0.05)

*** With the F values were significant at the level of 0.1%

Table 3. Treatment of sludge treatment corn plant root and shoot fresh and dry weight of the average values with standard errors and Duncan group and F values indicating the difference between the averages.

Çizelge 3. Arıtma çamuru uygulamalarının mısır bitkisinin kök ve sürgün taze ve kuru, ağırlıklarına ait ortalama değerleri ile standart hataları ve ortalamalar arasındaki farkı gösteren Duncan grupları ile önem düzeyleri

Treatment, Sewage sludge, Arıtma çamuru (SS)	Fresh root Weight, Taze kök ağırlığı (g/plant)	Dry root Weight, Kuru kök ağırlığı (g/plant)	Fresh shoot Weight, Taze sürgün ağırlığı (g/plant)	Dry shoot Weigh, Kuru sürgün ağırlığı (g/plant)
SS ₀	6.98±0.56 b	0.87±0.07 c	19.55±1.34 c	2.89±0.22 c
SS _{2.5}	9.42±0.43 a	1.09±0.04 a	41.18±0.96 ab	4.86±0.12 a
SS ₅	11.30±0.77 a	1.22±0.04 a	42.12±3.58 ab	4.64±0.35 a
SS _{7.5}	10.90±0.78 a	1.06±0.09 ab	45.46±2.05 a	4.60±0.28 a
SS ₁₀	9.42±0.28 a	0.88±0.02 bc	38.02±1.46 b	3.80±0.14 b
F Values	7.96***	6.10**	23.93***	11.54***

a, b, c: the difference between the values shown in the same letter (P> 0.05)

The F values indicated by ** and *** are significant at 1% and 0.1%, respectively.

When the Duncan test was carried out, the SS₀ treatment of fresh root weights were in a group while all others were in a different group of Duncan (Table 3). Corn plant root dry weight of 0.87 g was minimum for treatment of SS₀. However, SS_{2.5} and SS₅ treatments increased the dry root weights but SS_{7.5} and SS₁₀ treatments resulted in the decrements in the yield increases obtained. Duncan analysis showed that the root dry weight were also create a situation similar to the fresh root weight (Table 3). When the effects of sewage sludge on various plants are examined in different studies, similar results have been reported in many studies. For example, Çimrin et al. (2000), Triple Super Phosphate and sewage sludge combinations as a source of phosphorus to a soil application resulted in the significant increase for plant dry weight compared to the control application. It was reported by Önal et al. (2003) in the study called as the effect of urban sludge applied to soil in tomato plants that plant growth, improvement of fruit properties and fruit mineral content, dry matter weight and yield values increased by increasing amount of applied sludge

doses. On the other hand, in some studies, the effects of treatment sludge on root age and dry weight were significant, while in others it was insignificant. For example, Bozkurt et al. (2000) applied a increasing dose of sludge and a single dose of humic acid to the maize plant grown in calcareous soil. They reported that the root dry weight of corn plant increased with increased sludge applications. Turkmen et al. (2001) in their study on the effect of urban sewage sludge on cucumber output and seedling development, reported that applications have a positive effect on root age and root dry weights. Demir and Çimrin (2011) by sludge and humic acid application on development of corn development of corn reported that nutrient and heavy metal contents with some soil of sludge applied at increasing doses resulted significant increase in fresh and dry root weight. Akat et al. (2017), the effect of sludge treatment on root growth weight, plant growth, flowering and quality in cut rose cultivation were not found to be statistically significant, while the effect on root dry weight was found to be statistically significant.

When the effect of the treatment of sewage sludge on fresh shoot weights is evaluated, it can be seen that according to the witness, all applications increase the weight of fresh shoots but the fresh shoot weights decrease after the application of 7.5% Sewage sludge treatment (Table 3). While the corn plant is obtained from the control application (SS₀) with the lowest fresh shoot weight value of 19.55 g, fresh shoot weights increased by increasing doses linearly by SS_{2.5} treatment as the yield value of 41.18 g by the SS₅ treatment as the yield value of 42.12 g and by SS_{7.5} treatment as the yield value of 45.46 g by the increasing doses but decreased as the yield value of 38.02 g at the last increased dose of SS₁₀ treatment. In the Duncan analysis, the witness (SS₀), who had no treatment of Sewage sludge was in a separate group while the others were in a different group of Duncan. When the dry weight of the shoots in Table 3 is evaluated, all applications according to the control (witness) have increased the dry weight of the shoots, similar to the fresh shoot weights. However, as different from the fresh shoot weights, it is seen that root dry weights decrease after application of 2.5% sewage sludge (Table 3). In the Duncan analysis, a total of three groups were formed, the witness (SS₀) and the highest treatment sludge applications (SS₁₀) were formed in two different groups while all other applications (SS_{2.5}, SS₅ and SS_{7.5}) were included in the same Duncan group. While the dry shoots of corn plants were obtained from the witness application (SS₀) as the lowest value of 2.89 g, the doses lead to

increase to the value of 4.86 g at the dose of SS_{2.5} that after that increase the declines in the increase took place for the other treatments and after that increased compared to the other doses (SS₅, 4.64 g; SS_{7.5}, 4.60 g and SS₁₀, 3.80 g) (Table 3). Similar results have been reported by many researchers studying with different plant and sewage sludge (Bozkurt et al 2000; Çimrin et al 2000; Demir ve Çimrin 2011; Akat et al 2015; Akat et al 2017).

On the other hand, it is seen that sewage sludge applications develop the upper ground component rather than underground part of the plant. This can be attributed to the advantage of adding some nutrients to the soil by the treatment sludge, by adding salt and heavy metals to the soil, which in turn leads to the comparable loss yield in the underground part. As a matter of fact, Çimrin et al. (2000), despite the increase in the concentration of available phosphorus in the soil by treatment Sewage sludge applications, the plant's phosphorus need was not provided with sewage sludge reported. In summary, the study showed that while the sludge and TSP combinations and 80 mg / kg sludge applications significantly increased the phosphorus content of the corn plant according to the witness but the content decreased as the amount of treatment sludge increased.

Variance analysis results of the effects of increasing sewage sludge applications on plant height and plant diameter of maize plant are given in Table 4.

Table 4. Treatment of sewage sludge on corn plant height and diameter values of the mean values with standard errors and Duncan group and F values indicating the difference between means

Çizelge 4. Aritma çamuru uygulamalarının mısır bitkisi bitki boy ve çap ortalama değerlerinin standart hataları ve ortalamalar arasındaki farkı gösteren Duncan grupları ile önem düzeyleri

Treatment (Uygulamalar)	Plant height (Bitki boyu (cm))	Plant diameter (Bitki çapı (mm))
Sewage sludge SS (%) (Aritma Çamuru)		
SS ₀	93.65±2.99 c	5.79±0.18 b
SS _{2.5}	110.78±1.18 a	8.16±0.12 a
SS ₅	107.62±3.79 ab	8.74±0.40 a
SS _{7.5}	108.75±1.70 a	8.73±0.26 a
SS ₁₀	100.50±1.44 bc	8.66±0.09 a
F Values	8.44***	28.14***

a, b, c: the difference between the values shown in the same letter (P> 0.05)

*** With the F values were significant at the level of 0.1%

The effect of treatment sewage sludge doses on the plant height and plant diameter of the corn plant was statistically significant at 0.1%. According to the plant height in Table 4, it is seen that all applications increase the plant height according to the witness (SS₀), but the highest plant height was obtained by 2.5% sewage sludge treatment as seen in the same Duncan group. Corn plant height was obtained from control application (SS₀) with a minimum value of 93.65 cm and increased to 110.78 cm at SS_{2.5} dose. In all other doses, slight decreases in the increase in

question were obtained compared to the control treatment (SS₅, 107.62 cm; SS_{7.5}, 108.75 cm ve SS₁₀, 100.50 cm). The corn plant was obtained from control application (SS₀) with the lowest plant diameter of 5.79 mm, while the diameter of the plant increased (SS_{2.5}, 8.16 mm; SS₅, 8.74 mm; SS_{7.5}, 8.73 mm; SS₁₀, 8.66 mm) with increasing doses compared to the control treatment. Similarly, Turkmen et al. (2001) reported the effects of urban sewage sludge with the positive effect on growth and seedling development in a study on the shoot and root size with. Demir and Çimrin

(2011) reported in a study about the development of corn plant by application of sludge and humic acid on nutrient and heavy metal contents and some soil properties that increasing the amount of applied sewage sludge increases the plant height significantly. Akat et al. (2015) studied on Limonium sinuatum compindi white flower variety as plant material on growth, yield and quality of by the treatment of sewage sludge including the length and thickness of flower stalks and it was reported that there were significant effects on control.

As a result, in the study conducted with fresh sludge from the domestic biological treatment plant in the district İskenderun of province Hatay, although the treatment sludge applications have positive effects on some plant properties, there were reverse effects such as increased salinity with decreased the pH and lime content in the soil indicate that it is not appropriate to use this treatment sludge directly in agricultural soils..

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the [Mustafa Kemal University Scientific Research Projects Coordinator] under Grant [Project Number 15880].

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Akat H, Çetinkale Demirkan G, Akat Ö, Yağmur B, Yokaş İ 2015. Effects of Sewage Sludge Applications on Plant Growth, Yield and Flower Quality of Limonium. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 52(1): 107-114.
- Akat H, Altunlu H, Çetinkale Demirkan G, Akat Ö, Saraçoğlu Ö A, Yokaş İ 2017. Effect of Sewage Sludge Application on Plant Development, Flowering and Quality of Cut Rose Cultivation. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 54(3): 327-332.
- Angın İ, Yağanoğlu AV 2009. Application of Sewage Sludge as a Soil Physical and Chemical Amendment, Ekoloji Çevre Dergisi, 19(73): 39-47.
- Aşık B B, Katkat AV 2004. Possibilities of the Usage of Food Industry Treatment Waste (sludge) for Agricultural Area Purposes. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18(2): 59-71.
- Ayvaz Z 2000. Evaluation of Sewage Sludge. Ekoloji Çevre Dergisi, 9(35): 3-12.
- Belhaj D., Elloumi N, Jerbi B, Zouari M, Abdallah FB, Ayadi H, Kallel M 2016. Effects of Sewage Sludge Fertilizer on Heavy Metal Accumulation and Consequent Responses of Sunflower (*Helianthus annuus*). Environmental Science and Pollution Research, 23(20):20168-20177.
- Bouyoucous GD 1951. A Recalibration of the Hydrometer Method for Making Mechanical Analysis of the Soil. Agronomy Journal, 43 434-438.
- Bozkurt MA, Erdal İ, Çimrin KM, Karaca S, Sağlam M 2000. Kentsel Arıtma Çamuru ve Hümik Asit Uygulamalarının Mısır Bitkisinin Besin İçeriği ve Ağır Metal Kapsamına Etkisi. Tarım Bilimleri Dergisi, 6(4): 35-43.
- Bozkurt MA, Yılmaz İ, Çimrin KM 2001. Kentsel Arıtma Çamurunun Kışlık Arpada Azot Kaynağı Olarak Kullanılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 7(1): 105-110.
- Bremner JM 1965. Total nitrogen. in. C.A. Black et al. (ed). Methods of Soil Analysis. Part 2. Agronomy 9: 1149 - 1178. Am. Soc. of Agron., Inc. Madison, Wisconsin, USA.
- Çelik A, Ünal M, Kutlu T 2009. Sera Koşullarında Arıtma Çamuru Uygulamalarının freesia spp' nin Çiçeklenme Özelliklerine Etkileri. Selçuk Üniversitesi Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 23(49): 50-54.
- Çetinkale Demirkan G, Akat H, Yokaş İ 2014. Atık Su Arıtma Çamurunun clarkia amonena (Yer Açelyası) Türünde Bitki Gelişimi ve Çiçeklenme Üzerine Etkisi. U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 28(2): 49-57.
- Çetinkale Demirkan G, Akat H, Yağmur B 2017. Farklı Atık Materyallerin Matthiola incana 'Iron Rose' Yetiştiriciliğine Etkisi. Mediterranean Agricultural Sciences, 30(3): 173-178.
- Çiçek A., Karaman MR, Turan M, Güneş A, Çiğdem A 2013. Yield and Nutrient Status of Wheat Plant (*T. Aestivum*) Influence by Municipal Wastewater Irrigation. Journal of Food, Agriculture & Environment, 11 (1); 733-737.
- Çimrin K M, Bozkurt MA, Erdal İ 2000. Kentsel Arıtma Çamurunun Tarımda Fosfor Kaynağı Olarak Kullanılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 10(1): 85-90.
- Delgado Arroyo MDM, Porcel Cots MA, Miralles De Imperial Hornedo R, Beltran Rodriguez EM, Beringola Beringola L, artin Sanchez JV 2002. Sewage Sludge Compost Fertilizer Effect on Maize Yield and Soil Heavy Metal concentration. Revista Internacional de Contaminationacion Ambiental, 18(3): 147-150.
- Demir E, Çimrin K M 2011. Arıtma Çamuru ve humik Asit Uygulamalarının Mısırın Gelişimi, Besin Elementi ve Ağır Metal İçerikleri ile Bazı Toprak Özelliklerine Etkileri. Tarım Bilimleri Dergisi, 17: 204-216.
- Düzgüneş O, Kesici T, Kavuncu O, Gürbüz F, 1987. Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik Metodları-II). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1021, Ankara, 381 s.

- Hızalan E, Ünal E 1966. Topraklarda Önemli Analizler. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 278.
- Jackson M 1958. Soil Chemical Analysis. Prentice Hall, Inc. New Jersey. USA.
- Kacar B 1984. Bitki Besleme Uygulama Kılavuzu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 900, Uygulama Kılavuzu: 214, Ankara, 140 s.
- Küçükhemek M, Gür K, Uyanöz R 2008. Toprağa Uygulanan Arıtma Çamuru, Ahır Gübresi ve Karışımlarının, Çim Bitkisinin Bazı Makro-Mikro Besin Elementleri ve Verimi Üzerine Etkisi. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 22(45): 94-104.
- Mantovi P., Baldoni G, Toderi G, Research W 2005. Reuse of Liquid, Dewatered, and Composted Sewage Sludge on Agricultural Land: Effects of Long-term Application on Soil and Crop. Water Research. 39: 289-296.
- Olsen SR, Cole V, Watanabe FS, Dean LA 1954. Estimations of Available Phosphorus in Soils by Extractions with Sodium Bicarbonate. U. S Dept. Of Agric. Cric. 939.
- Önal MK., Topçuoğlu B, Arı N 2003. Toprağa Uygulanan Kentsel Arıtma Çamurunun Domates Bitkisine Etkisi. II. Gelişme ve Meyve Özellikleri ile Meyvede Mineral İçerikleri. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(1): 97-106.
- Özyazıcı MA, Özyazıcı G 2012. Arıtma Çamurunun Toprağın Bazı Temel Verimlilik Parametreleri Üzerine Etkileri. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 27(2): 101-109.
- Özyazıcı MA, Özyazıcı G, Bayraklı B 2012. Arıtma Çamuru Uygulamalarının Toprağın Ekstrakte Edilebilir Demir, Bakır, Çinko ve Mangan Kapsamı Üzerine Etkileri. Toprak Su Dergisi, 1(2): 110-118.
- Richards LA 1954. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkaline Soils. Handbook: 60, U. S. Dept. of Agriculture.
- Scancar J, Milacic R, Strazar M, Burica O 2000. Total Metal Concentrations and Partitioning of Cd, Cr, Cu, Fe, Ni and Zn in Sewage Sludge. Science of The Total Environment, 250(1-3): 9-19.
- Snyman HG, De Jong JM, Aveling TAS 1998. The stabilization of sewage sludge applied to agricultural land and the effects on maize seedlings. Wat. Sci. Tech., 38(2): 87-95.
- Thomas GW 1982. Exchangeable Cations. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy Monography. No: 9, A.S.A.-S.S.S.A., Madison, Winconsin. USA. P. 159-165.
- Türkmen Ö., Şensoy S, Çırka M 2001. Kentsel Arıtma Çamurunun Hıyarda Çıkış ve Fide Gelişimi Üzerine Etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 11(1): 1-4.
- Ünal M., Katkat AV 2003. Bisküvi ve Şekerleme Sanayi Arıtma Çamurunun Toprak Özelliklerine ve Mısır Bitkisinin Kimi mineral Madde İçeriği üzerine Etkileri. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 17(1): 107-118.
- Walkley A, Black LA 1934. An Examination of the Degtjareff Method for Determining Soil Organic Matter and a Proposed Modification of the Chromic Acid titration Method. Soil Sci., 37: 29-38.
- Yalçın G, Yavuz R, Taşpınar K, Yılmaz M, Ateş Ö 2010. Eskişehir Atık Su Arıtma Tesislerinden Çıkan Çamurların Farklı Münavebe Sistemlerinde Kullanılması. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Temmuz-2010, s:43.
- Yalçın G, Yavuz R, Yılmaz M, Taşpınar K, Ateş Ö 2011. Arıtma Çamurlarının Tarım Alanlarında Değerlendirilmesi. Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi, Sigma 3: 156-164.

The Effects of Sewage Sludge Application Doses and Times on Extractable Metal Concentrations in a Calcareous Pasture Soil

Mehmet Ali BOZKURT^{1*}, Hakkı AKDENİZ², Bilal KESKİN³

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Van, ^{2,3}Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Iğdır, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-3923-857X>, ²<https://orcid.org/0000-0001-5806-5710>, ³<https://orcid.org/0000-0001-6826-9768>

✉: malibozkurt@hotmail.com

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of the increasing doses of sewage sludge and different application times on DTPA (diethylenetriaminepentaacetic acid) extractable nutrients and heavy metal concentration in calcareous soil for three years. For this purpose, sewage sludge was applied at different rates (0, 4.1, 8.2, 16.4 t ha⁻¹) and periods (spring and autumn) to meet the nitrogen fertilizer requirement of grass-legume mixtures. Experiment results showed that cumulative sludge applications significantly increased DTPA extractable metal concentrations for 0-20 cm. Sludge application in spring period reduced the soil pH and increased the extractable metal concentrations compared to the autumn. Sludge application doses increased DTPA-Zn concentration for all soil depths and years. At the end of the experiment, it was determined that the heavy metal contents in the soil did not reach the levels that would have a negative effect on plant production. The fact that Van soil is rich in lime and alkaline pH of the soil, where the experiment was carried out, caused the solubility of heavy metals from sewage sludge to be low and toxic effect not to be seen. However, long-term sludge application should be followed in soil.

Research Article

Article History

Received : 24.09.2019

Accepted : 28.11.2019

Keywords

Application timing

Biosolid

DTPA

Heavy metals

Soil depth

Kireçli Bir Mera Toprağında Arıtma Çamuru Dozlarının ve Uygulama Zamanının Ekstrakte Edilebilir Metal Konsantrasyonuna Etkisi

ÖZET

Bu çalışmanın amacı artan oranlarda arıtma çamuru dozlarının ve uygulama zamanının üç yıl süreyle kireçli bir toprakta DTPA (diethylenetriamin penta asetik asit) ile ekstrakte edilebilir besin elementi ve ağır metal konsantrasyonuna etkisini belirlemektir. Bu amaçla, mera karışımının azotlu gübre ihtiyacını karşılamak için arıtma çamuru farklı oranlarda (0, 4.1, 8.2 ve 16.4 ton ha⁻¹) ve dönemlerde (ilkbahar ve sonbahar) uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, artan çamur uygulamaları 0-20 cm derinlikte DTPA ile ekstrakte edilebilir metal konsantrasyonunu önemli düzeyde artırmıştır. Sonbahara göre ilkbahar dönemi çamur uygulaması toprak pH'sını azaltmış ve ekstrakte edilebilir metal konsantrasyonlarını artırmıştır. Artan arıtma çamuru dozları ile DTPA Zn konsantrasyonu tüm toprak derinliklerinde her iki yıl artmıştır. Deneme sonunda, toprakta belirlenen ağır metal içeriklerinin bitkisel üretim açısından olumsuz etki oluşturacak düzeylere ulaşmadığı belirlenmiştir. Denemenin yürütüldüğü Van yöresi topraklarının yüksek kireç ve alkaline pH'ya sahip olması çamurdan gelen ağır metallerin çözünürlüğünün düşük olmasına ve toksik etki görülmemesine neden olmuştur. Buna rağmen, mera topraklarında uzun dönem çamur uygulamalarının etkisi takip edilmelidir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 24.09.2019

Kabul Tarihi : 28.11.2019

Anahtar Kelimeler

Uygulama zamanı

Arıtma çamuru

DTPA

Ağır metal

Toprak derinliği

INTRODUCTION

Sewage sludge is the residue product of wastewater treatment and has been used in agriculture for many years as a fertilizer. This organic waste is typically rich in organic matter and contains high level nitrogen, phosphorus, potassium and micronutrients that are required for plant growth. Sewage sludge, also known biosolid, can be used to improve the growth and nutritional quality of crops and forage grasses while reducing the need for chemical fertilizer (Sharma et al., 2017; Mohamed et al., 2018; Neves et al., 2018). Moreover, sludge application to agriculture lands can increase water holding capacity, decrease bulk density, stimulate aeration and root penetrability and increase soil microorganism activity (Kukul et al. 2012; Wolna-Maruwka et al., 2018). However, one concern on application of sewage sludge is its relatively high heavy metal contents, which can potentially cause soil pollution and negative effect on plant growth.

Heavy metals in sewage sludge may limit the use of sewage sludge as a soil amendment. Rigueiro-Rodriguez et al. (2012) observed that fertilization with sewage sludge increased the total Zn in the soil over time but never exceeded the limit values and did not cause harmful effects in the grassland. Wolejko et al. (2015) stated that municipal sewage sludge application did not significantly affect the content of heavy metals both in the grass and in the soil. Malinowska (2016) reported that the highest application of sewage sludge resulted in the highest concentration of Zn, Cu and Cd in the grass while the highest concentration of Ni and Pb was in the soil. Because of the presence of both beneficial (nutrient and organic matter) and nonbeneficial (heavy metal and soluble salts) components in sewage sludge, it is necessary to systematically study the impacts of sewage sludge application on plant growth and on the soil physical and chemical properties to arrange sewage sludge dose.

Although much research has been done on the beneficial and harmful effects of sludge application doses, there has not been enough research on the time of sludge application. The time of sewage sludge application is very important because, if the sewage sludge is applied in autumn, nutrients can be leached as the plant roots are not able to absorb them because of the low temperatures. However, if applied too late, nutrient use is delayed and the grown season could be shortened. When the mineralization process of the sewage sludge is taken into consideration, it is difficult to determine the optimum application time (Rigueiro-Rodriguez et al., 2010). Sorensen and Rubaek (2012) compared the effect of manure application timing and soil texture on the nutrient leaching. According to experiment results, it is determined that solid manure should not be applied to winter wheat on sandy and

sandy loam soils under irrigated conditions.

The objective of this study was to determine the effect of sewage sludge doses and application times on DTPA extractable nutrient and heavy metal concentrations in calcareous pasture soil for three years.

MATERIAL and METHODS

The experiment was conducted on grass-legume mixtures in Van Turkey, 1725 m above sea level, during 2004-2007. Rainfall and mean temperature in area is around 380 mm and 8.8 °C. Annual total rainfall and average temperature during the 3 years experimental period (2004-2006) were 426 mm, 337 mm, 427 mm and 9.5 °C, 9.9 °C, 10.0 °C, respectively (Anonymous, 2019).

The sludge used in this experiment was obtained from Van Municipality Wastewater Treatment Plant. Aerobically stabilized sewage sludge was dried in holding pools. In this process, organic matter in the sludge decomposes and pathogen microorganisms reduce. As a mean 3 years, physico-chemical properties of soil and sewage sludge used in this experiment are given at Table 1. Field experiment was conducted using split plot design with 4 replications. Main plot was determined by application times (spring and autumn) and sub-plot was determined by sludge doses (0, 4.1, 8.2, 16.4 t ha⁻¹) and nitrogen fertilizer application (60 kg N ha⁻¹). Experimental plot was 1.8X5 m= 9 m² in size. Grass-legume mixtures was sown 6 May 2004 with 30 cm row space.

There were five application rates and two application times (spring and autumn) in the experiment design. Five application rates:

1. Control
2. Chemical nitrogen fertilizer: 60 kg N ha⁻¹
3. Sludge₁: 4.1 t sewage sludge ha⁻¹
4. Sludge₂: 8.2 t sewage sludge ha⁻¹
5. Sludge₃: 16.4 t sewage sludge ha⁻¹

Cumulative sludge rates (3 years) were 12.3, 24.6 and 49.2 t ha⁻¹. Sludge applications were made for three years (2004-2006) and soil samples were taken in the last two years of experiment (2005-2007). Soil samples were taken from the various depths (0-20 cm, 20-40 cm, 40-60 cm) and about 6 months after sludge application. The last soil samples at the experiment were taken in April 2007. The annual nitrogen requirement of grass-legume mixtures was accepted as 60 kg N ha⁻¹. Sludge doses were determined to be half, full and double of the plant nitrogen requirement. It was accepted that about 30-35 % of the total nitrogen in the sludge was available in the first year (Cogger et al., 2001). Nitrogen fertilizer was applied only in the spring season and in the form of ammonium sulphate for both application times. Triple superphosphate at 80 kg P₂O₅ ha⁻¹ was applied to control and nitrogen fertilizer plots. Sewage sludge was mixed in the early

spring with a shovel to a depth about 20 cm before sowing. The other sludge applications were made on surface soil and mixed with a hand hoe. The spring

applications of the sewage sludge were carried out in April, and the autumn applications were carried out in September.

Table 1. Some characteristics of soil and sewage sludge used in experiment (dry weight basis)
Çizelge 1. Denemede kullanılan toprak ve çamurun bazı özellikleri (kuru ağırlık esasına göre)

Properties	Soil	Sewage Sludge	Permitted values for sewage sludge (Anonymous, 2005)
Texture	Sandy clay loam		
CaCO ₃ , %	15.7		
EC, mS cm ⁻¹	0.270	4.74	
pH, 1:2.5	8.77	6.97	
Organic Matter, %	1.58	51.4	
Total N, %	0.105	2.20	
Total P, %		0.45	
Total K, %		0.49	
Olsen P, mg kg ⁻¹	9.0		
Extractable K, mg kg ⁻¹	300		
DTPA Fe, mg kg ⁻¹	3.30		
DTPA Mn, mg kg ⁻¹	5.80		
DTPA Zn, mg kg ⁻¹	0.27		
DTPA Cu, mg kg ⁻¹	1.10		
Total Fe, %		0.96	
Total Mn, mg kg ⁻¹		427	
Total Zn, mg kg ⁻¹		795	4000
Total Cu, mg kg ⁻¹		84	1750
Total Cd, mg kg ⁻¹		1.37	40
Total Cr, mg kg ⁻¹		130	1200
Total Pb, mg kg ⁻¹		47	1200
Total Ni, mg kg ⁻¹		100	400

In the soil of the experiment area, texture was determined using the hydrometer method for making particle size analysis. Soil pH was determined in a 1:2.5 soil-water suspension. Organic matter was analyzed colorimetrically with the modified Walkley Black method. Calcium carbonate was measured with calcimeter. Extractable K was measured by atomic absorption spectroscopy (AAS) with using ammonium acetate extraction. Total N was measured by the Kjeldahl method and available P was determined by the Olsen procedure for calcareous soil. DTPA (diethylenetriaminepentaacetic acid) extractable Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cd, Cr and Ni were extracted using a solution (pH=7.3) containing 0.005 DTPA, 0.1 M TEA and 0.01 M CaCl₂ with 2 hours shaking time using AAS. Total heavy metals in soil and sewage sludge were determined using flame atomic absorption spectroscopy following extraction by nitric-hydrochloric acid digestion (Kacar, 1994; Khan and Frankland, 1983).

Statistical analysis was performed by using the analysis of variance procedure for each year. If the F-value indicated significant differences (P<0.05), means compared using Duncan's multiple range test (Gomez and Gomez, 1984).

RESULTS

Effects of Sewage Sludge Application Doses

The effects of sludge application doses on the soil pH, DTPA extractable nutrient and heavy metal concentrations for different soil depths are given in Table 2 and Table 3. Soil pH is very important factor determining directly about the possibility of plant growth, nutrients and heavy metals uptake and biological processes. The increasing sewage sludge applications slightly decreased the soil pH for all depths. The soil pH changed from 8.85 to 8.75 in sludge doses for 0-20 cm soil depth. But, this change is not important statistically. Changes on the soil pH was smaller for 20-60 cm depth. The greater pH as soil depth increases is due to a calcareous soil horizon.

While DTPA extractable Mn concentration did not show any significant change in the second year of experiment, it increased significantly with the addition of sewage sludge for 0-20 cm soil depth in the third year. The highest Mn concentration was obtained at the application dose of sludge₁ for 0-20 cm. For other soil depths, the effects of sludge application was not significant (Table 2 and Table 3). DTPA extractable Fe concentration increased significantly with sewage sludge application for 0-20 cm depth in the third year.

Table 2. Effect of different sewage sludge doses on the DTPA extractable nutrient and heavy metal concentrations (mg kg⁻¹) for 0-60 cm soil depth in the second year of experiment

Çizelge 2. Denemenin ikinci yılında 0-60 cm toprak derinliği için DTPA ile ekstrakte edilebilir besin elementi ve ağır metal konsantrasyonlarına farklı çamur dozlarının etkisi

Depth	Treatment	Mn	Zn	Cu	Pb	Cd	Cr
0-20 cm	Control	3.85	0.18 c	0.92	0.40	0.028 b	0.020
	Nitrogen fertilizer	4.01	0.17 c	0.90	0.40	0.027 b	0.020
	Sludge ₁	4.17	0.35 b	1.02	0.45	0.036 a	0.020
	Sludge ₂	4.16	0.45 b	0.94	0.40	0.033 ab	0.020
	Sludge ₃	4.51	0.92 a	1.00	0.46	0.039 a	0.021
F value		ns	68.3***	ns	ns	6.0**	ns
20-40 cm	Control	4.26	0.16 b	0.96	0.39	0.028	0.023
	Nitrogen fertilizer	4.05	0.15 b	0.90	0.42	0.027	0.019
	Sludge ₁	4.26	0.22 b	0.99	0.45	0.027	0.019
	Sludge ₂	3.78	0.23 b	0.84	0.36	0.030	0.021
	Sludge ₃	4.31	0.34 a	0.89	0.37	0.030	0.021
F value		ns	7.1***	ns	ns	Ns	ns
40-60 cm	Control	4.24	0.15 b	0.96	0.38	0.027	0.021
	Nitrogen fertilizer	3.76	0.13 b	0.89	0.40	0.028	0.019
	Sludge ₁	3.84	0.15 b	0.97	0.41	0.030	0.020
	Sludge ₂	3.72	0.15 b	0.79	0.38	0.029	0.021
	Sludge ₃	3.84	0.22 a	0.84	0.39	0.030	0.021
F value		ns	5.3**	Ns	ns	Ns	ns

Sludge₁: 4.1 t ha⁻¹, Sludge₂: 8.2 t ha⁻¹, Sludge₃: 16.4 t ha⁻¹, **: P<0.01, ***:P<0.001, ns: not significant. Means followed by the same letter within the same column and depth are not statistically different (Duncan test, P<0.05)

Table 3. Effects of different sewage sludge doses on soil pH, DTPA extractable nutrient and heavy metal concentrations (mg kg⁻¹) for 0-60 cm soil depth in the third year of experiment

Çizelge 3. Denemenin üçüncü yılında 0-60 cm toprak derinliği için PH, DTPA ile ekstrakte edilebilir besin elementi ve ağır metal konsantrasyonlarına farklı çamur dozlarının etkisi

Depth	Treatment	Soil pH	Mn	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd	Cr	Ni
0-20 cm	Control	8.85	6.59 c	2.97 c	0.30 d	1.15 b	0.50 b	0.018 b	0.027	0.31 b
	Nitrogen fertilizer	8.83	7.24 bc	2.60 c	0.31 d	1.14 b	0.47 b	0.017 b	0.029	0.32 b
	Sludge ₁	8.81	8.76 a	3.80 b	1.06 c	1.38 a	0.67 a	0.019ab	0.031	0.47 a
	Sludge ₂	8.75	7.96 ab	4.43ab	1.93 b	1.26ab	0.65 a	0.020ab	0.028	0.44 a
	Sludge ₃	8.77	7.66abc	4.51 a	2.68 a	1.34 a	0.70 a	0.022 a	0.028	0.38ab
F value		ns	14.7***	14.7***	72.5***	3.83*	12.8***	3.59*	ns	3.23*
20-40 cm	Control	8.96	6.23	2.81	0.26 c	1.15	0.44 b	0.018	0.028	0.32
	Nitrogen fertilizer	8.89	6.43	2.65	0.27 c	1.10	0.42 b	0.017	0.030	0.34
	Sludge ₁	8.88	7.68	2.91	0.36 b	1.38	0.56 a	0.017	0.027	0.44
	Sludge ₂	8.93	6.40	2.72	0.47 a	1.18	0.47ab	0.018	0.029	0.37
	Sludge ₃	8.88	5.95	2.79	0.49 a	1.15	0.51ab	0.019	0.030	0.39
F value		ns	ns	ns	11.7***	Ns	3.15*	ns	ns	ns
40-60 cm	Control	8.99	6.03	2.98	0.21 c	1.13	0.49 b	0.018	0.030	0.35
	Nitrogen fertilizer	8.92	4.38	2.84	0.21 c	0.97	0.45 b	0.016	0.032	0.33
	Sludge ₁	8.95	6.80	2.84	0.29ab	1.32	0.57 a	0.019	0.031	0.35
	Sludge ₂	8.96	4.80	2.57	0.26bc	1.04	0.50 b	0.018	0.027	0.32
	Sludge ₃	8.96	5.03	2.58	0.31 a	1.05	0.50 b	0.019	0.027	0.38
F value		ns	ns	ns	7.4***	ns	3.32*	ns	ns	ns

Sludge₁: 4.1 t ha⁻¹, Sludge₂: 8.2 t ha⁻¹, Sludge₃: 16.4 t ha⁻¹, *: P<0.05, ***:P<0.001, ns: not significant. Means followed by the same letter within the same column and depth are not statistically different (Duncan test, P<0.05)

Extractable Fe concentration increased from 2.97 mg kg⁻¹ to 4.51 mg kg⁻¹ at the highest sludge application

dose for 0-20 cm (Table 3).

Among extractable metals, the most notable changes

were observed in Zn concentration. Sewage sludge doses increased significantly DTPA-Zn for all depths and years. The most important increases on the DTPA-Zn were obtained for 0-20 cm depth in third year. DTPA-Zn increased significantly from 0.30 mg kg⁻¹ to 2.68 mg kg⁻¹ for 0-20 cm at the highest sludge dose. The highest sludge application showed 9 fold increase in DTPA-Zn (Table 3).

Sewage sludge application doses did not cause a significant change in DTPA-Cu concentration for all depths in the second year. However, increasing sludge doses increased significantly DTPA-Cu for 0-20 cm in the end of experiment. Extractable Cu concentration increased from 1.15 mg kg⁻¹ to 1.34 mg kg⁻¹ at the sludge₁ dose (Table 2 and Table 3). While DTPA-Pb concentration did not show any significant change in the second year of experiment, it increased significantly with the addition of sewage sludge for all depths in the third year. Extractable Pb concentration at the highest sludge dose increased significantly from 0.50 mg kg⁻¹ to 0.70 mg kg⁻¹ for 0-20 cm soil depth (Table 3).

DTPA extractable Cd concentration increased significantly from 0.028 mg kg⁻¹ to 0.039 mg kg⁻¹ in the second year and from 0.018 mg kg⁻¹ to 0.022 mg kg⁻¹ in the third year with increasing sludge doses for 0-20 cm depth, respectively. For 20-60 cm soil depths, sewage sludge applications did not cause a significant change in DTPA-Cd (Table 2 and Table 3). Also, sludge applications did not affect DTPA extractable Cr concentration for all depths and years. DTPA-Ni concentration increased significantly with the addition of sewage sludge for 0-20 cm in the end of experiment. The highest DTPA-Ni was obtained at the sludge₁ dose. For other soil depths, the effect of sludge

application was not significant (Table 3). Soil pH and DTPA-Fe and Ni concentrations were determined only in the last year of experiment.

Effects of Sewage Sludge Application Time

The effect of sewage sludge application time on the soil pH, DTPA extractable nutrient and heavy metal concentrations for different soil depths are given in Table 4 and Table 5. The effect of sludge application time on the soil pH was found to be important for all depths after three years of sludge application. Sludge application in the spring period resulted in lower soil pH than in the autumn period for all depths in the end of experiment. Soil pH, which determined as 8.70 sludge application in the spring period, rose to 8.90 in the autumn period (Table 5).

The effect of sludge application time on the DTPA extractable Mn concentration was not statistically significant for all soil depths in the second year of experiment. However, this effect was important significantly for 0-20 cm in the third year. DTPA-Mn concentration increased significantly to 8.14 mg kg⁻¹ with sewage sludge application in the spring period (Table 4 and Table 5).

The effect of sludge application time on the DTPA-Fe concentration was important for 0-20 cm depth. In the spring period, DTPA-Fe concentration was found to be significantly higher than the application of the sludge in the autumn. Extractable Fe concentration increased to 4.07 mg kg⁻¹ with sewage sludge application in the spring period. Effect of dose × time interaction was found to be significant for 0-20 cm. The effect of application time on the DTPA-Fe was not significant for 20-60 cm soil depth (Table 5).

Table 4. Effect of sewage sludge application time on the DTPA extractable nutrient and heavy metal concentrations (mg kg⁻¹) for 0-60 cm depth in the second year of experiment

Çizelge 4. Denemenin ikinci yılında 0-60 cm toprak derinliği için DTPA ile ekstrakte edilebilir besin elementi ve ağır metal konsantrasyonlarına çamur uygulama zamanının etkisi

Depth	Application time	Mn	Zn	Cu	Pb	Cd	Cr
0-20 cm	Spring	4.06	0.38 b	0.93	0.40	0.032	0.020
	Autumn	4.26	0.45 a	0.98	0.44	0.033	0.021
F value		ns	5.1*	Ns	ns	ns	ns
F value	Dose×Time interaction	ns	3.1*	Ns	ns	ns	ns
20-40 cm	Spring	4.03	0.21	0.90	0.38	0.027	0.019
	Autumn	4.23	0.23	0.94	0.41	0.030	0.022
F value		ns	ns	Ns	ns	ns	ns
F value	Dose×Time interaction	ns	ns	Ns	ns	ns	ns
40-60 cm	Spring	3.69	0.15	0.85	0.40	0.027	0.019 b
	Autumn	4.07	0.17	0.93	0.38	0.030	0.022 a
F value		ns	ns	Ns	ns	ns	4.50*
F value	Dose×Time interaction	ns	3.0*	Ns	ns	ns	ns

*: P<0.05, ns: not significant. Means followed by the same letter within the same column and depth are not statistically different (Duncan test, P<0.05)

Table 5. Effect of sewage sludge application time on the soil pH, DTPA extractable nutrient and heavy metal concentrations (mg kg⁻¹) for 0-60 cm soil depth in the third year of experiment

Çizelge 5. Denemenin üçüncü yılında 0-60 cm toprak derinliği için pH, DTPA ile ekstrakte edilebilir besin elementi ve ağır metal konsantrasyonlarına çamur uygulama zamanının etkisi

Depth	Application Time	Soil pH	Mn	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd	Cr	Ni
0-20 cm	Spring	8.70 b	8.14 a	4.07 a	1.61 a	1.32 a	0.64 a	0.020a	0.028	0.45a
	Autumn	8.90 a	7.15 b	3.25 b	0.91 b	1.19 b	0.56 b	0.018b	0.029	0.32b
F value		33.0***	8.3**	16.8***	41.2***	7.12*	9.8**	7.59*	ns	12.5**
F value		Dose×Time interaction	ns	ns	3.9*	16.4***	3.14*	ns	4.75**	ns
20-40 cm	Spring	8.83 b	6.98	2.87	0.35	1.22	0.53 a	0.019a	0.028	0.41a
	Autumn	8.98 a	6.10	2.69	0.38	1.17	0.43 b	0.017b	0.030	0.33b
F value		16.7***	ns	ns	ns	Ns	10.8**	7.40*	ns	6.68*
F value		Dose×Time interaction	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns
40-60 cm	Spring	8.90 b	5.90	2.89	0.24	1.13	0.56 a	0.019a	0.029	0.37
	Autumn	9.01 a	4.92	2.63	0.27	1.07	0.45 b	0.017b	0.030	0.32
F value		18.1***	ns	ns	ns	Ns	27.0***	8.23**	ns	ns
F value		Dose×Time interaction	ns	ns	3.1*	Ns	ns	3.83*	ns	ns

*: P<0.05, **: P<0.01, ***:P<0.001, ns: not significant. Means followed by the same letter within the same column and depth are not statistically different (Duncan test, P<0.05)

DTPA-Zn concentration was the most affected by the sludge application time among all metals. The effect of sludge application time on the DTPA-Zn concentration was found to be important for 0-20 cm depth in both years. Moreover, effect of dose × time interaction was important for 0-20 and 20-40 cm soil depths. The higher DTPA-Zn concentration was obtained in spring period for third year while it was obtained in the autumn for second year. However, the dose × application time interaction showed that the higher DTPA-Zn was in the spring period for both years. DTPA-Zn concentration, which was 0.91 mg kg⁻¹ in autumn, increased to 1.61 mg kg⁻¹ by spring application for 0-20 cm (Table 4 and Table 5).

While the effect of sludge application time on DTPA-Cu concentration was not significant in the second year, it was found significant for 0-20 cm depth in the end of experiment. Copper concentration increased considerable to 1.32 mg kg⁻¹ with sewage sludge application in the spring period. Effect of dose × application time interaction on the extractable Cu concentration was found to be significant for 0-20 cm. The highest DTPA-Cu was obtained at sludge application in spring period.

DTPA-Pb and Cd concentrations did not show any significant change due to the effect of sludge application time in the second year. However, sludge application time significantly affected the DTPA-Pb and Cd for all soil depths in the end of experiment. Sludge application in the spring period resulted in higher DTPA-Pb and Cd than in the autumn period for all soil depths. DTPA-Pb and Cd for 0-20 cm increased to 0.64 mg kg⁻¹ and 0.020 mg kg⁻¹ with sludge

application in the spring period, respectively. Effect of the dose × application time interaction on the DTPA-Cd concentration was important. The highest DTPA-Cd was obtained in the spring sludge application in third year (Table 5). Effect of sludge application time on the DTPA extractable Cr concentration was not significant for all depths. DTPA-Ni concentration changed significantly with sludge application time for 0-40 cm depth. In the spring period, DTPA-Ni was found to be significantly higher than sludge application in the autumn. Extractable Ni increased to 0.45 mg kg⁻¹ with sludge application in the spring period for 0-20 cm soil depth (Table 5).

DISCUSSION and CONCLUSION

The toxic effect of heavy metals from sewage sludge on agricultural soils is largely dependent on factors such as the heavy metal concentration of sludge, amount of sludge applied, soil pH, rate of sludge decomposition, climatic and soil properties (Singh and Kumar, 2014; Kitzcak et al., 2016; Zahedifar et al., 2017). Compared with the allowable critical values, the heavy metal content of the sludge used in the study is found to be low under Turkey law (Anonymous, 2005). Zinc was the element with the highest proportion with respect to the limit indicated by law as dangerous but was only 20 % of the total recommendation.

An important parameter used in determining heavy metal level in the agricultural soils is the DTPA extractable heavy metal concentrations. In this regards, while the total heavy metal concentration provides information on potential pollution, extractable heavy metals provide information on active

pollution. Many investigators prefer to use the DTPA-extractable amounts of soil to determine the heavy metal pollution (Wu et al., 2012; Bansal et al., 2014; Ullah and Khan, 2015; Tziachris et al., 2017).

The results of research showed that the increasing sludge doses over a 3-years period had no significant effect on soil pH. This may be due to the lime and buffering power of the soil. However, the effect of sludge application time on the soil pH was found to be significant. Mohamed et al. (2018) reported that soil pH was significantly affected by sewage sludge, becoming less alkaline compared to the control. On the contrary, Mosquera-Losada et al. (2001) reported that sewage sludge application did not cause a significant change in soil pH of silvopastoral system. The pH of the sludge used in the study was determined to be 6.97. At the end of the experiment, the effect of sludge application doses on soil pH can be explained by the neutralization of the sludge pH used in the experiment and the low sludge application doses. It is also likely that the autumn-winter season in the Van Region is cold compared to the spring-summer period, resulting in a low level of decomposition in the sludge organic matter a low effect on soil pH. Rigueiro-Rodriguez et al. (2010) argued that the effect of sludge applications at different times was not very clear and that it would be more appropriate to apply it in February.

Extractable Zn and Cd concentrations increased significantly with increasing sludge application to a calcareous soil in the second year of experiment while DTPA-Mn, Cu, Pb and Cr concentrations were not affected. The effect of increasing sludge application became more pronounced in the end of the experiment. All extractable metal concentrations except Cr were increased by the sludge addition for 0-20 cm depth. Extractable Zn and Pb concentrations increased for all soil depths. The concentrations of extractable Mn, Fe, Zn, Cu, Pb, Cd and Ni were significantly changed by the effect of sludge application time at 0-20 cm depth in the end of experiment. Higher nutrient and heavy metal concentrations were obtained in the spring period application.

Probably, the high decomposition rate of organic matter and lower soil pH due to the higher temperature in spring-summer period resulted in higher concentration of extractable nutrients and heavy metals. Similarly, it is reported that the high temperature increases the decomposition rate of sludge organic matter and the availability of heavy metals (Wolejko et al., 2014). It was determined that the treatment of sewage sludge on urban lawn grasses did not significantly affect the heavy metal concentration in the soil (Wolejko et al., 2015). Various studies on different ecological conditions showed that sewage sludge applications increased the heavy metal concentration in soil and plant. But, these increases did not cause harmful effects (Keskin et al., 2012; Silva

et al. 2013; Kwon et al., 2014). Probably, the high content of lime and pH of experiment soil prevented it from increasing the availability of heavy metals. However, policies with respect to the application of sewage sludge as a fertilizer must regulate heavy metal availability in soil because environmental risk is better evaluated in this way. In addition, the high lime content, high pH and low available Fe and Zn concentrations of Van Soils, where the research is carried out, make the sludge application more attractive in this soil.

In conclusion, at the end of the 3-years study, Van Municipal sewage sludge application at increasing rates did not cause a significant change in soil pH. On the other hand, sludge application at different times significantly affected soil pH. Soil pH was significantly reduced with the application of spring period. At the end of the experiment, DTPA extractable Mn, Fe, Zn, Cu, Pb, Cd and Ni concentrations increased significantly by the sludge addition for 0-20 cm soil depth. For Zn and Pb concentrations, this increase was found to be important for all soil depths. In spring, DTPA extractable Mn, Fe, Zn, Cu, Pb, Cd and Ni concentrations were significantly increased by sludge application compared to in metal concentrations in the soil, while not reaching toxic level. As stated in Table 1, lime content and pH value of the experiment soil are high and DTPA-Fe and Zn concentrations are low. In this case, the addition of sludge which enriches the soil with Fe and Zn may be useful.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Anonymous 2005. Toprak Kirliliğinin Kontrolü Yönetmeliği. 14 Mart 2005 Tarih ve 25755 Sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Anonymous 2019. Van Meteoroloji Bölge Müdürlüğü Kayıtları, Van.
- Bansal OP, Singh G, Katiyar P 2014. Effect of Untreated Sewage Effluent Irrigation on Heavy Metal Content, Microbial Population and Enzymatic Activities of Soils in Aligarh. *J Environ Biol* 35: 641-647.
- Cogger CG, Barry AI, Fransen SC, Sullivan DM 2001. Seven Years of Biosolid Versus Inorganic Nitrogen Applications to Tall Fescue. *J Environ Qual* 30: 2188-2194.
- Gomez KA, Gomez AA 1984. Statistical Procedures for Agricultural Research. A. Wiley Interscience Publication, Los Banos, 680 p.
- Kacar B 1994. Toprak Analizleri. Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri: III. Ankara Üniv. Eğitim

- Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları, Ankara, 705 sy.
- Keskin B, Bozkurt MA, Akdeniz A 2012. Effects of Sewage Sludge and Nitrogen Fertilizer Application on Nutrient and Heavy Metal Concentrations in Grass-Legume Mixtures. *Iğdır Univ J Inst Sci Tech* 2: 93-102.
- Khan KD, Frankland B 1983. Chemical Forms of Cd and Pb in Some Contaminated Soils. *Environ Pollut* 6: 15-31.
- Kitczak T, Kiepas-Kokot A, Czyz H 2016. Yielding and Heavy Metals Accumulation in The Biomass of Grass Cultivated in Substrata with The Participation of Municipal Sewage Sludge and Green Waste Compost. *Pol J Environ Stud* 25: 2009-2014.
- Kukul SS, Saha D, Bhowmika A, Dubey RK 2012. Water Retention Characteristics of Soil Bio-Amendments Used as Growing Media in Pot Culture. *J Appl Hort* 14: 92-97.
- Kwon SI, Jang YA, Owens G, Kim MK, Jung GB, Hong SC, Chae MJ, Kim KR 2014. Long-Term Assessment of The Environmental Soil After Cessation of Organic Waste Treatments. *Environ Geochem Health* 36: 409-419.
- Malinowska E 2016. The Effects of Compost Made with Sewage Sludge on Heavy Metal Content in Soil and in *Lolium Multiflorum* Lam. *J Ecol Eng* 17: 106-112.
- Mosquera-Losada MR, Lopez-Diaz L, Rigueiro-Rodriguez A 2001. Sewage Sludge Fertilization of a Silvopastoral System with Pines in Northwestern Spain. *Agroforest Syst* 53: 1-10.
- Mohamed B, Mounia K, Aziz A, Ahmed H, Rachid B, Lotfi A 2018. Sewage Sludge Used as Organic Manure in Moroccan Sunflower Culture: Effects on Certain Soil Properties, Growth and Yield Components. *Sci Total Environ* 627: 681-688.
- Neves TI, Uyeda CA, Carvalho M, Abrahao R 2018. Environmental Evaluation of the Life Cycle of Elephant Grass Fertilization-Cenchrus Purpureus (Schumach.) Morrone-Using Chemical Fertilization and Biosolids. *Environ Monit Assess* 190: 1-8.
- Rigueiro-Rodriguez A, Castro S, Mosquera-Losada MR 2010. Effect of Dose and Period of Sewage Sludge Application on Soil, Tree and Pasture Components in a *Pinus Radiata* D. Don Silvopastoral System. *Agroforest Syst* 79: 237-247.
- Rigueiro-Rodriguez A, Mosquera-Losada MR, Ferreiro-Dominguez N 2012. Pasture and Soil Zinc Evolution in Forest and Agriculture Soils of Northwest Spain Three Years After Fertilisation with Sewage Sludge. *Agric Ecosyst Environ* 150: 111-120.
- Sharma B, Sarkar A, Singh P, Singh RP 2017. Agricultural Utilization of Biosolids: A Review on Potential Effects on Soil and Plant Growth. *Waste Manage* 64: 117-132.
- Silva MAG, Bull LT, Miggiolaro AE, Antonangelo JA, Muniz AS 2013. Heavy metal extracted by DTPA and organic acid from amended with urban or industrial residues. *Commun Soil Sci Plant Anal* 44: 3216-3220.
- Singh J, Kumar A 2014. Mobility of heavy metals in sewage sludge applied soil and its uptake by radish (*Raphanus Sativus* L.). *Int J Agric Stat Sci* 10: 521-526.
- Sorensen P, Rubaek GH 2012. Leaching of nitrate and phosphorus after autumn and spring application of separated solid animal manures to winter wheat. *Soil Use Manage* 28: 1-11.
- Tziachris P, Lekasis E, Zambetoglou K, Metaxa I, Papadopoulos F 2017. A case study of the effects of sewage sludge application on soil properties and heavy metal availability in the Thessaloniki Plain (Greece). *Waste Biomass Valorization* 8: 1803-1811.
- Ullah H, Khan I 2015. Effects of sewage water irrigation of cabbage to soil geochemical properties and products safety in peri-urban Peshawar, Pakistan. *Environ Monit Assess* 187: 1-12.
- Wolejko E, Butarewicz A, Wydro U, Loboda T 2014. Advantages and potential risks of municipal sewage sludge application to urban soil. *Desalin Water Treat* 52: 3732-3742.
- Wolejko E, Butarewicz A, Wydro U, Loboda T 2015. Effects of different kinds of sewage sludge amendment on urban lawn grasses. *Journal Ecol Eng* 16: 164-170.
- Wolna-Maruwka A, Sulewska H, Niewidomska A, Panasiewicz K, Borowiak K, Ratajczak K 2018. The influence of sewage sludge and a consortium of aerobic microorganisms added to the soil under a willow plantation on the biological indicators of transformation of organic nitrogen compounds. *Pol J Environ Stud* 27:403-412.
- Wu L, Cheng M, Li Z, Ren J, Shen L, Wang S, Luo Y, Christie P 2012. Major nutrients, heavy metals and PBDEs in soils after long-term sewage sludge application. *J Soils Sediments* 12: 531-541.
- Zahedifar M, Dehghani M, Moosavi AA, Gavili E 2017. Temporal variation of total and DTPA-extractable heavy metal contents as influenced by sewage sludge and perlite in a calcareous soil. *Arch Agron Soil Sci* 63: 136-149.

Effects of Applying Nitrogen on Yield of Silage Maize Grown after Forage Legumes

Fatma KALKAN¹, Süleyman AVCI^{2*}

Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, 26160, Eskişehir

¹<https://orcid.org/0000-0002-2425-2224>, ² <https://orcid.org/0000-0002-4653-5567>

✉: savci@ogu.edu.tr

ABSTRACT

In a 2-year study, it was determined how winter planting various forage legumes (Hungarian vetch, narbon vetch and forage pea) before applying nitrogen (0, 5, 10, 15 and 20 kg N da⁻¹) affected the yield components of silage maize grown afterward. Fallow was applied for control treatment. The results showed that among the forage legumes cultivated from October to May, forage peas afforded the highest fresh weight (4279 kg da⁻¹) and the dry matter ratio (20.50%). However, narbon vetch affected all other yield components of silage maize except dry matter ratio more positively than the other legumes and increased the green yield by 30.3% compared yields achieved in control plots. The dry matter ratio of silage maize was higher in plots grown with Hungarian vetch and forage pea plots because of their later sowing and harvest times. Later, applying nitrogen positively affected the green yields of silage maize by up to 15 kg N da⁻¹. Such results readily apply to cultivating crops with high nitrogen demands (e.g., maize) in soils with low organic matter content. It was concluded that narbon vetch as a previous crop should be advised for silage maize and top-dressing of 15 kg N da⁻¹ could be beneficial for increasing green maize yield.

Research Article

Article History

Received : 13.11.2019
Accepted : 26.12.2019

Keywords

Narbon vetch
Hungarian vetch
Forage pea
Green yield
Silage maize

Baklagil Yem Bitkilerinden Sonra Yetiştirilen Silajlık Mısırın Verimi Üzerine Azot Uygulamalarının Etkileri

ÖZET

İki yıllık bu çalışmada, kışlık olarak ekilen farklı baklagil yem bitkileri (Macar fiği, koca fiğ ve yem bezelyesi) ve azot uygulamalarının (0, 5, 10, 15 ve 20 kg N da⁻¹) daha sonra ekilen silajlık mısırın verim bileşenlerini nasıl etkilediği belirlenmiştir. Nadas, kontrol uygulaması olarak kullanılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre ekim-mayıs ayları arasında yetiştirilen baklagil yem bitkileri arasında en yüksek yaş ot verimi (4279 kg da⁻¹) ve kuru madde oranı (% 20.50) yem bezelyesinden elde edilmiştir. Bununla birlikte, koca fiğ kuru madde oranı hariç silajlık mısırın tüm verim bileşenlerini diğer baklagillerden daha olumlu etkilemiş ve kontrol parsellerine göre mısırın yeşil ot verimini % 30,3 oranında arttırmıştır. Silajlık mısırın kuru madde oranı geç ekilen ve hasat edilen Macar fiği ve yem bezelyesi parsellerinde daha yüksek çıkmıştır. Azotlu gübre uygulaması, silajlık mısırın yeşil ot verimini 15 kg da⁻¹'a kadar olumlu etkilemiştir. Bu tür sonuçlar, organik madde seviyesi düşük ve N talebi yüksek olan mısır gibi bitkilerin yetiştirilmesine uygun topraklar için oldukça önemlidir. Bu çalışmada, silajlık mısır için ön bitki olarak koca fiğin tavsiye edilmesi gerektiği ve üst gübre olarak 15 kg N da⁻¹ uygulamasının mısırın yeşil veriminin artırılmasında yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 13.11.2019
Kabul Tarihi : 26.12.2019

Anahtar Kelimeler

Koca fiğ
Macar fiği
Yem bezelyesi
Yeşil ot verimi
Silajlık mısır

To Cite : Kalkan F, Avcı S 2020. Effects of Applying Nitrogen on Yield of Silage Maize Grown after Forage Legumes. KSU J. Agric Nat 23 (2): 336-342. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.646221.

INTRODUCTION

Using chemical fertilizers and pesticides to enhance

yields per unit area in crop production has caused the physical, chemical, and biological degradation of soils.

In response, methods of sustainable agriculture have recently emphasized reducing the use of inorganic chemicals in a bid to protect the environment. Among such methods, incorporating crops that improve soil fertility in cropping systems can further contribute to agricultural sustainability.

For improving the soil in crop rotations, forage legumes rank among the best crops, particularly due to their tap-root and nitrogen fixation. Forage legumes with such nitrogen-fixing properties reduce the amount of nitrogen required by subsequent cash crops as well as benefit at different depths of the soil. Forage legumes also positively affect soil organic matter and biological activity, both via green manuring or root and leaf residues (Fageria et al., 2005).

A common way of including forage legumes in cropping systems is by replacing the winter fallow (Dabney et al., 2001). In that process, cold-tolerant forage legumes can be sown in autumn to afford them sufficient time to form rosettes before winter, such that they can grow rapidly in spring and leave the soil before summer cash crops are sown.

Forage peas, vetches, and grass peas are widely used in crop rotation systems, largely because they rapidly decompose and contribute high volumes of organic matter to the soil (Fageria et al., 2005; Gatiboni et al., 2011; Sieversa and Cook, 2018). Addressing those crop species, researchers have conducted some studies on integrating narbon and Hungarian vetches in cropping systems as cover crops. Among them, Ozyazıcı and Manga (2000) obtained higher grain yields of maize after incorporating common and narbon vetches in the soil, which respectively increased yields by 51.7% and 50.0%. Somewhat more recently, Gül et al (2008) found that silage maize did not respond to the application of

more than 12 kg N da⁻¹ following the cultivation of Hungarian vetch instead of leaving the land fallow. In other studies, forage peas have also positively affected cash crop yields when used as cover crops (Bahl et al., 2000; Skoufogianni et al., 2013; Marsh, 2014; Cicek et al., 2014; Liebman et al., 2018).

In this study, it was investigated how different applications of nitrogen affected the yield components of silage maize following the cultivation of cold-tolerant forage legumes (i.e., forage peas, narbon vetch, and Hungarian vetch) in the continental climate of central Turkey.

MATERIAL and METHODS

The field experiments of this 2-year study were conducted in the 2016–2017 and 2017–2018 growing seasons in Eskişehir, Turkey, at 39° 45' 23" N, 30° 28' 40" E, and 798 m above sea level. That central region of Turkey, dominated by a continental climate, has an average total rainfall of 331 mm per year, an average temperature of 11.2 °C, and an average relative humidity of 73.2% (Table 1). In the years in which it was performed this field experiments, however, rainfall greatly exceeded the average precipitation in the region. The soil of the experiment site is clayey-loam, pH: 7.90 and 1.68% organic matter.

In the experiments, with split plots in a randomized block design with four replications, the main plots hosted the pre-applications (i.e., control, *Pisum arvense* cv. Töre, *Vicia narbonensis* cv. Balkan, and *Vicia pannonica* cv. Budak), whereas the subplots received five different applications of nitrogen, in amounts of 0, 5, 10, 15, and 20 kg da⁻¹.

Table 1. Climatic data at the experimental fields in 2016, 2017 and 2018 years
 Çizelge 1. Deneme alanının 2016, 2017 ve 2018 yıllarına ait iklim verileri

	Rainfall (mm)				Temperature (°C)				Relative humidity (%)			
	Yağış		Uzun yıllar		Sıcaklık		Uzun yıllar		Nispi nem		Uzun yıllar	
	2016	2017	2018	Uzun yıllar	2016	2017	2018	Uzun yıllar	2016	2017	2018	Uzun yıllar
January	81.4	33.0	37.2	44.4	0.0	-2.0	1.6	0.0	87.3	87.1	86.4	84.0
February	32.8	9.2	39.8	27.2	6.6	1.9	5.8	1.9	81.1	78.3	82.3	79.3
March	40.6	16.2	46.4	31.1	7.5	7.6	9.2	6.0	70.3	68.7	73.5	73.0
April	30.6	62.0	12.6	29.5	12.9	9.6	13.8	10.2	64.5	66.9	61.6	70.1
May	44.4	50.8	62.2	42.6	14.1	14.4	16.8	15.0	74.2	73.2	74.8	69.8
June	7.0	44.8	46.6	34.7	21.0	19.1	19.9	19.4	62.1	73.4	69.5	66.9
July	12.0	13.4	46.0	5.2	22.8	23.1	22.3	22.4	58.3	59.5	65.5	62.1
August	26.4	31.4	12.6	17.7	22.8	22.0	22.9	22.4	66.0	67.3	63.5	64.1
September	31.1	2.6	2.8	18.0	17.8	19.6	18.6	17.7	67.1	57.0	65.5	68.1
October	8.0	46.4	29.2	36.6	12.4	10.8	13.3	12.0	73.4	72.9	77.4	76.5
November	27.8	28.2	18.0	22.0	5.3	5.5	7.6	6.1	69.6	85.4	82.5	80.4
December	23.8	36.4	42.2	22.0	-1.1	3.9	2.3	1.7	84.4	86.5	91.0	84.6
Mean/Total	365.9	374.4	395.6	331.0	11.8	11.2	12.84	11.2	71.52	73.01	74.45	73.2

(All data were provided by Turkish State Meteorological Service)

In each year of the study, forage legumes were sown in an arrangement of 30 × 5 cm from October 1 to 15. When the lower pods began to fill, the Balkan variety was mown on May 15, whereas the Töre and Budak varieties were mowed on May 25. Before mowing, four samples were collected from an area of 1 m² in order to determine the fresh weight and dry matter ratio.

Silage maize (cv. Truva) was sown in control plots at the beginning of May as well as in plots cultivated with forage legumes within 1 week after harvest in an arrangement of 70 × 14 cm. When the crops were 50 cm tall, N fertilizer (i.e., urea) was applied as top dressing to the plants. Considering drip flow rates and decreasing moisture levels with crop water consumption at the effective root depth, irrigation was performed 8 times for 12 h during the growing season. Silage maize was harvested when the ears' milk line reached 50% (i.e., 115–120 d after sowing). Once stems

and ears were separated and weighed, the separated parts were passed through a shredder and left to dry at 70 °C for 72 h. Chlorophyll content was measured with the help of chlorophyll meters (SPAD-502 Plus).

The results were analyzed in MSTAT software and the means were compared with Duncan's test. Correlation analysis was performed in SPSS version 16.0.

RESULTS and DISCUSSION

The fresh weight of forage legumes ranged from 3326 to 4279 kg da⁻¹ (Table 2). Forage peas had the highest fresh weight and dry matter ratios, and Hungarian vetch exhibited a similar dry matter ratio (19.24%) despite its low fresh weight. The lowest dry matter ratio was obtained from narbon vetch (15.85%). The dry matter yield obtained with forage peas confirms the findings of Uzun et al. (2012) and Ateş and Tekeli (2017).

Table 2. The fresh weight and dry hay rate of preceding crops

Çizelge 2. Ön bitkilerin yeşil ot ağırlığı ve kuru ot oranı

Preceding crops <i>Ön bitkiler</i>	Fresh weight (kg da ⁻¹) <i>Yaş ağırlık</i>			Dry matter (%) <i>Kuru madde</i>		
	2017	2018	<i>Mean</i>	2017	2018	<i>Mean</i>
<i>P. arvense</i> (cv.Töre)	4558 ^{a†}	4000 ^c	4279 ^a	20.09	20.92	20.50 ^a
<i>V. pannonica</i> (cv.Budak)	3410 ^e	3243 ^f	3326 ^b	19.38	19.10	19.24 ^a
<i>V. narbonensis</i> (cv.Balkan)	3634 ^d	4166 ^b	3900 ^a	14.41	17.28	15.85 ^b
<i>Mean</i>	<i>3867</i>	<i>3803</i>		<i>17.96</i>	<i>19.10</i>	

†: Letters show different groups at 5% level

Table 3 presents the mean values of the yield components, all of which for silage maize except for stem thickness varied from year to year. In 2017, ear ratio, dry matter ratio, and SPAD values were greater, whereas plant height and green yield were higher in 2018. Generally, however, pre-applications positively affected the yield components of maize except for ear ratio. Narbon vetch increased green yields by 30.3% compared to yields in the control application, a result that paralleled SPAD and stem thickness values. In terms of dry matter ratio, the Hungarian vetch and forage peas sown and harvested relatively late had higher values than the control and narbon vetch plots. Top dressing fertilization exceeding 15 kg da⁻¹ did not positively affect green yield values.

Forage legumes that fix nitrogen with *Rhizobium* sp. bacteria increase the yield of subsequent cash crops (Peoples et al., 1995; Fageria et al., 2005; Briggs et al., 2005; Parr et al., 2011; Liebman et al., 2018). These findings regarding the high yield potential of narbon vetch confirm the results of Özyazıcı and Manga (2000). In their study, sowing common and narbon vetches as cover crops and incorporating them in soil increased subsequent maize yields by 50%.

Forage legumes also produced a greater accumulation of dry matter in silage maize than the control

application. However, the dry matter ratio of silage maize was higher in Hungarian vetch and forage pea plots, most likely due to the delayed harvest date. Such findings also likely stemmed from the decreased air temperature at the time of harvest in the region. Miedema et al. (1987) observed that the dry matter content of maize tended to increase in low temperatures, presumably because low night temperatures decrease respiration and increase the accumulation of dry matter.

Increased doses of nitrogen positively affected yield, although no significant difference surfaced between doses of 15 kg da⁻¹ and higher doses. Generally, the most effective dose for grain and silage yield in maize is 20 kg da⁻¹ (Gül et al., 2008; Buriro et al., 2014; Kavut et al., 2015). From another angle, these findings support the results of Özyazıcı and Manga (2000), who observed no statistically significant difference between doses of 10 kg da⁻¹ and 20 kg da⁻¹ in maize yields.

Generally, forage legumes increased the stem thickness in maize compared to the control application, and the highest stem thickness was obtained by applying 10–15 kg N da⁻¹ to the cultivated silage maize on narbon vetch plot (Figure 1). In contrary to this finding, İdikut et al. (2009) indicated that stem thickness of maize increased with increasing nitrogen

doses, but not affected by the interaction of pre-applications x nitrogen doses.

Increasing doses of fertilizer instead of the pre-applications increased the ear ratio, which peaked with the application of 15-20 kg N da⁻¹ to the narbon vetch plots. However, no significant difference emerged between 15-20 kg N da⁻¹ doses of the application and the control application (Figure 2).

Similarly, Turgut et al. (2005) reported that the effect of pre-applications x nitrogen doses interaction on ear ratio of maize was significant and common vetch with the application of 24 kg N da⁻¹ gave the best response for ear ratio.

The highest dry matter ratio (32.33%) occurred when no fertilizer was applied to the forage pea plots. However, no significant difference surfaced between that value and the values obtained by applying 0 or 20 kg N da⁻¹ to Hungarian vetch plots, which were 32.01% and 31.51%, respectively (Figure 3).

Last among the findings, the relationships between

green yield and plant height, stem thickness, ear ratio, and SPAD values were positive and significant (Table 4), whereas the relationship between green yield and dry matter ratio was significant but negative.

CONCLUSIONS

Despite numerous studies on integrating forage legumes into crop rotation systems and the crops' contributions to sustainable agriculture, few studies have addressed sowing Hungarian and narbon vetches in hard winter conditions and their effects upon the yield components of silage maize grown afterward. In this study, the highest green yield of silage maize was obtained by sowing the narbon vetch as a pre-plant, followed by applying 15 kg N da⁻¹ to the maize. Such rotations enriched the nitrogen content of the soils and the quality of roughage required by animals. In that way, bare soils during the winter can be evaluated efficiently and cost-effectively without limiting the vegetation period of the subsequent plants.

Table 3. Analysis of variance and differences between mean values of silage maize grown on various nitrogen and pre-applications at 2017 and 2018 years.

Çizelge 3. 2017 ve 2018 yıllarında silajlık mısırın çeşitli azot dozları ve ön uygulamalar altında yetiştirilmesiyle elde edilen değerlerin varyans analiz sonuçları ve ortalama değerler arasındaki farklar.

Factors	Plant Height (m) <i>Bitki boyu</i>	Stem thickness (mm) <i>Sap kalınlığı</i>	Ear ratio (%) <i>Koçan oranı</i>	Green yield (kg da ⁻¹) <i>Yeşil ot verimi</i>	Dry matter ratio (%) <i>Kuru madde oranı</i>	Spad value <i>Spad değeri</i>
Years (Yıllar)						
2017	3.23 ^{b†}	24.94	37.00 ^a	11142 ^b	30.68 ^a	49.38 ^a
2018	3.50 ^a	25.80	34.02 ^b	12501 ^a	28.23 ^b	37.29 ^b
Pre-applications (Ön uygulamalar)						
Control	3.22 ^b	23.34 ^c	35.22	10102 ^d	27.25 ^d	37.22 ^d
<i>V. pannonica</i>	3.40 ^a	24.45 ^b	35.71	11690 ^c	31.07 ^a	43.47 ^c
<i>P. arvense</i>	3.44 ^a	25.05 ^b	35.12	12320 ^b	30.27 ^b	45.32 ^b
<i>V. narbonensis</i>	3.40 ^a	28.63 ^a	36.00	13173 ^a	29.25 ^c	47.33 ^a
Nitrogen doses (kg da⁻¹) (Azot dozları)						
0	3.32 ^b	24.78	33.03 ^c	10689 ^c	29.68	38.59 ^d
5	3.39 ^a	25.44	35.16 ^b	11614 ^b	29.16	41.89 ^c
10	3.34 ^{ab}	25.47	35.26 ^b	11727 ^b	29.26	43.00 ^c
15	3.38 ^{ab}	25.79	37.18 ^a	12509 ^a	29.65	45.53 ^b
20	3.40 ^a	25.36	36.93 ^a	12568 ^a	29.54	47.67 ^a
Analysis of variance (Varyans analizi)						
Year (Y)	**	ns	**	**	**	**
Pre-applications (PA)	**	**	ns	**	**	**
Nit. doses (N)	*	ns	**	**	ns	**
PA x N	ns	*	**	ns	**	ns
Y x PA x N	ns	ns	*	ns	**	**
CV (%)	5.05	8.90	3.75	9.30	3.69	6.63

*, **: significant level of 5% and 1%, respectively, ns: non-significant. †: letters show different groups at 5% level.

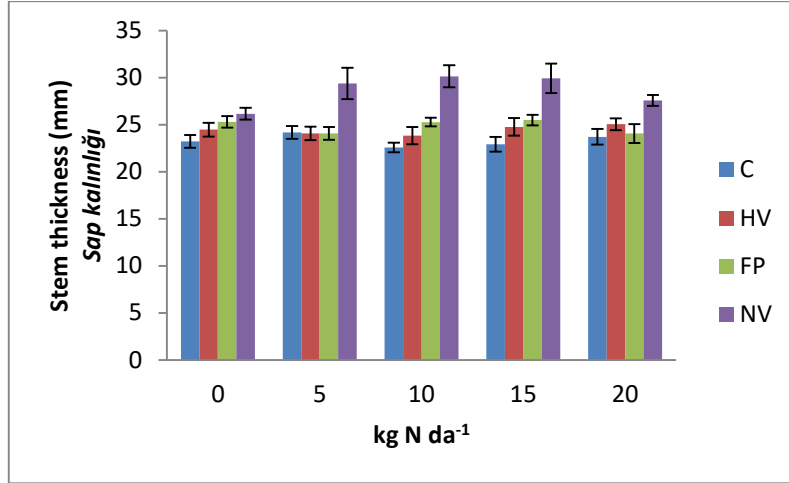


Figure 1. Stem thickness of maize after various N fertilization and pre-applications [(Control, Hungarian vetch, forage pea and narbon vetch) (Vertical bars indicate mean values \pm s.e. at $P < 0.05$)].

Şekil 1. Çeşitli N gübrelemesi ve ön uygulamalardan sonra mısırın sap kalınlığı [(Kontrol, Macar fiği, yem bezelyesi ve koca fiğ) (Dikey çubuklar, $P < 0.05$ 'te ortalama değerler \pm standart hata'yı gösterir)].

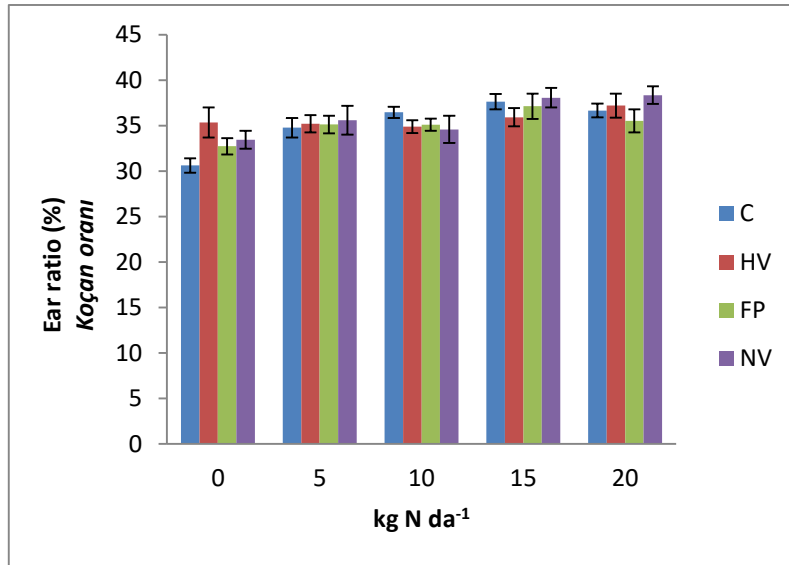


Figure 2. Ear ratio of maize after various N fertilization and pre-applications (Control, Hungarian vetch, Forage pea and narbon vetch) (Vertical bars indicate mean values \pm s.e. at $P < 0.05$).

Şekil 2. Çeşitli N gübrelemesi ve ön uygulamalardan sonra mısırın koçan oranı [(Kontrol, Macar fiği, yem bezelyesi ve koca fiğ) (Dikey çubuklar, $P < 0.05$ 'te ortalama değerler \pm standart hata'yı gösterir)].

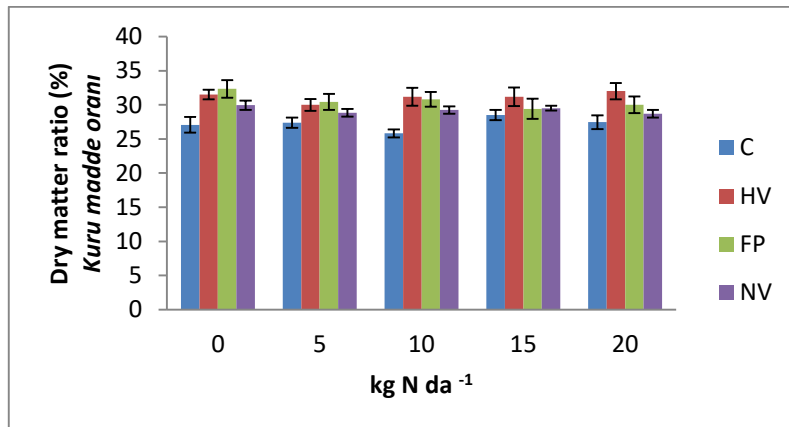


Figure 3. Dry matter ratio of maize after various N fertilization and pre-applications (Control, Hungarian vetch, Forage pea and narbon vetch) (Vertical bars indicate mean values \pm s.e. at $P < 0.05$).

Şekil 3. Çeşitli N gübrelemesi ve ön uygulamalardan sonra mısırın kuru madde oranı [(Kontrol, Macar fiği, yem bezelyesi ve koca fiğ) (Dikey çubuklar, $P < 0.05$ 'te ortalama değerler \pm standart hata'yı gösterir)].

Table 4. The correlation between the investigated characters.

Çizelge 4. İncelenen karakterler arasındaki korelasyon

Result of correlation test	Plant height	Stem thickness	Green yield	Ear ratio	Dry matter ratio	Spad value	
<i>Korelasyon sonuçları</i>	<i>testi</i>	<i>Bitki boyu</i>	<i>Sap kalınlığı</i>	<i>Yeşil ot verimi</i>	<i>Koçan oranı</i>	<i>Kuru madde oranı</i>	<i>Spad değeri</i>
Plant height	1						
<i>Bitki boyu</i>							
Stem thickness	0.377**	1					
<i>Sap kalınlığı</i>							
Green yield	0.511**	0.702**	1				
<i>Yeşil ot verimi</i>							
Ear ratio	-0.105 ^{ns}	0.168 ^{ns}	0.459**	1			
<i>Koçan oranı</i>							
Dry matter ratio	-0.375**	-0.314**	-0.248*	0.283*	1		
<i>Kuru madde oranı</i>							
Spad value	0.486**	0.516**	0.733**	0.368**	-0.14 ^{ns}	1	
<i>Spad değeri</i>							

*, **: significant level of 5% and 1%, respectively, ns: non-significant.

ACKNOWLEDGEMENTS

This article has been prepared by benefiting from the Master Thesis of Fatma KALKAN.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Ateş E, Tekeli AS 2017. Farklı Taban Gübresi Uygulamalarının Yem Bezelyesi (*Pisum arvense* L.)'nin Ot Verimi ve Kalitesine Etkisi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Doğa Bilimleri Derg., 20: 13-16.
- Bahl GS, Pasricha NS 2000. N-Utilization by Maize (*Zea mays* L.) as Influenced by Crop Rotation and Field Pea (*Pisum sativum* L.) Residue Management. Soil Use and Management, 16: 230-231.
- Briggs SR, Cuttle S, Goodlass G, Hatch D, King J, Roderick S, Shepherd M 2019. Soil Nitrogen Building Crops in Organic Farming-Defra Research Project OF0316 project publication Available at: http://www.efrc.com/manage/authincludes/article_uploads/iota/technical-leaflets/soil-nitrogen-building-crops-in-organic-farming.pdf (Accessed in: 01 November 2019).
- Buriro M, Oad A, Nangraj T, Gandahi AW 2014. Maize Fodder Yield and Nitrogen Uptake as Influenced by Farm Yard Manure and Nitrogen Rates. European Academic Research, II (9): 11624-11637.
- Cicek H, Martens JRT, Bamford KC, Entz MH 2014. Forage Potential of Six Leguminous Green Manures and Effect of Grazing on Following Grain Crops. Renewable Agriculture and Food Systems, 30(6): 503-514. doi:10.1017/S1742170514000349.
- Dabney SM, Delgado JA, Reeves DW 2001. Using Winter Cover Crops to Improve Soil and Water Quality. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 32: 221-1250.
- Fageria NK, Baligar VC, Bailey BA 2005. Role of Cover Crops in Improving Soil and Row Crop Productivity. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 36 (19): 2733-2757. doi: 10.1080/00103620500303939.
- Gatiboni LC, Coimbra JLM, Denardin RBN, Wildner LP 2011. Microbial Biomass and Soil Fauna during the Decomposition of Cover Crops in No-Tillage System. Revista Brasileira de Ciência do Solo 35: 1151-1157. doi: 10.1590/S0100-06832011000400008.
- Gül İ, Yıldırım M, Akıncı C, Doran İ, Kılıç H 2008. Response of Silage Maize (*Zea mays* L.) to Nitrogen Fertilizer after Different Crops in a Semi-Arid Environment. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32: 513-520.
- İdikut L, Tiryaki I, Tosun S, Celep H 2009. Nitrogen Rate and Previous crop Effects on Some Agronomic Traits of Two Corn (*Zea mays* L.) Cultivars Maverik and Bora. African Journal of Biotechnology, 8 (19): 4958-4963.
- Kavut YT, Geren H, Avcıoğlu R, Soya H 2015. Effects of Previous Legume Crop Levels of Nitrogen and Sowing Date on Yield Components and Some Morphological Characteristics of Corn. Legume Research, 38 (3): 341-347.
- Liebman AM, Grossman J, Brown M, Wellsc MS, Reberg-Hortond SC, Shie W 2018. Legume Cover Crops and Tillage Impact Nitrogen Dynamics in Organic Corn Production. Agronomy Journal, 110 (3): 1046-1057.
- Marsh MC 2014. Winter Field Pea as a Leguminous Cover Crop in Corn Production. University of

- Arkansas, Master of Science in Crop, Soil & Environmental Sciences, M. Sc. Thesis, 47 p. Available at: <http://scholarworks.uark.edu/etd/2095>.
- Miedema P, Post J, Groot PJ 1987. The Effects of Low Temperature on Seedling Growth of Maize Genotypes. Verslagen van Landbouwkundige Onderzoekingen, Agricultural Research Reports, p.1-124.
- Özyazıcı MA, Manga İ 2000. Çarşamba Ovası Sulu Koşullarında Yeşil Gübre Olarak Kullanılan Bazı Baklagil Yem Bitkileri ile Bitki Artıklarının Kendilerini İzleyen Mısır ve Ayçiçeğinin Verim ve Kalitesine Etkileri. Turkish Journal of Agriculture Forestry, 24: 95-103.
- Parr M, Grossman JM, Reberg-Horton SC, Brinton C, Crozier C 2011. Nitrogen Delivery from Legume cover crops in no-till organic corn production, Agronomy Journal, 103, 6, p.1578-1590.
- Peoples MB, Herridge DF, Ladha JK 1995. Biological Nitrogen Fixation: An Efficient Source of Nitrogen for Sustainable Agricultural Production? In: Ladha J.K., Peoples M.B. (eds) Management of biological nitrogen fixation for the development of more productive and sustainable agricultural systems. Developments in Plant and Soil Sciences, Springer, Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/BF00032239>.
- Sievers T, Cook RL 2018. Aboveground and Root Decomposition of Cereal Rye and Hairy Vetch Cover Crops. Soil Science Society of America Journal, 82: 147-155. doi:10.2136/sssaj2017.05.0139.
- Skoufogianni E, Danalatos NG, Dimoyiannis D, Efthimiadis P 2013. Effects of Pea Cultivation as Cover Crop on Nitrogen-Use Efficiency and Nitrogen Uptake by Subsequent Maize and Sunflower Crops in a Sandy Soil in Central Greece. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 44: 861-868.
- Turgut İ, Bilgili U, Duman A, Açıkgöz E 2005. Effect of Green Manuring on the Yield of Sweet Corn. Agronomy for Sustainable Development, 25: 433-438.
- Uzun A, Gün H, Açıkgöz E 2012. Farklı Gelişme Dönemlerinde Biçilen Bazı Yem Bezelyesi (*Pisum sativum* L.) Çeşitlerinin Ot, Tohum ve Ham Protein Verimlerinin Belirlenmesi. Uludağ Üniver. Ziraat Fakültesi Derg., 26 (1): 27-38.

Effect of Different Rates of Bacteria (*Rhizobium leguminosarum*) Inoculated in Seed on Yield and Some Quality Parameters of Common Vetch (*Vicia sativa* L.)

İbrahim ERTEKİN^{1*}, Sadık ÇAKMAKÇI²

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Hatay, Türkiye, ²Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Antalya, Türkiye

*<https://orcid.org/0000-0003-1393-8084>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3173-9639>

✉: ibrahimertekin@mku.edu.tr

ABSTRACT

This research was conducted at Akdeniz University, Faculty of Agriculture's research greenhouse in 39 plastic pots. Different bacteria solutions (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 mL bacteria solution per 1 kg seed) were inoculated in the seeds of common vetch plant (*Vicia sativa* L.) with each replication. In addition, the most convenient bacteria dosage and differences between bacterial and artificial fertilizer applications were determined by applying (13 applications in total) sole fertilizer so that 1 kg of nitrogen (N) falls per decare in 1 pot and by applying control (non-inoculated seeds) for 1 pot. Analyses revealed that bacteria solution applications of 45 mL on plant height; 5 mL on plant nitrogen content; 0, 5, 10, 15 and 25 mL on plant phosphorus content; 25 mL on plant potassium content; 0, 5, 35, 40 and 45 mL on fresh weight; 55 mL on root weight; 30 mL on number of bacteria in soil; 30 mL on dry matter percentage and 5 mL on crude protein percentage have taken the first place. Fertilizer application did not sustain in any first place for any of the features, which indicate that bacteria applications can give better results.

Research Article

Article History

Received : 09.05.2019
Accepted : 07.11.2019

Keywords

Inoculation
Vetch
Rhizobium
Yield
Quality

Adi Fiğ (*Vicia* L.) Tohumlarına Farklı Oranda Bakteri (*Rhizobium leguminosarum*) Aşılmasının Verim ve Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi

ÖZET

Bu araştırma, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi deneme serasında 39 adet plastik saksılarda yürütülmüştür. Adi fiğ (*Vicia sativa* L.) bitkisinin tohumlarına her bir tekerrürde farklı bakteri solüsyonu (bir kilogram tohuma; 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 mL bakteri solüsyonu) uygulanmıştır. Ayrıca 1 saksıda dekara 1 kg azot düşecek şekilde sadece gübreleme ve 1 saksıda kontrol (bakteri uygulanmamış tohumlar kullanılmış) uygulanarak (toplam 13 uygulama) en uygun bakteri dozu aşılması ile bakteri ve suni gübre uygulamaları arasındaki farklılıklar da belirlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında bitki boyunda 45; bitki azot içeriğinde 5; bitki fosfor içeriğinde 0, 5, 10, 15 ve 25; bitki potasyum içeriğinde 25; yaş ağırlıkta 0, 5, 35, 40 ve 45; kök ağırlığında 55; topraktaki bakteri sayısında 30; kuru madde oranında 30 ve ham protein oranında 5 mL bakteri solüsyonu uygulamalarının ilk sırada yer aldıkları anlaşılmaktadır. Gübre uygulamasının ele alınan hiçbir özelliğe ilk sırada yer almaması bakteriyel uygulamalarının daha iyi sonuçlar verebileceğinin göstergesidir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 09.05.2019
Kabul Tarihi : 07.11.2019

Anahtar Kelimeler

Aşılama
Fiğ
Rhizobium
Verim
Kalite

To Cite : Ertekin İ, Çakmakçı S 2020. Effect of Different Rates of Bacteria (*Rhizobium leguminosarum*) Inoculated in Seed on Yield and Some Quality Parameters of Common Vetch (*Vicia sativa* L.). KSU J. Agric Nat 23 (2): 343-348. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.562310.

INTRODUCTION

Leguminous plants compose a major part of plants used for animal feeding purposes all over the world. They grow naturally in meadows and pastures and are

essential in supplying roughage for animals. Leguminous plants' nutritional value and their expediency on animals are significantly high (Anil et al., 1998). Leguminous plants are not only used in

animal feeding but also in human nutrition and biological nitrogen fixation (Anjum et al., 2006).

Vetches have bacteria called *Rhizobium*, which fix the free nitrogen in the air. In this symbiotic relationship, *Rhizobium* take the free nitrogen from the air and quickly convert it into ammonium and protein compounds. Thus, the plant obtains the nitrogen needs from *Rhizobium* (Cassida, 2004). Leguminous plant seedlings use the nitrogen in the soil to grow until their roots form nodules. If there isn't enough nitrogen in the soil, seedlings get damaged and their growth decelerate due to nitrogen deficiency. If these bacteria are not sufficient and effective in the soil, seeds should be inoculated with the appropriate type of *Rhizobium* according to their varieties (Önder and Akçin, 1991).

Nitrogen is a basic element for protein synthesis which enables organisms to survive (Canfield et al., 2010). Nitrogen (N₂) in the form of gas is present in the atmosphere, but most living organisms cannot metabolize nitrogen in this form (Cheng, 2008). This gas needs to be converted to ammonia (NH₃) to be useful (Jia and Quadrelli, 2014). This process is called nitrogen fixation (Cleveland et al., 1999) and is an important processing the nitrogen cycle (Gruber and Galloway, 2008).

It has been shown that the use of chemical fertilizers containing nitrogen, phosphorus and potassium are effective for increase of yield of meadows and pasture plants (Elliott and Abbott, 2003). However, chemical agricultural practices (including chemical fertilizers) create environmental problems (Socolow, 1999). For these reasons, alternative approaches that are environment-friendly (such as microbial fertilizers) are proposed to increase the yield in agricultural areas (Cebel, 2004).

In this research, the effect of *Rhizobium leguminosarum*, a nitrogen fixing bacteria, on yield and quality of common vetch was examined.

MATERIALS and METHODS

Materials

As plant material, Gülhan 2005, a variety of common vetch which is widely cultivated, was used in this research. As bacteria inoculant, *Rhizobium leguminosarum* bacteria strains, provided by NCIMB (National Collection of Industrial, Food and Marine Bacteria) were used.

Methods

Bacteria kept as dry dust at -20°C were prepared for inoculation in the microbiology laboratories of Antalya Wastewater Treatment Plant Water Quality Control Unit. Initially, inactive bacteria were dissolved in 0.5 mL Maximum Recovery Diluent (MRD), 0.9% sodium chloride, Tryptic Soy Broth (TSB), peptone water, sterile distilled water. This solution, then, was added

to 500 ml TSB media and incubated at 25°C for 3 days. At the end of the incubation period, a turbidity was formed in the medium indicating bacterial growth. Number of bacteria present in the medium was determined by using the dilution plate count method and expressed as colony forming unit (cfu) ml⁻¹. In this process, 1 mL of the medium with bacterial growth was transferred to a tube containing 9 mL of TSB. This tube constitutes the 10⁻¹ dilution. 1 mL from this dilution tube was then transferred to another tube to create 10⁻² dilution. This step was repeated several times to prepare serial dilution tubes. After that, 1 ml from each dilution tube was transferred to separate plates containing YMA (Yeast Mannitol Agar) nutrient media. The plates were incubated at 25 °C for 3 days and then colonies were counted. Following this enumeration, number of bacteria in the media were determined to be 3x10⁴cfuml⁻¹.

Seeds inoculated with bacteria were planted in pots, eight in each, on January 4th, 2016. On January 13th, seedlings were observed in pots. On January 27th, subtilization process was carried out in order to leave 4 plants in each pot. On February 1st, plants were disinfested of leaf miner (*Liriomyza trifolii*) and plant lice (*Aphidoidea*) and on April 15th plants were harvested.

Applications

Inoculation to seeds was done by taking 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 ml kg⁻¹ respectively from the bacteria produced in YMA nutrient media. Sucrose was used as an adhesive during inoculation. In addition to this, control (non-inoculated seeds) and also fertilizer in 1 pot were applied. Seeds to be planted in pots were randomly selected among the inoculated seeds. All 13 applications were planted in pots with a mixture of soil, perlite and turf and were covered with a thin layer of turf. In order to compare the effect of the bacteria with the plants grown with fertilizer, fertilizer with 1 kg of nitrogen per decare (Açıköz, 2001) was applied. Therefore, a total of 13 applications (11 bacteria, 1 control and 1 fertilizer) were carried out in each replication. They were then irrigated periodically.

Yield Factors

Heights of 4 plants in each experimental unit were measured and mean values were calculated. Right after the shaping process, their fresh weights were determined. Plant roots in each pot were washed with water to remove soils and their weights were measured. For each application, plants whose fresh weight (A) has been pre-determined were kept at 70°C for 48 hours in order to determine their dry weight (B) and their dry matter percentages were calculated with the formula (B/A)*100.

Quality Factors

Plants which were dried in incubators and whose dry weights were measured, were pulverized by grinding. The nitrogen contents of the samples were then determined with Kjeldahl method (AOAC, 1990). Crude protein percentages of the samples were determined by multiplying nitrogen content with the coefficient 6.25. Dried plant samples were wet digested in HNO₃+HClO₄ solution and analyzed with, ICP-AES (Varian Liberty Series II) to determine their phosphorus and potassium content.

Others

Total number of aerobic mesophilic bacteria was determined by using the dilution plate count method and expressed as cfu g⁻¹ dry weight soil (Parkinson et al., 1971). All resulting data were analyzed using the SAS 9.1 statistical software and the differences

between the averages were determined by the LSD test.

During the period in which the research was carried out, min.-max. temperature and min.-max. humidity were 8.4-32.3 °C and 21.5-69.3% in January; 14.3-40.2 °C and 15.4-60.4% in February; 12.6-41.4 °C and 15.0-56.7% in March, respectively.

According to the climate data obtained from the greenhouse every day, environmental conditions was appropriate for both bacterial growth and common vetch cultivation during the experiment.

RESULTS and DISCUSSIONS

Yield Factors

Averages of plant height, fresh weight, root weight and dry matter percentages obtained from this study are given in Table 1..

Table 1. Mean Values of Yield Parameters

Tablo1. Verim Özelliklerinin Ortalamaları

Dosages (ml kg ⁻¹) <i>Dozlar (ml kg⁻¹)</i>	Plant Height (cm) <i>Bitki Boyu (cm)</i>	Fresh Weight (g plant ⁻¹) <i>Taze Ağırlık (g bitki⁻¹)</i>	Root Weight (g plant ⁻¹) <i>Kök Ağırlığı (g bitki⁻¹)</i>	Dry Matter (%) <i>Kuru Madde (%)</i>
Control (<i>Kontrol</i>)	118.00	101.55	36.62	36.06
Fertilization (<i>Gübreleme</i>)	108.83	92.81	35.60	39.20
5	112.00	102.47	34.98	34.72
10	112.25	93.67	33.69	37.55
15	106.25	84.67	33.46	39.95
20	126.83	94.57	35.23	37.36
25	113.17	69.99	31.93	46.28
30	115.67	78.59	35.48	46.70
35	114.17	98.23	35.57	37.76
40	124.33	98.60	37.07	37.79
45	128.17	97.68	36.22	38.30
50	122.33	88.89	35.75	41.00
55	125.33	87.39	38.42	44.41
LSD	20.35	26.08	2.77	10.47

LSD: Least Significant Differences

When the averages of plant height were examined, it was seen that the values ranged from 106.25 to 128.17 cm. The highest plant height was achieved with 45 ml kg⁻¹dosage and the lowest plant height was obtained with 15 ml kg⁻¹dosage. This indicates that dose increase in the bacteria inoculation raises the plant height. Gök and Onaç (1995) stated that bacteria inoculation positively affects the vegetative development. Karadavut and Özdemir (2001) determined in a study carried out on chickpea under Hatay province conditions that bacteria inoculation increases the plant height. Söğüt (2005) conducted bacteria inoculation and nitrogen fertilizer application on some soybean varieties and found out that bacteria inoculation increased plant height more in comparison to nitrogen fertilizer application. Kaçar et al. (2005)

indicated based on a study carried out on some French bean's varieties under Bursa province conditions for 2 years that bacteria inoculation had no statistical effect on plant height increase. However, they reported differences with increasing nitrogen fertilization dosages. Özrenk et al. (2003) determined that bacteria inoculation increased plant height in proportion to control in chickpea. Meral et al. (1998) found in a study carried out on chickpea under Ankara province conditions that bacteria inoculation to seed increased plant height compared to control. Önder (1992) indicated that inoculation increases plant height more than control in dwarf French beans. In a study conducted with chickpea under Eskişehir province conditions, inoculation increased the plant height by 1.6-3.6% in varieties (Çakır, 2005).

When the mean values of fresh weight were evaluated, no linear relationship was observed between bacterial dose increase and fresh weight increase. In that, the lowest fresh weight was obtained with 25 ml kg⁻¹ dose and the highest fresh weight was observed at 10 ml kg⁻¹ dose. Meral et al. (1998) determined that bacteria inoculation increased plant height compared to control in chickpea.

In the mean value of root weight, while 55 ml kg⁻¹ dose gave higher values than other dosages did, 25 ml kg⁻¹ dose resulted in the lowest value. The highest root weight average at the highest dose, 55 ml kg⁻¹, suggests that bacteria inoculation positively affects the root development. Meral et al. (1998) determined that bacteria inoculation on chickpea plants increased root weight compared to control. Ünver et al. (1999) stated in a study conducted on lentil and Hungarian vetch that nitrogen and phosphorus-based fertilizers applied during plantation along with bacteria inoculation resulted in better development in aerial and

belowground plant parts.

While control dose and 5 ml kg⁻¹ dose gave the lowest dry matter values, other doses of bacteria inoculations increased dry matter percentages. This suggests that bacteria inoculations contribute positively to the increase in dry matter. In a study conducted under Ankara and Samsun province conditions, Albayrak and Sevimay (2005) determined that bacteria inoculations resulted in an increase in both fodder and seed yield compared to control in all varieties. It has been indicated that with *Rhizobium* inoculation dry matter content accumulation significantly increased in total N content and all plant parts including Nodules.

Quality Factors

The mean values of plant nitrogen content, phosphorus content, potassium content and crude protein content are given in Table 2.

Table 2. Mean Values of Quality Parameters

Tablo 1. Kalite Özelliklerinin Ortalamaları

Dosages (ml kg ⁻¹) Dozlar (ml kg ⁻¹)	Nitrogen Content (%) Azot İçeriği (%)	Phosphorus Content (%) Fosfor İçeriği (%)	Potassium Content (%) Potasyum İçeriği (%)	Crude Protein (%) Ham Protein (%)
Control (Kontrol)	2.55	0.25	2.16	15.91
Fertilization (Gübreleme)	2.75	0.22	2.29	17.21
5	3.42	0.26	2.06	21.34
10	2.81	0.27	2.37	17.53
15	3.03	0.25	2.08	18.94
20	2.56	0.17	1.87	16.00
25	2.95	0.25	2.60	18.41
30	2.70	0.22	2.21	16.85
35	2.60	0.21	2.07	16.25
40	2.85	0.23	2.11	17.79
45	2.59	0.20	2.07	16.21
50	2.89	0.21	2.03	18.04
55	2.99	0.24	1.98	18.97
LSD	0.52	0.08	0.30	3.23

LSD: Least Significant Differences

When considering the effect of these treatments on plant nitrogen content, it can be seen that the values vary between 2.55 and 3.42% and that while the highest value was achieved with 5 ml kg⁻¹ dose, the lowest one was obtained with the control treatment. Therefore, bacteria inoculation plays a positive role in increasing the content of nitrogen in the plant. Özrenk et al. (2003) reported that bacteria inoculation in chickpea plant positively affects plant nitrogen content. Similarly, Doğan et al. (2007) determined that inoculation increased nitrogen content in peanut.

It was observed that plant phosphorus content varied between 0.17 and 0.27% and that while the highest average was achieved with 10 ml kg⁻¹, the lowest value was observed with 20 ml kg⁻¹. Özrenk et al. (2003)

indicated that bacteria inoculation in chickpea positively affects plant phosphorus content. Şahin (2008) stated in a study carried out with chickpea in Tokat Region that in the wake of the inoculations, significant differences occurred in total N and available P contents of the soil.

Plant potassium content was found to be between 1.87% and 2.60%. The highest value was obtained with 25 ml kg⁻¹ dose while the lowest one was with 20 ml kg⁻¹ dose.

While the control treatment gave 15.91% crude protein percentage, values from other treatments varied between 16.00 and 21.34%. This indicates that bacteria inoculation increases crude protein percentage in plants at a certain rate. In addition, crude protein

content of the treatment receiving N fertilizer was found to be 17.21%. This indicates that nitrogen fertilizer also increases protein content compared to the control. In the 3-year doctoral dissertation with dwarf French bean varieties, Önder (1992) observed that bacteria inoculation increased the crude protein compared to control. However, Yağmur and Engin (2005) ascertained in a 2-year study on chickpea under Van province ecological conditions that bacteria inoculation did not influence crude protein percentage. At the beginning of the experiment, initial number of total aerobic mesophilic bacteria in the test soil was found to be 1.0×10^6 cfu g⁻¹dw. Results of enumeration of bacteria in soil at the end of the experiment are given in Table 3. Statistical analysis showed that effects of applications on bacterial number in soil were significant ($p < 0.05$). According to LSD Test, the highest bacterial number was obtained from the application rate of 30 ml. In general, bacterial numbers elevated with increasing application rate until 30 ml. With application rates above 30 ml, however, bacterial numbers slightly decreased and stabilized. This shows that rates above 30 ml may not provide extra benefits in terms of economics.

Table 3. Mean Values of Total Aerobic Mesophilic Bacterial Number in Soil

Tablo 3. Topraktaki Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı

Dosages (mL kg ⁻¹)- Dozlar (ml kg ⁻¹)	Number of Total Aerobic mesophilic Bacteria ($\times 10^6$ cfu g ⁻¹ dw soil) Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı ($\times 10^6$ cfu g ⁻¹ dw soil)
0	1.167 A B
5	1.800 A B
10	1.700 A B
15	1.800 A B
20	2.200 A B
25	2.233 A B
30	2.767 A
35	2.200 A B
40	2.300 A B
45	2.000 A B
50	2.000 A B
55	2.000 A B
Soil with fertilizer (Gübreli toprak)	1.200 A B
Initial Soil (Başlangıç toprağı)	1.000 B

CONCLUSIONS

Analyses revealed that application dosages of 45 ml on plant height; 5 ml on plant nitrogen content; 0, 5, 10, 15 and 25 ml on plant phosphorus content; 25 ml on plant potassium content; 0, 5, 35, 40 and 45 ml on fresh weight; 55 ml on root weight; 30 ml on number of bacteria in soil; 30 ml on dry matter percentage and 5 ml on crude protein percentage took the first place.

In general, higher plant height and root weight values

and dry matter contents were achieved with application dosage of 40 ml and above. On the other hand, lower application rates yielded higher values in fresh weight, plant nitrogen, phosphorus and potassium contents, and crude protein content.

Total aerobic mesophilic bacterial number of the soil prepared at the beginning of the experiment was determined as 1.0×10^6 cfu g⁻¹dw. Following the experiment, the fact that 2.767×10^6 cfu g⁻¹dw soil was achieved with 30 ml dose indicates that bacterial application increases the number of bacteria in the soil. In addition, the highest value of root weight that was seen with 55 ml dose suggests that bacteria inoculation positively contributes mostly to the development of root structure. The fact that chemical fertilizer application did not yield highest values in any of the features indicates that bacteria applications may be more effective and give better results.

ACKNOWLEDGEMENT

Authors wish to thank Akdeniz University Scientific Research Projects Coordination Unit for sponsoring this research with project number FBA-2015-657.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Açıkgöz E 2001. Yem Bitkileri. Uludağ Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü Bursa Vipaş A,Ş. No. 40. Bursa.
- Albayrak S, Sevimay CS 2005. Ankara ve Samsun Koşullarında Bakteri Aşılmasının Yaygın Fiğ (*Vicia sativa* L.) Çeşitlerinin Kuru Ot ve Tohum Verimleri Üzerine Etkileri. Tarım Bilimleri Dergisi, 11(3): 263-269.
- Anil L, Park J, Phipps RH, Miller FA 1998. Temperate Intercropping of Cereals for Forage: A Review of the Potential for Growth and Utilization with Particular Reference to the UK. Grass and Forage Science, 53(4): 301-317.
- Anjum MS, Zammurad AI, Rauf CA 2006. Effect of Rhizobium Inoculation and Nitrogen Fertilizer on Yield and Yield Components of Mungbean. International Journal of Agriculture and Biology, 8: 238-240.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists (1990). Official method of analysis. 15thed, Washington, DC. USA. pp. 66-88.
- Çakır S 2005. Eskişehir Koşullarında Etkin Bakteri Suşuyla Aşılamanın Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşit ve Hatlarının Tane Verimi, Morfolojik, Fizyolojik ve Teknolojik Özelliklerine Etkisi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla

- Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 115 sy.
- Canfield DE, Glazer AN, Falkowski PG 2010. The Evolution and Future of Earth's Nitrogen Cycle. *Science*, 330: 192-196.
- Cassida K 2004. Forage Legume Inoculation. University of Arkansas. Division of Agriculture. Cooperative Extension Service 2301 South University Avenue. Little Rock. Arkansas 72204. USA.
- Cebel N 2004. Mikrobiyal Gübreler. Türkiye 3. Ulusal Gübre Kongresi: Tarım- Sanayi-Çevre Kongre Kitapçığı, 845-852, Tokat.
- Cheng QJ 2008. Perspectives in Biological Nitrogen Fixation Research. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50 (7): 786-798.
- Cleveland CC, Townsend AR, Schimel DS, Fisher H, Howarth RW, Hedin LO, Perakis SS, Latty EF, Von Fischer JC, Elseroad A, Wasson MF 1999. Global Patterns of Terrestrial Biological Nitrogen Fixation in Natural Ecosystems. *Global Biogeochemical Cycles*, 13: 623-645.
- Doğan K, Gök M, Coşkan A, Güvercin E 2007. Bakteriyel Aşılama ile Demir Uygulamalarının 1. Ürün Yerfıstığı Bitkisinde Nodülasyon ve Azot Fiksasyonuna Etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1): 35-46.
- Elliott DE, Abbott RJ 2003. Nitrogen Fertilizer Use on Rain-Fed Pasture in the Mt Lofty Ranges, South Australia. 1. Pasture Mass, Composition and Nutritive Characteristics *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 43: 553-577.
- Gök M, Onaç I 1995. Değişik *Bradyrhizobium japonicum* İzolatları ile Aşılamanın Farklı Soya Çeşitlerinde Verime, Nodülasyona ve N₂ Fiksasyonuna Etkisi. İlhan Akalan Toprak ve Çevre Sempozyumu 27-29 Eylül 1995, Ankara.
- Gruber N, Galloway JN 2008. An Earth-System Perspective of the Global Nitrogen Cycle. *Nature*, 451: 293-296.
- Jia HP, Quadrelli EA 2014. Mechanistic Aspects of Dinitrogen Cleavage and Hydrogenation to Produce Ammonia in Catalysis and Organometallic Chemistry: Relevance of Metal Hydride Bonds and Dihydrogen. *Chemical Society Reviews*, 43: 547-564.
- Kaçar O, Göksu E, Azkan N 2005. Bursa Koşullarında Farklı Bakteri Suşları ile Aşılamanın Bazı Nohut Çeşit ve Hatlarında Verim ve Verim Ögeleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3(42): 21-32.
- Karadavut U, Özdemir S 2001. *Rhizobium* aşılama ve azot uygulamasının nohutun verim ve verimle ilgili karakterlerine etkisi. *Anadolu Journal of Agriculture*, 11(1): 14-22.
- Meral N, Çiftçi CY, Ünver S 1998. Bakteri Aşılama ve Değişik Azot Dozlarının Nohut (*Cicer arietinum* L.) 'un Verim ve Verim Ögelerine Etkileri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 7 (1):44-59.
- Önder M 1992. Bodur Kuru Fasulye Çeşitlerinin Tane Verimine ve Morfolojik, Fenolojik, Teknolojik Özelliklerine Bakteri Aşılama ve Azot Dozlarının Etkisi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 135 sy.
- Önder M, Akcin A 1991. A Study on the Relationship between Protein, Oil and Grain Yields and Yield Components of Soybean Plant Grown Under Ecological Conditions of Çumra. and Supplied with Nodulating Bacteria and Various Levels of Nitrogen. *Doğa-Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 15: 765-776.
- Özrenk E, Demir S, Tüfenkçi Ş 2003. Peyniraltı Suyu Uygulaması ile *Glomus intraradices* ve *Rhizobium cicer* İnokulasyonlarının Nohut Bitkisinde Bazı Gelişim Parametrelerine Etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 13 (2),127-132.
- Parkinson D, Gray TRC, Williams ST 1971. Methods for Studying the Ecology of Soil Microorganisms. Blackwell Science Press, Oxford, UK.
- Şahin S 2008 Nohut Genotiplerinin (*Cicer arietinum* L.) Farklı Azot Dozları ve Bakteri Aşılama Koşullarında Azot Kullanım Etkinliklerinin Belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı, Doktora Tezi*, 124 sy.
- Socolow RH 1999. Nitrogen Management and the Future of Food: Lessons from the Management of Energy and Carbon. *Proceedings National Academy Sciences*, 96: 6001-6008.
- Söğüt T 2005. Aşılama ve Azotlu Gübre Uygulamasının Bazı Soya Çeşitlerinin Verim ve Verim Özelliklerine Etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(2): 213-218.
- Ünver S, Kaya, M. Hakyemez BH 1999. Mercimek ve Macar Fiğinde Farklı Aşılama Yöntemleri ile Azot Dozlarının Bazı Özellikler Üzerine Etkileri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 8: 1-2.
- Yağmur M, Engin M 2005. Farklı Fosfor ve Azot Dozları ile Bakteri (*Rhizobium ciceri*) Aşılamanın Nohut (*Cicer arietinum* L.)'un Tane Verimi ve Bazı Verim Ögeleri ile Ham Protein Oranı Üzerine Etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 15 (2): 93-102.

Giberellik Asit (GA₃) Ön Uygulamasına Tabi Tutulmuş Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Tohumunda Tuz (NaCl) Stresinin Çimlenme Özellikleri Üzerine Etkisi

Erol ORAL¹, Fevzi ALTUNER², Ruveyde TUNÇTÜRK³, İshak BARAN⁴

^{1,3,4}Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, 65080 Gevaş Van, Türkiye ²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Gevaş Mesleki Yüksek Okulu, Bitkisel Üretim Bölümü, 65080 Gevaş-Van, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-9413-1092>, ²<https://orcid.org/0000-0001-9419-2012>, ³<https://orcid.org/0000-0002-3759-8332>,

⁴<https://orcid.org/0000-0002-6299-8043>

✉: faltuner@gmail.com

ÖZET

Bu araştırma, kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) tohumlarına çimlenme öncesi uygulanan GA₃'ün tuzlu koşullarda çimlenme ve ilk gelişme üzerine etkilerinin incelenmesi amacıyla yürütülmüştür. "Titicaca" kinoa çeşidi dört farklı Giberellik asit (0, 100, 200 ve 300 ppm) ön uygulaması ve daha sonra dört farklı tuz (0, 100, 200 ve 400 mM NaCl) konsantrasyonunda strese maruz bırakılmıştır. Araştırmanın ikinci gününden itibaren çimlenme gücü (%), çimlenme oranı (%), çimlenme indeksi (%), ortalama çimlenme süresi (gün), hassaslık indeksi (%) ile 14. gün itibari ile kök uzunluğu (cm), gövde uzunluğu (cm), kök yaş ağırlığı (mg), kök kuru ağırlığı (mg), gövde yaş ağırlığı (mg) ve gövde kuru ağırlığı (mg) değerleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; artan tuz dozlarının, kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) tohumlarının çimlenme ve büyüme parametrelerini engellediği tespit edilmiştir. Tuz dozlarının aksine artan GA₃ (Giberellik asit) dozlarının ise çimlenme ve büyüme üzerine olumlu ve önemli etki yaptığı görülmüştür. Kinoa tohumunda en iyi çimlenme özellikleri 300 ppm giberellik asit + 0 mM (kontrol) tuz kombinasyonundan elde edilmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 30.04.2019

Kabul Tarihi : 27.12.2019

Anahtar Kelimeler

Kinoa
Giberellik Asit (GA₃)
Çimlenme
Tuz Stresi

The Impact of Salt (NaCl) Stress on Germination Characteristics of Gibberellic Acid (GA₃) Pretreated Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Seed

ABSTRACT

This research was conducted to examine the effects of gibberellic acid (GA₃), which was treated to quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds before germination, on the germination and the seedling growth under saline conditions. Quinoa Titicaca variety, four different GA₃ (0.0, 100, 200 and 300 ppm), and four different salt (0.0, 100 mM, 200 mM and 400 mM NaCl) concentrations of exposed stress. Germination power (%), germination ratio (%), germination index (%), mean germination time (day), sensitivity index (%) as of the second day of the research, and radicle length (cm), plumula length (cm), radicle fresh weight (mg), radicle dry weight (mg), plumula fresh weight (mg), and plumula dry weight (mg) on the 14th day were examined. The results indicated that the increasing doses of salt prevented germination and growth parameters of kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. It was observed that the doses of GA₃ (Gibberellic acid), which increased gradually before the doses of salt, affected germination and growth positively and significantly. The best results of germination characteristics of wheat seed were obtained from the combination of 300 ppm Gibberellic acid + 0 mM (control) salt.

Research Article

Article History

Received : 30.04.2019

Accepted : 27.12.2019

Keywords

Quinoa
Gibberellic Acid (GA₃)
Germination
Salt Stress

To Cite : Oral E Altunel F, Tunçtürk R, Baran İ 2020. Giberellik Asit (GA₃) Ön Uygulamasına Tabi Tutulmuş Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Tohumunda Tuz (NaCl) Stresinin Çimlenme Özellikleri Üzerine Etkisi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 23 (2): 349-356. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.559368.

GİRİŞ

Günümüzde artan dünya nüfusuna paralel olarak

doğal kaynaklara olan bağımlılık ve tüketim giderek artmıştır. Bu zaman diliminde ayrıca artan küresel

ısınma yeterli ve dengeli beslenme konusunda önemli problemlerin ortaya çıkmasına neden olmuştur (Kaya ve Karaer, 2017). Bu durum insanları yeni kaynakları bulmaya ve geliştirmeye sevk etmiştir. Özellikle hayvansal ve bitkisel üretimde kalite ve verimi artıracak her iklim ve doğal şartlar altında üretim yapma olanağı sağlayacak bitki tür ve çeşitlerinin kullanımı zorunlu hale gelmiştir (Kır, 2016). Özellikle insan beslenmesinde en temel besin kaynağını oluşturan buğday, arpa, pirinç gibi tahılların çölyak hastalığına neden olduğu bilinen bir gerçektir (Özkaya, 1999; Battais ve ark., 2005). Bu problemin çözümüne yönelik farklı bitki tür ve çeşitlerinin keşfi ve kullanımına yönelik bazı arayışlar bu dönemde kendini göstermiştir. Beslenme açısından bu olumsuz durumu ortadan kaldıracak potansiyele sahip, geniş bir coğrafyada yetiştiriciliği yapılabilen kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) alternatif bir bitki olarak önemli bir rol üstlenebilir. Botanik özellikleri itibariyle çift çenekli tek yıllık bir bitki olan kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) kazayağgiller veya ıspanakgiller (*Chenopodiaceae*) familyasındandır. Bolivya, Peru, Ekvator ve Şili gibi ülkelerde çok eski dönemlerden beri yetiştirilmekte olup, anavatanının Güney Amerika olduğu bilinmektedir. (Pearsall, 1992). Bu bitkinin zengin bir besin değerine sahip olması ekim alanlarının hızlı bir şekilde artmasına neden olmuştur. Ülkemizde çok az bilinen bu bitki özellikle Amerika ve Avrupa'da yoğun bir ilgi görmüştür. Bu ilgiye karşılık olarak 2013 yılı Birleşmiş Milletler tarafından kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) yılı olarak ilan edilmiştir (Miranda ve ark., 2012).

Özellikle Dünya nüfusunun yarısından fazlasının yetersiz ve düzensiz beslendiği günümüzde bu sorunu çözecek alternatif ürünlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bitkilerden biri olarak görülen kinoa "süper besin", "mucize tahıl" olarak isimlendirilir. Bu şekilde tanımlanmasının temel sebebi tanelerindeki yüksek miktarlarda protein ve amino asitlerin varlığıdır. Bu içeriğin yanı sıra A, B, C, D, E ve K vitaminleri çok yüksek seviyededir (FAO, 2017).

Ülkemizde ve bölgemizde tahıl tarımının yapıldığı yerlerde alternatif bir ürün olarak kinoa yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması gerekmektedir. Mayınlı ve nadasa bırakılan araziler başta olmak üzere birçok marjinal alanın üretime katılmasında önemli katkı sağlayacaktır (Kır ve Temel, 2017). Bu şekilde katma değeri yüksek bir tarımsal ürünün bölgeye kazandırılması sağlanacaktır. Özellikle toprak tuzluluğunun yoğun olduğu bölgelerde tuzluluğa dayanıklı bitki türlerinin tarımı teşvik edilmelidir.

Bölgemizde tarımsal üretimi kısıtlayan en önemli faktör sulama suyunun yetersiz oluşudur. Bu nedenle başarılı bir tarımsal üretim için toprakta su düzeyinin yeterli olması gerekmektedir. Kök

bölgesinde suyun azalması ile bitki su kullanımında azalma meydana gelir. Toprak tuzluluğu bitki-su ekonomisinin sekteye uğratan en temel sebeptir. Kök bölgesinde tuz konsantrasyonunun arttığı dönemlerde bitki daha fazla enerji harcayarak daha az su tüketmektedir. Bu durum bitkisel üretim açısından verim ve kalite kayıplarına neden olur. Tuzlu topraklarda bu kayıpları azaltacak dayanıklı bitki tür ve çeşitlerine ihtiyaç bulunmaktadır (Yurtseven ve Bozkurt, 1997; Yurtseven, 2000; Yurtseven ve ark., 2001).

'Yüksek besin içeriğinin yanında ekstrem ekolojik şartlara (kuraklık, don, tuzluluk vb) dayanıklılığı kinoayı ilgi odağı haline getirmiştir (Yazar ve Kaya, 2014). Bölgemizde aşırı tuzluluk ve alkalilik nedeniyle bir çok üründe yüksek kalite ve verim kayıpları görülmektedir. Marjinal alanların değerlendirilebilmesi için, bu bitkilerin tuzluluğa ne kadar toleranslı olduklarının bilinmesi gerekmektedir (Gonzalez ve ark., 2009).'

Bu çalışmada kinoa tohumlarına GA₃ (Giberellik asit) uygulanarak tuzlu topraklardaki tuzun olumsuz etkilerini ne kadar hafifletebileceği araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma, 2019 yılında, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölüm Laboratuvarında Faktöriyel Düzende Tesadüf Parselleri Deneme Deseni'ne göre 4 tekerrürlü olarak petri kaplarında yürütülmüştür. Araştırmada, "Titicaca" kinoa çeşidi kullanılmıştır.

Araştırmada, dört farklı GA₃ (0, 100, 200 ve 300 ppm) ve dört farklı tuz seviyesi (0, 100, 200 ve 400 mM NaCl) belirlenmiştir. Deneyler, 4 tekerrürlü olmak üzere toplam 64 petri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ardından, GA₃ (100, 200 ve 300 ppm) ve distile su (H₂O) içinde, nem içerikleri % 12-13 oluncaya dek, 12 saat boyunca 25±1°C'de karanlık koşullarda bekletilmiştir (Kuşcu ve ark., 2017). Bekleme süresi sonrasında tohumlar süzülüp iki kat kurutma kâğıdı yerleştirilmiş 9 cm çapındaki petri kaplarına 20'şer tohum olacak şekilde yerleştirilmiştir. Daha sonra hazırlanan farklı dozlardaki NaCl solüsyonlarından (50, 100, 200 mM) ve saf sudan (kontrol için kullanılan petrideki tohumların su ihtiyacı için 5'er ml uygulanmıştır). Bu uygulamalar sonrasında petrilerdeki tohumlar 25±1 °C sıcaklık koşullarında çimlenme ve çıkış testi için inkübatöre yerleştirilmiştir (Resim 1). Tohumlardaki başlangıç testleri ISTA (1996) kurallarına göre belirlenmiştir. Bu kurallar gereğince inkübasyon periyodu 14 gündür (ISTA, 1996).

Bu çalışmada;

Çimlenme gücü (%), çimlenme oranı (%), çimlenme indeksi(%), ortalama çimlenme süresi (gün), hassaslık



Şekil 1. Petri kaplarında çimlenmeye bırakılan kinoa tohumları
Figure 1. *Quinoa seeds for germination in petri dishes*

indeksi (%), kök uzunluğu (cm), gövde uzunluğu (cm), kök yaş ağırlığı (mg), kök kuru ağırlığı (mg), gövde yaş ağırlığı (mg) ve gövde kuru ağırlığı (mg) değerleri incelenmiştir. Buna göre;

1-Kinoanın 7. günde çimlenen tohum sayısının "çimlenme oranı",

2-14. günde çimlenen tohum sayısının "çimlenme gücü",

3-Çimlenme oranı (GR):14.güne kadar çimlenme yapan toplam tohum sayısı / Toplam ekilen tohum sayısı (Akıncı ve Çalışkan, 2010),

4-Çimlenme endeksi (GI): $GI = \sum (Gi / Tt)$ (Wang ve ark, 2004),

GI: Çimlenme endeksi; Gi: .ci gün tohum çimlenme oranı; Tt: gün sayısı

5-Ortalama çimlenme süresi (MGT): Aşağıdaki endeks kullanılarak hesaplanmıştır (Ellis ve Roberts, 1980),

$$MGT = \sum (fx) / \sum f$$

f: Çimlenen tohum sayısı; x: çimlenme günü

6-Hasaslık indeksi (SI) : Aşağıdaki formül kullanılmıştır (Foolad ve Lin, 1997).

$SI = \text{tuz uygulamasında MGT} / \text{kontrol uygulamasında MGT}$.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri COSTAT (sürüm 6.3) paket programı; verilerin çoklu karşılaştırma testleri ise Duncan testine göre yapılmıştır (Düzgünes ve ark. 1987).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre; GA₃ (giberellik asit) ön uygulamasına tabi tutulmuş kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) tohumunda çimlenme

özelliklerine ait tüm parametrelerde tuzluluğun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 1, Çizelge 2).

GA₃ ön uygulamasına tabi tutulmuş kinoa tohumlarında en yüksek çimlenme gücü % 60.00 ile 0 mM ile NaCl uygulamasından elde edilirken, en düşük değer ise (% 37.50) 400 mM tuz (NaCl) konsantrasyonundan elde edilmiştir (Çizelge 1). Artan tuz dozlarının çimlenme gücünü azalttığı görülmüştür (Sharma ve ark. 2004). Giberellik asit ön uygulamasının çimlenme gücü üzerine etkisi ise önemli olup, en yüksek çimlenme gücü % 88.33 oranı ile 300 ppm GA₃ uygulamasından en düşük değer ise %10.42 kontrol (0 ppm) uygulamasından elde edilmiştir. Tuz dozlarının aksine artan gibberellik asit dozlarının çimlenme oranı başta olmak üzere diğer çimlenme özellikleri üzerine etkisinin olumlu ve önemli olduğu tespit edilmiştir. Kinoa tohumları üzerine tuz x GA₃ interaksyonları önemli olup, en yüksek çimlenme gücü 0 mM tuz dozunda 300 ppm GA₃ kontrasyonundan (%100) elde edilirken, en düşük değerler (%8.33) 200 ve 400 mM tuz konsantrasyonu uygulamalarında tespit edilmiştir. Araştırmamızdan elde edilen sonuçlara göre; GA₃ uygulamaları, tohumların çimlenme güçlerinin artmasına neden olmuştur. Yürütülen benzer araştırmalarda artan tuz konsantrasyonlarının bu oranlar üzerinde olumsuz ve önemli etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Khan ve ark. 2005; Kızılgücü ve ark. 2010).

Araştırma sonucunda elde edilen verilere göre; kinoa tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine GA₃, tuz ve bunların interaksyonları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek ortalama çimlenme oranı (% 100) 0 mM tuz dozundan, en düşük oran (% 42.50) ise

400 mM tuz konsantrasyonundan elde edilmiştir. Artan tuz konsantrasyonunun bitkilerde su alımını azalttığı gibi çimlenme oranı üzerinde önemli ancak olumsuz etkileri olmuştur (Khan ve ark. 2005). Gibberellik asit dozlarında ise kademeli artışların çimlenme oranını olumlu etkilediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek çimlenme oranı %91.66 oranı ile 300 ppm, en düşük oran (% 14.16) ise 0 ppm dozundan elde edilmiştir. Çimlenme oranı değerleri

GA₃ x tuz interaksiyon değerleri de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek çimlenme oranı 0 ve 100 mM tuz konsantrasyonunda elde edilirken (% 100), en düşük oran ise 100, 200 ve 400 mM tuz konsantrasyonunda (% 8.33) tespit edilmiştir. Yuonesi ve Moradi (2015), yürüttükleri bir çalışmada tuz stresine karşı GA₃ ön uygulamasının çimlenme özelliklerine olumlu etki ettiğini belirtmişlerdir.

Çizelge 1. Gibberellik asit uygulamasına tabi tutulan kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) tohumlarında tuz stresinin çimlenme özellikleri üzerine etkisi

Table 1. Effect of salt stress on germination characteristics of kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Seeds treated with gibberellic acid

Stres Uygulamaları		Çimlenme Gücü (%)	Çimlenme Oranı (%)	Ortalama Çimlenme Süresi (gün)	Çimlenme İndeksi (%)	Hassaslık İndeksi (%)
Tuz Dozları	GA ₃					
Kontrol (T0)	GA0	16.67 d	16.67 c	3.66 b	0.67 c	0.00
	GA100	28.33 c	40.00 b	3.83 a	1.63 b	0.82
	GA200	95.00 a	95.00 a	2.38 c	4.69 a	0.28
	GA300	100.00 a	100.00 a	0.81 d	5.61 a	0.11
T0 Ortalama		60.00 A	62.92 A	2.67 A	3.15 A	0.30 B
100 mM (T100)	GA0	8.33 d	23.33 c	3.90 a	0.42 c	0.07
	GA100	40.00 c	43.33 b	4.10 a	1.31 b	0.33
	GA200	90.00 a	93.33 a	2.65 c	4.15 a	0.77
	GA300	100.00 a	100.00a	0.26 d	5.28 a	0.93
T100 Ortalama		59.58 A	65.00 A	2.72 A	2.79 A	0.52 A
200 mM (T200)	GA0	8.33 d	8.33 c	4.15 a	0.48 c	0.08
	GA100	26.67 c	40.00 b	2.91 c	0.81 c	0.14
	GA200	66.67 b	66.67 b	2.66 c	3.21 b	0.55
	GA300	83.33 a	90.00 a	0.40 d	4.32 a	0.76
T200 Ortalama		46.25 B	51.25 B	2.53 A	2.20 B	0.38 B
400 mM (T400)	GA0	8.33 d	8.33 c	3.66 b	0.42 c	0.07
	GA100	10.00 d	16.67 c	3.41 b	0.64 c	0.11
	GA200	61.67 b	68.33 b	1.25 d	2.48 b	0.44
	GA300	70.00 b	76.67 b	0.35 d	3.77 b	0.67
T400 Ortalama		37.50 B	42.50 B	2.16 B	1.82 B	0.32 B
GA3 Doz Ort.	GA0	10.42 C	14.16 D	3.84 A	0.49 D	0.06
	GA100	26.25 B	35.00 C	3.56 B	1.09 C	0.35
	GA200	84.17 A	80.83 B	2.23 C	3.63 B	0.51
	GA300	88.33 A	91.66 A	0.45 D	4.74 A	0.61
VK (%)		12.3	13.4	12.7	11.8	12.3

GA: Gibberellik asit, GA0: Kontrol dozu To: Kontrol Tuz Dozu, VK(%): Varyasyon katsayısı.

*Ortalamalar arasındaki fark Duncan çoklu karşılaştırma yöntemiyle P<0.05 ve P<0.01 seviyesinde değerlendirilmiştir.

GA₃ ön uygulamasına tabi tutulmuş kinoa tohumlarında ortalama çimlenme gün sayısı üzerine GA₃, tuz ve bunların interaksiyonları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo 1). En kısa ortalama çimlenme süresi 2.53 gün ile 200 mM tuz dozundan, en uzun süre ise 2.72 gün ile 100 mM tuz konsantrasyonundan elde edilmiştir. Artan tuz konsantrasyonu bitkilerde su alımını azalttığı gibi ortalama çimlenme sürelerini uzattığı tespit edilmiştir (Kuşcu ve ark., 2017). Gibberellik asit dozlarında ise kademeli artışların çimlenme sürelerini kısalttığı görülmüştür. En kısa çimlenme süresi 300 ppm (0.45 gün) en uzun süre ise 0 ppm

(3.84 gün) olarak ölçülmüştür. Ortalama çimlenme süresi üzerine GA₃ x tuz interaksiyonu önemli bulunmuştur (Çizelge 1). En uzun ortalama çimlenme süresi 4.15 gün ile 200 mM tuz konsantrasyonunda 0 ppm GA₃ ön uygulamasından elde edilirken, en kısa süre 0.26 gün ile 300 ppm GA₃ ön uygulamasındaki 100 mM tuz konsantrasyonundan elde edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre; artan tuz dozlarının, çimlenme gün sayısı üzerine önemli ancak olumsuz etkileri olmuştur. Taiz ve Zeiger (2002), benzer bir çalışmada NaCl konsantrasyonlardaki artışın osmotik dengeyi bozarak çimlenme sürelerini uzattığını belirtmişlerdir.

Çimlenme indeksi değerlerini istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 1). Artan tuz konsantrasyonlarındaki çimlenme indeksi değerlerini azalttığı tespit edilmiştir (Kuşcu ve ark., 2017). En yüksek indeks değeri % 3.15 ile tuz uygulanmayan kontrol grupla elde edilirken, en düşük indeks değeri (% 1.82) 400 mM tuz konsantrasyonundan elde edilmiştir (Çizelge 1). Çimlenme indeksi değerlerinde en yüksek oran (% 3.77) 300 ppm GA₃ dozundan; en düşük oran (% 0.42) 0 ppm GA₃ dozundan elde edilmiştir. En düşük indeks değeri ise % 0.42 olarak bulunmuştur (100-400 mM, 0 ppm). Benzer araştırmalarda buna yakın sonuçlar elde edilmiştir (Yuonesi ve Moradi, 2015).

Çalışmamızda, kinoa tohumlarının hassaslık indeksi değerleri, artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak anlamlı değişimler göstermiştir (Çizelge 1). İndeks değeri, 100 mM NaCl uygulamasında % 0.52 ile en yüksek olurken; 200 ve 400 mM NaCl uygulamalarında azalmalar (% 0.38 ve 0.32) göstermiştir. Yuonesi ve Moradi de çalışmalarında (2015), artan tuz konsantrasyonlarının, çimlenme indeksi değerlerinde olduğu gibi hassaslık indeksi değerlerinde de azalmalara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Laboratuvar ortamında elde edilen sonuçlara göre kinoa tohumlarında kök uzunluğu değerleri uygulamalar ve bunların interaksiyonları bakımından önemli çıkmıştır (Çizelge 2). En düşük kök uzunluğu (1.25 cm) 400 mM tuz konsantrasyonunda, en yüksek kök uzunluğu (4.57 cm) tuz uygulanmayan kontrol grupta elde edilmiştir. Tuz gibi stress kaynaklarının çimlenme ve kök uzunluğunu önemli ancak olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir (Ikuma ve Thimann, 1963) Gibrellik asit uygulamalarında ise en uzun kök 7.78 cm ile 300 ppm dozundan elde edilirken, 0 ppm GA₃ dozundan kök uzunluğu ölçülemez. Artan GA₃ ön uygulamaları tohumda çimlenmeyi teşvik ettiği gibi kök uzunluğunda artma meydana getirmiştir (Saharma ve ark., 2004). Tuz x GA₃ interaksiyonunda ise en uzun kök uzunluğu 11.87 cm (0 mM x 300 ppm) iken, tüm tuz dozları ile 0 ppm GA₃ dozunda kök uzunluğu ölçülemez. Tuz stres altındaki tohumların su alma yeteneklerinde önemli azalmalar meydana geldiğinden, kök ve sürgün oluşumu meydana gelmemiştir (Kızılgöçü ve Yıldırım, 2014).

Araştırma sonuçlarına göre; uygulamaların gövde uzunluğu üzerine etkileri önemli bulunmuştur (Çizelge 2). Tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak en uzun gövde uzunluğu (5.98 cm) 100 mM tuz dozundan, en kısa gövde uzunluğu (1.50 cm) 400 mM tuz dozundan ölçülmüştür. Tuzun bu baskılayıcı özelliğine rağmen artan gibrellik asit dozlarının gövde uzunluğunu artırdığı görülmüştür (Çavuşoğlu, 2006). En uzun gövde uzunluğu (5.59 cm) 300 ppm GA₃ dozundan, en düşük gövde uzunluğu (0.24 cm)

GA₃ uygulanmayan (0 ppm) gruptan elde edilmiştir. Tuz x GA₃ interaksiyonunda ise en uzun gövde uzunluğu 100 mM NaCl x 200 ppm GA₃ uygulamasından (10.78 cm) elde edilmiştir. GA₃ uygulanmadığında (0 ppm), 0 ve 400 mM tuz konsantrasyonlarında çıkış olmadığından gövde uzunluğu da ölçülemez. Tuz stresini altındaki tohumların su alma yetenekleri azalarak, çimlenme ve ilk fide oluşumunu sekteye uğratarak azaltmıştır (Kızılgöçü ve Yıldırım, 2014).

Elde edilen sonuçlara göre; yaş ve kuru kök ağırlıkları üzerine uygulamalardan elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 2). Tuz stresine maruz bırakılan kinoa tohumlarında en yüksek yaş ve kuru kök ağırlıkları sırasıyla 3.35 ve 0.42 mg ile 100 mM NaCl uygulamasından elde edilirken, en düşük değerler ise (0.90 ve 0.02 mg) 400 mM NaCl konsantrasyonundan elde edilmiştir. Artan tuz konsantrasyonları tohumların su alımının etkilediği gibi yaş ve kuru kök ağırlıklarını azalttığı görülmüştür (Kızılgöçü ve Yıldırım, 2014). Gibrellik asitin yaş ve kuru kök ağırlıkları üzerine etkileri önemli olup, en yüksek yaş ve kuru kök ağırlıkları 4.70 ve 0.04 mg ile 400 ppm uygulamasından elde edilmiştir. GA₃ 0 ppm dozunda ise en düşük değerler 0.01 ve 0.00 ile 0 ppm dozundan tespit edilmiştir. Artan GA₃ uygulamaları su alımını artmasına ve dolayısıyla enzimatik faaliyetlerin daha hızlanarak kök yaş ve kuru ağırlıklarına önemli ve olumlu etkisi olmuştur (Çavuşoğlu, 2006). Kinoa tohumları üzerine tuz x GA₃ interaksiyonları da istatistiksel olarak önemli çıkmıştır. En yüksek yaş ve kuru kök ağırlıkları 7.50 ve 1.10 mg ile 0 mM tuz ve 300 ppm GA₃ konsantrasyonundan elde edilirken, en düşük ağırlık değerleri sırasıyla (0.01 ve 0.00 mg) tüm tuz konsantrasyonlarında 0 ppm GA₃ uygulamasında tespit edilmiştir. Araştırmamızda elde edilen sonuçlara göre GA₃ uygulamalarının yaş ve kuru kök ağırlığını nispeten artırdığı görülmüştür. Shahzad ve ark. (2012), yerel ekmeçlik buğday çeşitleri ile yürüttükleri bir çalışmada; artan tuz konsantrasyonlarında yaş ve kuru kök ağırlıklarının azaldığını tespit etmişlerdir. Bu parametrenin ıslah çalışmalarında kullanılabileceği belirtilmiştir.

Araştırma sonunda elde edilen sonuçlara göre; yaş ve kuru gövde ağırlıklarının uygulamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 2).

Elde edilen sonuçlar itibari ile yaş ve kuru gövde ağırlıkları arasındaki sonuçlar uygulamalar itibari ile paralellik göstermektedir. En yüksek yaş ve kuru gövde ağırlıkları sırasıyla 40.25 ve 5.75 mg ile 100 mM (NaCl) uygulamasından elde edilirken, en düşük değerler ise (1.50, 0.50 mg) 400 mM tuz (NaCl) konsantrasyonundan elde edilmiştir. Benzer araştırmalarda artan tuz konsantrasyonlarının bitkilerde yaş ve kuru gövde ağırlıklarını azalttığı belirtilmiştir (Muhammad ve Hussain 2012; Akbari

ve ark., 2007; Kızılgücü ve Yıldırım, 2014). Giberellik asitin yaş ve kuru kök ağırlıkları üzerine etkileri önemli olup, en yüksek yaş ve kuru kök ağırlıkları 42.00 ve 5.50 mg ile 300 ppm uygulamasından elde

edilmiştir. GA₃ uygulamasının 0 ppm olduğu dozlarda yaş ve kuru gövde ağırlıkları elde edilememiştir. Kinoa tohumları üzerine tuz x GA₃ interaksyonlarında istatistiksel olarak önemli çıkmıştır.

Çizelge 2. Giberellik asit uygulamasına tabi tutulan kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) tohumlarında tuz stresinin çimlenme özellikleri üzerine etkisi

Table 2. Effect of salt stress on germination characteristics of kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Seeds treated with gibberellic acid

Stres Uygulamaları		Kök Uzunluğu (cm)	Gövde Uzunluğu (cm)	Kök Yaş Ağırlığı (mg)	Kök Kuru Ağırlığı (mg)	Gövde Yaş Ağırlığı (mg)	Gövde Kuru Ağırlığı (mg)
Kontrol (T0)	GA0	0.00 c	0.00 c	0.01c	0.00 c	0.00 d	0.00 c
	GA100	0.23 c	4.77 b	3.00 c	0.00 c	11.00 b	0.02 b
	GA200	6.18 a	6.35 a	2.90 a	0.60 b	68.00 a	7.00 a
	GA300	11.87 a	6.90 a	7.50 a	1.10 a	78.00 a	8.00 a
T0 Ortalama		4.57 A	4.50 AB	3.35 A	0.42 B	39.50 A	3.75 A
100 mM (T100)	GA0	0.00 c	0.51 c	0.01 c	0.00 c	1.00 d	0.00 c
	GA100	1.20 b	6.87 a	0.00 c	0.01 c	21.00 b	4.00 b
	GA200	5.46 a	10.78a	5.00 b	0.08 a	61.00 a	9.00 a
	GA300	10.46 a	5.78 a	5.10 a	0.08 a	78.00 a	10.00 a
T100 Ortalama		4.28 B	5.98 A	2.52 A	0.04 A	40.25 AB	5.75 A
200 mM (T200)	GA0	0.00 c	0.46 c	0.01 c	0.00 c	0.00 d	0.00 c
	GA100	0.12 c	2.60 b	1.00 c	0.01 c	2.00 c	0.00 c
	GA200	1.14 b	2.87 b	1.00 b	0.03 b	7.00 b	2.00 b
	GA300	5.43 a	6.28 a	3.90 b	0.06 a	8.00 b	3.00 b
T200 Ortalama		1.67 B	3.05 BC	1.47 B	0.03 B	4.25 BC	1.25 B
400 mM (T400)	GA0	0.00 c	0.00 c	0.01 c	0.00 c	0.00 d	0.00 c
	GA100	0.00 c	0.27 c	0.00 c	0.00 c	0.00 d	0.00 c
	GA200	1.62 b	2.32 b	1.20 b	0.04 b	3.00 c	1.00 b
	GA300	3.37 b	3.40 b	2.60 b	0.05 b	3.00 c	1.00 b
T400 Ortalama		1.25 B	1.50 C	0.90 B	0.02 B	1.50 C	0.50 B
GA3 Doz Ort.	GA0	0.00 C	0.24 C	0.01 C	0.00 C	0.00 C	0.00 C
	GA100	0.38 C	3.16 B	1.00 C	0.02 B	8.50 B	1.00 B
	GA200	3.60 B	5.58 A	2.50 A	0.04A	34.75 A	4.75 A
	GA300	7.78 A	5.59 A	4.70 A	0.04A	42.00 A	5.50 A
VK (%)		3.97	5.57	6.67	3.98	4.01	4.63

GA: Giberellik asit, GA0: Kontrol dozu To: Kontrol Tuz Dozu, VK(%): Varyasyon katsayısı.

*Ortalamalar arasındaki fark Duncan çoklu karşılaştırma metoduyla P<0.05 ve P<0.01 seviyesinde değerlendirilmiştir.

En yüksek yaş ve kuru gövde ağırlıkları 78.00 ve 10.00 mg ile 100 mM tuz ve 300 ppm GA₃ konsantrasyonundan elde edilirken, en düşük değerler ise tuz stresinden dolayı çimlenme ve ilk fide gelişimi meydana gelmediğinden dolayı yaş ve kuru ağırlık değerleri elde edilememiştir. Benzer araştırmalarda (Datta ve ark., 1998; Kaur ve ark., 1998; Çavuşoğlu, 2006) GA₃, Kin ve E ön uygulamalarının tuz stresine maruz bırakılan buğday, arpa ve nohut fidelerinde koleoptil ve epikotil gelişme yüzdesi başta olmak üzere kök ve gövde uzaması ile taze yaş ağırlığı artırdığı tespit edilmiştir. Bu büyüme düzenleyicileri özellikle zarar gören hücre membranlarının (Taylor and Cosgrove, 1989) stabilizasyonunu sağlayarak hidrolitik enzimlerin sentezini teşvik etmektedir. (Taylor ve Cosgrove,

1989; Kaur ve ark., 1998). Bunun sonucunda; hücre bölünmesini (Liu and Loy, 1976) izleyen protein ve nükleik asit miktarlarının artmasına (Mozer, 1980) ve tuz teşvikli ABA inhibisyonunu ortadan kaldırarak olumlu etki yapmıştır (Khan ve Ungar, 2001).

SONUÇ

Bu araştırma sonuçlarına göre kinoa tohumlarında GA₃ ön uygulamasının artan tuz (NaCl) dozlarına karşı önemli ve olumlu etkisi olduğu görülmüştür. Birçok araştırmacı tarafından belirtilen çimlenme özelliklerine ait tüm parametrelerde tuz stresinin fizyolojik baskısı somut olarak tespit edilmiştir. Özellikle yüksek tuz konsantrasyonunda su alımı sekteye uğradığı gibi enzimatik aktivite yavaşlığına

bağlı büyüme gelişme geriliği görülmektedir. Ancak GA₃ dozlarının belli bir noktaya kadar tuzun bu olumsuz etkilerini azalttığı ve çimlenme özellik ve parametreleri üzerinde olumlu ve önemli katkı sağladığı görülmüştür.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Akıncı IE, Caliskan U 2010. Effect of lead on seed germination and tolerance levels in some summer vegetables. *Ekoloji Dergisi*, 19: 164-172.
- Azizi M, Chehrazai M, Zahedi SM 2011. Effects of salinity stress on germination and early growth of sweet william (*Dianthus barbatus* L.). *Asian Journal of Agricultural Sciences*, 3(6): 453-458.
- Çavuşoğlu K 2006. Geleneksel hormonlarla son yıllarda bulunan bazı hormonların ve büyüme düzenleyicilerinin yüksek sıcaklık ve tuz (NaCl) stresleri altındaki arpa ve turp tohumlarının çimlenmesi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması. SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 161 s.
- Datta KS, Varma SK, Angrish R, Kumar B, Kumari P 1998. Alleviation of salt stress by plant growth regulators in *Triticum aestivum* L. *Biologia Plantarum*, 40(2), 269-275.
- Duzgunes O, Kesici T, Kavuncu O, Gurbuz F 1987. Research and experimental methods. *Statistical Methods-II*. Ankara University, Agri Faculty Press, 1021, 295.
- Ellis RH, Roberts EH 1980. Towards a rational basis for testing seed quality. In *Seed Production* (Ed: P.D. Hebbleth waite), 1: 605-635.
- FAO., 2017. Plataforma de información de la quinua. <http://www.fao.org/in-action/quinua-platform/en/>. (Erişim tarihi : 25/05/2019).
- Foolad MR, Lin GY 1997. Genetic potential for salt tolerance during germination in *Lycopersicon* species. *Horticultural Science*, 32: 296-300.
- González JA, Gallardo M, Hilal M, Rosa Prado FE 2009. Physiological responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to drought and waterlogging stresses: Dry Matter Partitioning. *Botanical Studies*, 50: 35-42.
- Ikuma H, Thimann KV 1963. Action of kinetin on photosensitive germination of photosensitive lettuce seeds. *Plant and Cell Physiology*, 41, 169-185.
- ISTA 1996. International rules for seed testing, Edition 1996/6. International Seed Testing Association, Zurich. Switzerland, 196 p.
- Kaur S, Gupta AK, Kaur N 1998. Gibberellin (GA₃) reverses the effect of salt stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings by enhancing amylase activity and mobilization of starch in cotyledons. *Plant Growth Regulation*, 26, 85-90.
- Kaya E, Karaer M 2017. Kinoa yetiştiriciliği ve sağlık açısından önemi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*. 10 (2): 21-26.
- Khan BA, Khan AN, Khan TH 2005. Effect of salinity on the germination of fourteen wheat cultivars. *Gomal University Journal of Research*, 21: 31-33.
- Khan MA, Ungar IA 2001. Role of dormancy regulating chemicals in release of innate and salinity-induced dormancy in *Sporobolus arabicus* Boiss. *Seed Science Technology*, 29, 299-306.
- Kır AE, Temel S 2017. Iğdır ekolojik koşullarında farklı kinoa çeşit ve populasyonlarının tohum verimi ve bazı özelliklerinin belirlenmesi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi 71s.
- Kızılgeçici F, Yıldırım M, Akıncı C 2010. Bazı ekmeklik buğday genotiplerinin tuzluluğa tepkilerinin belirlenmesi 1. Uluslararası Katılımlı Kamu-Üniversite-Sanayi İşbirliği Sempozyumu ve Mermercilik şurası, 24-26 Mayıs 2010: 301-307, Diyarbakır.
- Kuşçu H, Çayğaracı A, Ndayizeye JDD 2017. Tuz stresinin bazı kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) çeşitlerinin çimlenme özellikleri üzerine etkisi. *Ü. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32 (1): 89-99.
- Mozer TJ 1980. Control of protein synthesis in barley aleurone layers by the plant hormones gibberellic acid and abscisic acid. *Cell*, 20 (2): 479-485.
- Miranda M, Vega-Galvez A, Quispe-Fuentes I, Rodriguez MJ, Maureira H, Martinez EA 2012. Nutritional aspects of six quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) ecotypes from there geographid areas of Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(2): 175-181.
- Özkaya B 1999. Tahılların neden olduğu alerjiler ve önemi-2. *Food Hi-Tech*, Mart, 82-88.
- Pearsall DM 1992. The origins of plant cultivation in South America. In: C.W.Cowan, P.J.Watson (Eds.), *The Origins of Agriculture*. Smithsonian Institute Press, Washington, DC, pp:173-205.
- Sharma AD, Thakur M, Rana M, Singh K 2004. Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphoaphatse activities in *Sorghum bicolor* (L.) moench seeds. *Africa Journal Biotechnology*, 3: 308-312.
- Taiz L, Zeiger E 2002. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 690 p.
- Taylor A, Cosgrove DJ 1989. Gibberellic acid stimulation of Cucumber hypocotyl elongation: effects on growth, turgor, osmotic pressure, and cell wall properties. *Plant Physiology*, 90, 1335-1340.

- Wang YR, Yu L, Nan ZB, Liu YL 2004. Vigor tests used to rank seed lot quality and predict field emergence in four forage species. *Crop Sci.*, 44 (2):535-541.
- Yazar A Kaya Ç 2014. A new crop for salt affected and dry agricultural areas of turkey: quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences, Special Issue: 2: 1440-1446.*
- Yurtseven E, Bozkurt DO 1997. Sulama suyu kalitesi ve toprak nem düzeyinin marulda verim ve kaliteye etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 3(2): 44-51.
- Yurtseven E, Baran HY 2000. Sulama suyu tuzluluğu ve su miktarlarının brokolide (*Brassica oleracea* botrytis) verim ve mineral madde içeriğine etkisi. *Turk. Journal Agriculture For* 24(2):185-190.
- Younesi O, Muradi A 2015. Effect of different priming methods on germination and seedling establishment of two medicinal plants under salt stress conditions. *Cercetari Agronomice în Moldova* 48 (3) Iasi: Editura "Ion Ionescu de la Brad", 43-51.
- Yurtseven E, Öztürk HS, Demir, K Kasım MU, 2001. Sulama suyu tuzluluğunun tınlı toprakta profil tuzluluğuna etkisi. *Ankara Üniversitesi, Tarım Bilimleri Dergisi*. 7:3:1-8.
- Zheng C, Jiang D, Liu F, Dai T, Liu W, Jing, Q, Cao W 2009. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. *Environ. Exp. Bot.*, 67: 222-227.



Buğday Alanlarında Sorun Olan Kısır Yabani Yulaf (*Avena sterilis* L.) Popülasyonlarının Bitki Boyu ve Yaş Ağırlıklarına Bazı ALS ve ACCase İnhibitörü Herbisitlerin Etkileri

Hilmi TORUN

Biyolojik Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 01321-Yüreğir/Adana

<https://orcid.org/0000-0001-6730-8809>

✉: hilmiturun@hotmail.com

ÖZET

Bu çalışma 2013 ve 2014 yıllarında farklı etki mekanizmasına sahip olan Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS) ve Clodinafop-propargyl (ACCCase) herbisitlerinin kısır yabani yulaf (*Avena sterilis* L.) popülasyonlarına karşı etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Osmaniye ili buğday tarlalarından toplanan kısır yabani yulafa ait popülasyonlarla kurulan sera denemelerinde uygulanan herbisitlerin bitki boyu ve yaş ağırlığa olan etkileri incelenmiştir. Osmaniye ili yoğun buğday ekimi yapılan alanlarda Mayıs ayında her 3 km'de bir 50 noktada duruş yapılarak sadece 15 tarlada kısır yabani yulaf popülasyonlarına ait örneklemeler gerçekleştirilmiştir. Daha sonra buğday tarlalarından toplanan olgun kısır yabani yulaf tohumlarıyla sera denemeleri kurulmuştur. Popülasyonlarda bitki boyu ve yaş ağırlığa olan etkinin belirlenmesinde iki farklı etki mekanizmasına sahip herbisitün üç farklı (N/2, N: tavsiye dozu, 2N) dozu uygulanmıştır. Bitki boylarına göre tavsiye dozlarında ALS inhibitöründe popülasyonların %50'sinin, ACCCase inhibitöründe ise %27'sinin etkilendiği belirlenmiştir. Yaş ağırlıklarda ise ALS inhibitöründe %50'sinin, ACCCase inhibitöründe %20'sinin etkilendiği saptanmıştır. Popülasyonlar üzerinde tavsiye dozu başta olmak üzere, bitki boyu ve yaş ağırlığa olan genel etkiler ALS inhibitöründe daha yüksek saptanmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 22.05.2019

Kabul Tarihi : 19.07.2019

Anahtar Kelimeler

Avena sterilis
Clodinafop-propargyl
Mesosulfuron-methyl +
iodosulfuron-methyl sodium,
Bitki boyu ve yaş ağırlık,
Buğday

Determination of Effects on Weed Height and Weed Biomass of Wild Oat (*Avena sterilis* L.) Populations in Wheat Fields against ALS and ACCase Herbicides

ABSTRACT

This study was determined for the effect of Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS) and Clodinafop-propargyl (ACCCase) herbicides against wild oat (*Avena sterilis* L.) populations in 2013 and 2014. The effects of applied herbicides on weed height and weed biomass in greenhouse experiments established with wild oat populations collected from wheat fields of Osmaniye province were investigated. In intense wheat growing areas in Osmaniye province, stands were performed in 50 points in every 3 km in May and sampling was performed in only 15 fields of wild oat populations. Then, greenhouse tests were established with mature wild oat seeds collected from wheat fields. Three different (N/2, N: recommended dose, 2N) dose of herbicide with two different action mechanism were applied to determine the effect on height and biomass of weed populations. Population of weed height were evaluated that 50% of ALS inhibitor and 27% of ACCCase inhibitor were affected at recommended doses. It was also found that 50% of ALS inhibitor and 20% of ACCCase inhibitor had an effect on weed biomass. General effects on weed height and weed biomass, especially the recommended dose on populations were higher in ALS inhibitor.

Research Article

Article History

Received : 22.05.2019

Accepted : 19.07.2019

Keywords

Avena sterilis,
Clodinafop-propargyl,
mesosulfuron-methyl +
iodosulfuron-methyl sodium,
Weed height and weed biomass,
Wheat

GİRİŞ

Dünyada insan beslenmesi açısından stratejik ve önemli bir yere sahip olan tahıllarda yabancı otlarla mücadele edilmemesi durumunda yabancı otlar yoğun popülasyonlar oluşturarak kalite ve kantiteyi düşürür, verim kaybına sebep olurlar.

Tahıl alanlarında sorun olan Poaceae familyasına ait kısır yabancı yulaf türleri (*Avena* spp.) buğdayın önemli yabancı ot türlerindedir (Kadioğlu ve ark., 1990; Torner ve ark., 1991; Kadioğlu ve ark., 1993). Bu türler, buğdayın ışık, su ve besinine ortak olup, gelişimini etkileyerek rekabet güçlerini yükseltirler (Carlson ve Hill, 1985). Mücadele edilmediği takdirde yabancı yulaf türlerinin buğdaya oranla hızlı gelişmesi buğdaydaki veriminin azalmasına neden olmaktadır. Bu nedenle bu türlerle mücadelede üreticiler kısa vadede sonuç almak için kimyasal mücadeleye yönelmiştir. Kolay uygulanması, kısa sürede etki göstermesi ve maliyetinin az olması nedeniyle üretici tarafından tercih edilen kimyasal mücadele buğdayda yabancı ot kontrolünde günümüzde en çok kullanılan yöntemdir. Ancak üretici tarafından doğru dozda ve yabancı ot gelişim döneminde uygulanmamasıyla birlikte, kimyasal kullanımındaki artış yabancı ot popülasyonları üzerinde herbisit etkinliğinin azalmasına sebep olmuş ve kullanılan herbisitlerin bu türleri etkilemediği görülmüştür (Legere ve ark., 2000; Valverde, 2007). Ülkemizde buğdayda kimyasal mücadelede en çok kullanılan herbisitler ACCase (Acetyl-CoA carboxylase) ve ALS (Acetolactate synthase) etki mekanizmasına sahip herbisitlerdir ve aşırı kullanımı Türkiye'deki ömrünü de kısaltmıştır. Çukurova Bölgesi'nde kullanılan ACCase ve ALS inhibitörü herbisitlerin bazı yabancı ot türlerini etkilemediği ve buğday tarlalarında zamanla çoğalarak sorunlara neden olduğu bildirilmiştir (Yücel, 2004; Avcı, 2009; Ayata, 2014; Gürbüz, 2016; Torun, 2017).

Dünya genelinde yapılan çalışmalarda yabancı otlarla kimyasal mücadelede herbisit uygulamalarının yabancı otlar üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde bitkilerin, kök uzunluğu, tohum sayısı, yaprak fotosentez hızı, kuru ağırlığı ve yaş ağırlığı gibi parametreler baz alınarak incelenmiştir. Benzer şekilde Beckie ve Kirkland (2003) ACCase inhibitörü herbisit uygulamalarının *Avena fatua* popülasyonu üzerindeki etkileri belirlemek amacıyla popülasyon yoğunluğuna, tohum oluşturulmasına ve topraktaki tohum rezervlerinin canlılığına olan parametreleri incelemişlerdir. Batı Kanada'da Heap ve ark. (1993) dört tarlada *Avena fatua* popülasyonunda beş farklı ACCase inhibitörü (Diclofop-methyl, Fenoxaprop-P-ethyl, Quizalofop-ethyl, Sethoxydim, Tralkoxydim) herbisitleri denemiş ve sadece yarıya yakın popülasyonların çok daha yüksek dozlarda öldüğünü belirlemiştir. Ayrıca, yüksek dozda kök kuru

ağırlığının %27'sinde azalışların olabileceğini bildirmiştir. Amerika'da Seefeldt ve ark. (1994) *Avena fatua* popülasyonu örneklerinde ACCase inhibitörü Diclofop etkili maddesine karşı popülasyonların ışık kullanımının, bitki boyunun, kuru ağırlığının, yaprak yüzeyinin, kardeşlenme zamanının ve çiçeklenme sürelerinin birbirinden farklı olduğunu ortaya koymuştur.

Bu çalışmada 2013 ve 2014 yıllarında, ülkemizde buğdayın en önemli yabancı otlarından biri olan kısır yabancı yulaf (*Avena sterilis* L.)'ta iki farklı etki mekanizmasına sahip Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium ile Clodinafop-propargyl'in kısır yabancı yulaf popülasyonları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu sayede Osmaniye ilinde örneklemeye yapılan bazı kısır yabancı yulaf popülasyonlarının sera denemeleri sonucunda bitki boyu gelişimine ve yaş ağırlıklarına karşı gösterdiği değişimler belirlenmiş ve bu herbisitlerin farklı uygulama dozlarındaki etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmanın ana materyalini, Osmaniye ili [Kadirli (K), Sumbas (S), Merkez (M), Düziçi (D), Toprakkale (T) ve Hasanbeyli (H)] ilçeleri buğday tarlalarından toplanan olgun kısır yabancı yulaf (*Avena sterilis* L.) tohumları, 20 ml/da uygulama dozunda kullanılan Clodinafop-propargyl (240 g l⁻¹) etkili maddeli ACCase inhibitörü herbisit, 30 g/da + 100 ml (yayıcı-yapıştırıcı) uygulama dozunda kullanılan Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl-sodium + Mefenpeyr-diethyl (Yayıcı-Yapıştırıcı) (%3 + %0.6) etkili maddeli ALS inhibitörü herbisit, denemelerde 3 atm basınçla çalışan şarjlı sırt pülverizatörü (Matabi), sera denemelerinde kullanılan standart fide viyolleri ve yabancı ot yaş ağırlık tartımı esnasında kullanılan kese kağıtları oluşturmuştur.

Osmaniye ilinde yoğun buğday ekilen alanlarda her 3 km²'de bir rastlantısal olarak, duruş yapılan noktada buğday tarlasına girilerek 1 dekarlık alan içerisinde örneklemeye yapılmıştır. Toplam olarak 2013 yılında 50 buğday tarlasına girilmiş ve sadece olgun tohuma sahip 15 tarladan kısır yabancı yulaf popülasyonlarına ait örneklemeler yapılmıştır (Yücel, 2004; Ayata, 2014). İki yıl üst üste Mayıs ayı itibariyle aynı tarlalara gidilmiştir. Tarlalardan toplanan olgun tohumlar daha sonra laboratuvarında kavuzlarından ayrılmıştır. Kavuzları ayrılan tohumlar bir ay kadar +4°C buzdolabında bekletilerek dormansinin kırılması sağlanmıştır.

Sera çalışmaları, Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümüne ait seralarda yürütülmüştür. Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre dört tekerrürlü ve iki kez kurulmuştur. Çalışmada kullanılan materyali oluşturan toprak daha önce hiç herbisit kullanılmamış yerden temin edilmiş ve

viyollere konulan toprak materyali 1:1:1 oranında kum: çiftlik gübresi: toprak karışımından meydana gelmiştir. Kullanılan her viyolün bir çukur ebatı 5x5 cm olup, hazırlanmış olan toprak karışımı eşit miktarda olacak şekilde viyol çukurlarına dağıtılmıştır. Ardından tohumlar 2 cm derinliğe konduktan sonra doldurulmuştur (Yücel, 2004; Ayata, 2014; Gürbüz, 2016; Torun, 2017). Her çukura 3 adet kısır yabani yulaf tohumu ekilmiş ve 2-4 yapraklı dönemde ise en iyi gelişen bir adet kısır yabani yulaf bırakılarak herbisit uygulaması gerçekleştirilmiştir. Seçilen herbisitler yelpaze tipi meme kullanılarak uygulanmıştır. Örnekleme yapılan tarlalara ait popülasyonlardan elde edilen tohumlardan fideler yetiştirilerek, herbisitlerin üç farklı dozu (N/2, N: tavsiye dozu, 2N) uygulanmıştır.

Herbisitlerin uygulama öncesi bitki boyları ölçülerek birinci sayım, uygulama sonrasındaki 28. günde ikinci sayım yapılarak bitki boyları kaydedilmiştir. Herbisitlerin etkisini tam olarak göstermiş olduğu 28. gün sonunda bitkiler toprak yüzeyinden hasat edilmiştir (Uygur ve ark., 1984). Daha sonra bitki materyalleri kese kağıtları içerisine koyulmuş ve laboratuvarında yaş ağırlıkları alınmıştır. Bir aylık bir yetiştirme döneminden sonra herbisitlerin farklı uygulama dozları uygulanarak popülasyonlar içerisinde dozlar arasında kıyaslamalar yapılmıştır.

Bu sayede bitki boyu ve yaş ağırlık belirlenerek, kullanılan farklı etki mekanizmalarına sahip herbisitlerin durumu ortaya çıkarılmış, böylelikle hangi etki mekanizmasının aynı popülasyon içerisinde daha etkili olduğu saptanmıştır. Dozlara göre elde edilen bitki boyu ve yaş ağırlık sonuçlarına SPSS istatistik programında (ANOVA) analiz yapılmış (Anonim, 2009), popülasyonlar için elde edilen ortalama değerlere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Ayrıca popülasyonlar arasında tavsiye dozu hesaplanarak popülasyonların Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium ve Clodinafop-propargyl herbisitlerine karşı gösterdiği reaksiyon ortaya çıkarılmıştır (Abbott, 1925).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Osmaniye ilinde 2013 yılında yapılan survey sonrası 15 farklı buğday tarlasından toplanan kısır yabani yulaf popülasyonlarına ait örneklerle sera denemeleri kurulmuştur. Ardından 2014 yılında aynı tarlalarda örnekleme gerçekleştirilmiştir. Osmaniye’de Toprakkale’den bir adet, Hasanbeyli’den üç adet, Kadiri’den üç adet, Merkez’den iki adet, Düziçi’nden üç adet ve Sumbas’dan üç adet popülasyon denemelerde kullanılmıştır. Toplam 15 kısır yabani yulaf popülasyonu üzerinde iki farklı etki mekanizmasının bitki boy ve yaş ağırlık üzerindeki etkileri saptanmıştır (Çizelge 1, 2 ve 3). Osmaniye’de buğday tarlalarından getirilen kısır yabani yulaf popülasyonlarına ait tohumlar serada yetiştirilerek

Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium ve Clodinafop-propargyl herbisitleri uygulanmıştır.

Hasat sonrası yaş ağırlıklar kendi içinde incelendiğinde Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium’a 15 popülasyon içerisinde %50’sinin (yedi popülasyon) tavsiye dozunda istatistiki olarak etkilendiği belirlenmiştir. Tavsiye dozunda etkili olan popülasyonların yaş ağırlıklarının 0.53-0.64 g arasında değiştiği, kontrol popülasyonlarının 1.01-2.66 g arasında olduğu saptanmıştır. Bütün popülasyonlar içerisinde K9, K7 ve D6 popülasyonlarının sadece iki katı dozda %20’sinin etkilendiği kaydedilmiştir. Popülasyonların %25’inde (H5, D3, S7, S3) yaş ağırlıkların tavsiye dozu ile iki katı doz aralığında etki ettiği görülmüştür. Tavsiye dozu ile iki katı doz aralığında etki saptanan yaş ağırlıkların 0.52-0.79 g arasında olduğu belirlenmiştir. M3 popülasyonunun ise tavsiye dozunun yarısından itibaren istatistiki olarak etkilendiği belirlenmiştir (Çizelge 1).

Clodinafop-propargyl’in %20’sinin sadece üç popülasyonda (T5, H2, D6) tavsiye dozunda 0.80-0.86 g arasında etkilendiği gözlenmiştir. D3 popülasyonunun sadece iki katı uygulama dozunda ve K9, M11, D1 ile S7 popülasyonun %27’sinin tavsiye dozu ile iki katı doz aralığında etkilendiği istatistiki anlamda ortaya çıkarılmıştır. Clodinafop-propargyl herbisitinin H5, H4, K7, K6, M3, S5 ve S3 popülasyonlarında tavsiye edilen dozun yarısından itibaren etkili olduğu fakat gerek tavsiye dozu yaş ağırlığının, gerekse iki katı tavsiye dozu yaş ağırlığının istatistiki anlamda ve yaş ağırlık değişimi anlamında bu popülasyonlarda kendi içerisinde birbirine yakın oluşu uygulanan herbisit popülasyon içerisinde etkisiz olabileceğini kısaca etkinin görülmeyebileceğini düşündürmüştür. Sadece iki katı dozda etki görülen D3 popülasyonun yaş ağırlığının benzer şekilde minimum 0.82 g olduğu kaydedilmiştir. Kontrolün ise maksimum 1.65 g yaş ağırlığa sahip olduğu Çizelge 1’de gözlenmiştir. Kadioğlu ve ark. (1990) buğday ekim alanlarında kullanılan Dichlofop-methyl etkili maddeli herbisit kısır yabani yulafın mücadelesinde 2-4 yapraklı dönemde tek başına yeterli olduğunu, ancak ilerleyen gelişim döneminde bitki ağırlığının azaltılması için başka etki mekanizmasına sahip herbisitlerin mutlaka kombine edilerek kullanılması gerektiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Avustralya’da Mansooji ve ark. (1992) ACCase inhibitörleriyle kurdukları denemelerde *Avena* türlerine ait topladıkları popülasyonların sadece %67’sinin herbisitler tarafından etkilendiğini ve bitki ağırlıklarında azalmaların olabileceğini belirlemiştir.

Sera denemelerinde uygulamadan sonra seçilen bütün dozlarda Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium’un, Clodinafop-propargyl’e göre yaş ağırlığı daha fazla azalttığı gözlenmiştir (Çizelge 1). Ancak Heap ve Knight (1986) ACCase inhibitörü olan

Diclofop-methyl'i *Lolium rigidum* popülasyonlarına uygulamış, bu popülasyonlara aynı etki mekanizmasına sahip Fluazifop-butyl ve Oxyfluorfen

aktif maddelerini uygulayarak kullanılan tüm aktif maddelerin artık popülasyonlar üzerinde etkisi olmadığını bildirmiştir.

Çizelge 1. 2013 ve 2014 yıllarında Osmaniye ili örnekleme yapılan ilçelerde kısır yabani yulaf popülasyonlarıyla kurulan sera denemeleri sonucu Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS) ve Clodinafop-propargyl (ACCCase) herbisitlerinin bitki yaş ağırlığı (g) ortalamasına etkisi

Table 1. The effect of Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS) and Clodinafop-propargyl (ACCCase) herbicides on weed biomass (g) averages of screenhouse tests with wild oat populations in the sampling districts of Osmaniye province in 2013 and 2014

Yaş Ağırlık (g) Weed biomass (g)	Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS)				Clodinafop-propargyl (ACCCase)			
	Kontrol Control	N/2	N (Tavsiye dozu) Recommended dose	2N	Kontrol Control	N/2	N (Tavsiye dozu) Recommended dose	2N
Toprakkale 5(T5)	2.66 c	1.01 b CD	0.61 a AB	0.59 a BCD	1.35 b	1.27 b FG	0.86 a A	0.95 a B
Hasanbeyli 5(H5)	2.11 c	1.02 b CD	0.52 a A	0.67 ab DE	1.28 b	1.00 a BC	1.24 b BC	0.99 a B
Hasanbeyli 4(H4)	1.30 c	1.00 b CD	0.62 a AB	0.65 a DE	1.16 ab	0.93 a AB	0.87 a A	0.82 a AB
Hasanbeyli 2(H2)	1.80 c	1.02 b D	0.64 a AB	0.78 a FG	1.64 c	1.19 b EFG	0.83 a A	0.81 a AB
Kadirli 9(K9)	1.01 c	0.66 b A	0.63 b AB	0.49 a A	1.50 d	0.81 b A	0.73 a A	0.85 c AB
Kadirli 7(K7)	1.89 c	0.99 b CD	0.66 ab AB	0.52 a AB	1.62 b	1.04 a BCD	1.34 a C	1.24 a C
Kadirli 6(K6)	1.89 c	1.05 b BCD	0.53 a A	0.51 a AB	1.65 b	0.97 a B	0.95 a A	1.42 b D
Merkez 11(M11)	1.62 c	1.01 b CD	0.62 a AB	0.60 a CD	1.16 c	1.12 c CDE	0.82 a A	0.95 b B
Merkez 3(M3)	1.69 b	1.00 a CD	0.63 a AB	0.62 a DE	1.54 b	1.00 a BC	0.82 a A	0.88 a AB
Düziçi 6(D6)	1.12 d	0.89 c BC	0.63 b AB	0.53 a ABC	1.40 c	0.95 b B	0.80 a A	0.74 a A
Düziçi 3(D3)	1.06 d	0.86 c B	0.61 a AB	0.70 b EF	1.33 c	0.98 b BC	1.00 b AB	0.82 a AB
Düziçi 1(D1)	1.29 c	0.95 b BCD	0.61 a AB	0.64 a DE	1.38 c	1.17 bc DEF	0.83 a A	0.91 ab AB
Sumbas 7(S7)	2.20 c	1.28 b E	0.64 a AB	0.77 ab FG	1.53 b	1.23 ab EFG	0.92 a A	1.22 ab C
Sumbas 5(S5)	1.12 b	1.30c E	0.64 a AB	0.77 a FG	1.52 b	1.32 a G	1.28 a BC	1.43 ab D
Sumbas 3(S3)	1.15 d	1.01c CD	0.70 a B	0.79 ab G	1.51 b	1.29 a FG	1.27 a BC	1.43 ab D

*Aynı satırda farklı küçük harflerle ve aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre P<0.05 önem seviyesinde birbirinden farklıdır.

Popülasyonların yaş ağırlıkları incelendiğinde Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium'un tavsiye dozunda Clodinafop-propargyl'e göre daha fazla popülasyonda etki görülmüştür. Hatta Clodinafop-propargyl'in bazı popülasyonlarda (H5, H4, K7, K6, M3, S5 ve S3) yaş ağırlığa olan etkilerinin neredeyse tüm uygulama dozlarında aynı olduğu kaydedilmiştir. Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium herbisitinin tavsiye dozunda yaş

ağırlığa olan etkisinin (0,53-0,64 g), Clodinafop-propargyl herbisitine (0,80-0,86 g) göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Yaş ağırlığa göre Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium herbisitinin tavsiye dozu ile iki katı doz aralığında etki görülen popülasyonlarda (0,52-0,79 g) da benzer şekilde Clodinafop-propargyl herbisitine göre (0,74-0,95 g) daha fazla etki gözlenmiştir (Çizelge 1). Avustralya'da Preston ve Powles (2002) yaptıkları çalışmalarda tarlalarda uzun süre kullanılan ALS inhibitörü

herbisitleri *Lolium rigidum* popülasyonları üzerine uygulayarak bitki içerisindeki biyokimyasal döngüleri takip etmiştir. Bu popülasyonlara uygulanan ALS inhibitörü herbisitlerinin etkisinin çok kısa bir sürede kaybolabileceğini ve zamanla etkisini yitirebileceğini bildirmiştir. Popülasyonlar içerisinde tavsiye dozunda T5 ve H2'nin, tavsiye dozu ile iki katı doz aralığında S7'nin her iki inhibitor tarafından etkilendiği saptanmıştır. Popülasyonlar arasında Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium herbisitinin tavsiye dozunun yarısında K9 popülasyonunu, tavsiye dozunda H5 ve K6 popülasyonları ve sadece iki katında gene K9 popülasyonunda en etkili olduğu istatistiki olarak bulunmuştur. Clodinafop-propargyl tavsiye dozunun yarısında K9, tavsiye dozunda H5, K7, K3, D3 ve S5 popülasyonları hariç diğer tüm popülasyonlarda ve tavsiye dozunun iki katı uygulamasında istatistiki anlamda en fazla etki D6 popülasyonda belirlenmiştir. Ayrıca popülasyonlar arasında her iki herbisitte tavsiye dozunun yarısında K9'da, tavsiye dozunda K6'da en etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır (Çizelge 1).

Kısır yabancı yulaf bitki boylarında popülasyonların yarısının (K9, K6, M11, D6, D1, S5 ve S3) Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium tavsiye dozunda istatistiki anlamda etkilendiği, kontrol olarak bırakılan bitkilerin boy uzunluğunun H5 hariç tüm popülasyonlarda en yüksek olduğu Çizelge 2'de görülmektedir. Popülasyonların %20'sinin (H4, H2 ve S7) Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium herbisitinin tavsiye dozu ile iki katı doz aralığında bitki boylarını etkilediği belirlenmiştir. Geri kalan popülasyonlardan T5 ile D3'ün tavsiye dozunun yarısından itibaren etkilendiği kaydedilmiştir. H5, K7 ve M3 popülasyonlarının ise kendi içerisinde sadece tavsiye dozunun iki katında etkilendiği saptanmıştır. Kontrolde bitki boylarındaki değişimlere bakıldığında H5 (11 cm) örnekleme noktası dışında diğer popülasyonların 21.10-33.00 cm arasında olduğu gözlenmiştir. Tavsiye dozunda etki belirlenen K9, K6, M11, D6, D1, S5 ve S3 popülasyonlarında bitki boylarının 6.40-16.70 cm arasında değiştiği, tavsiye dozu ile iki katı doz aralığında etki görülen popülasyonlara ait boyların ise 4.40-14.00 cm arasında olduğu görülmüştür (Çizelge 2). Benzer bir çalışmada Tardif ve Powles (1993) *Avena sterilis*, *Lolium rigidum*, *L. multiflorum* ve *Sorghum halepense* popülasyonlarına karşı ruhsatlı tavsiye dozunda kullanılan bazı herbisitlerin popülasyonlar üzerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını bildirmiştir.

Clodinafop-propargyl herbisiti uygulaması sonrasında ikinci sayım olan 28. gün sonunda popülasyonların kendi içerisinde bitki boyları kıyaslandığında popülasyonların %27'sinin (H4, H2, D1, ve S3) tavsiye dozunda etki gördüğü, popülasyonların %35'inin tavsiye dozu ile iki katı doz aralığında (T5, H5, K7, M3

ve S5) etkilendiği saptanmıştır. H2 popülasyonunun kontrol bitki boy uzunluğu (15.50 cm) çok düşük bulunmuştur. Kontroldeki bitki boyu değişim aralığının 21.00-34,60 cm arasında olduğu, tavsiye dozunda bitki boylarının H4, H2, D1 ve S3 popülasyonlarında 7.50-14.90 cm arasında olduğu belirlenmiştir. Tavsiye dozu ile iki katı doz aralığında etki görülen popülasyonların bitki boylarındaki değişimlerde H5; 4.50 cm ile en düşük, S5; 20.60 ile en yüksek bulunmuş, diğer popülasyonlar bu boy uzunluğu aralığında değişkenlik göstermiştir (Çizelge 2). Adana'da yapılan bir çalışmada buğday ekim alanlarından toplanan *Phalaris brachystachys* popülasyonlarının artık kullanılan ACCase ve ALS inhibitörü herbisitlerine karşı tavsiye dozunda bitki gelişiminde herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Avcı, 2009). Clodinafop-propargyl tavsiye dozunun yarısında popülasyonların %27'sinin (K9, M11, D6 ve S7) kendi içerisinde etkilendiği ve sadece iki katı uygulama dozunda ise K6 ve D3 popülasyonlarının etkilendiği saptanmıştır (Çizelge 2).

Kısır yabancı yulaf bitki boylarına bakıldığında tavsiye dozunda D1 ve S3 popülasyonlarının iki herbisitte de etkilendiği belirlenmiştir. Tavsiye dozunda popülasyonun kendi içerisinde bitki boylarında etki görülen popülasyonların Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium'da 7.60-16.70 cm, Clodinafop-propargyl'de 7.50-21.40 cm arasında olduğu saptanmıştır. Kısaca Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium bitki boylarını Clodinafop-propargyl'e göre tavsiye dozda daha fazla etkilemiştir. Yine tavsiye dozu ile iki katı dozda etki görülen popülasyonların boy uzunluklarının Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium'da daha etkili olduğu da kaydedilmiştir. Popülasyonlar arası istatistiki anlamda Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium'un tavsiye dozunun yarısında D3'de, tavsiye dozunda H2'de ve tavsiye dozunun iki katı uygulamasında H5 popülasyonunda en yüksek etkiyi gösterdiği görülmüştür. Clodinafop-propargyl'de popülasyonlar arasında istatistiki olarak en yüksek etkinin tavsiye dozunun yarısında H4, D3, S7 ve S5'de, tavsiye dozunda H5'de ve tavsiye dozunun iki katı uygulamasında gene D3 popülasyonunda olduğu Çizelge 2'de görülmektedir. Ayrıca tüm popülasyonlar arasında her iki herbisit de D3 popülasyonunda tavsiye dozunun yarısında en etkilidir. Amerika'da Ball ve ark. (2007) *Bromus tectorum* popülasyonlarında yaptıkları çalışmada yedi yıl üst üste herbisitle kimyasal mücadele yapılan tarlaları seçmiş ve bu popülasyonlarda muhtemel ACCase inhibitörü olan Fluazifop-p etkili maddesine karşı etkinliğin popülasyonlar üzerinde yıldan yıla azaldığını gözlemiştir.

Çizelge 2. 2013 ve 2014 yıllarında Osmaniye ili örnekleme yapılan ilçelerde kısır yabani yulaf popülasyonlarıyla kurulan sera denemeleri sonucu Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS) ve Clodinafop-propargyl (ACCCase) herbisitlerinin bitki boyu (cm) ortalamasına etkisi

Table 2. The effect of Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS) and Clodinafop-propargyl (ACCCase) herbicides on weed height (cm) averages of greenhouse tests with wild oat populations in the sampling districts of Osmaniye province in 2013 and 2014

Bitki boyu (cm) Weed height (cm)		Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS)				Clodinafop-propargyl (ACCCase)			
		Kontrol Control	N/2	N (Tavsiye dozu) Recommended dose	2N	Kontrol Control	N/2	N (Tavsiye dozu) Recommended dose	2N
Toprakkale 5(T5)	1.Sayım	6.70	10.00	8.50	8.60	8.00	6.70	8.70	7.80
	2.Sayım	36.50	17.70	13.50	18.00	37.00	29.50	21.50	25.30
	Fark	29.80c	7.70ab AB	5.00a ABC	9.40b BCD	29.00d	22.80c CDE	12.80a CD	17.50b EF
Hasanbeyli 5(H5)	1.Sayım	7.00	7.50	7.90	9.20	9.10	7.70	7.50	8.10
	2.Sayım	18.00	22.30	15.50	12.50	35.10	28.30	12.00	20.60
	Fark	11.00b	14.80c C	7.60b ABCDE	3.30a A	26.00d	20.60c ABCD	4.50a A	12.50b CD
Hasanbeyli 4(H4)	1.Sayım	7.90	7.80	7.30	6.90	7.50	6.50	7.30	7.70
	2.Sayım	29.00	24.40	12.00	18.50	32.50	24.50	14.80	16.20
	Fark	21.10d	16.60c CD	4.70a AB	11.60b CDEF	25.00c	18.00b A	7.50a AB	8.50a AB
Hasanbeyli 2(H2)	1.Sayım	8.50	9.30	8.10	7.50	8.50	7.50	7.80	7.80
	2.Sayım	32.50	19.80	12.50	15.00	24.00	29.70	22.70	22.50
	Fark	24.00c	10.50b B	4.40a A	7.50ab B	15.50a	22.20b BCDE	14.90a D	14.70a DE
Kadirli 9(K9)	1.Sayım	7.40	8.30	8.10	9.30	8.60	8.40	8.30	8.30
	2.Sayım	36.00	33.60	18.50	21.60	43.00	31.80	36.80	33.60
	Fark	28.60b	25.30b E	10.40a EF	12.30a CDEF	34.40c	23.40a DEF	28.50b F	25.30ab G
Kadirli 7(K7)	1.Sayım	7.10	7.50	7.40	9.00	8.80	6.50	6.70	7.20
	2.Sayım	33.90	27.50	24.50	22.90	40.10	29.00	22.00	27.50
	Fark	26.80c	20.00b D	17.10ab H	13.90a F	31.30c	22.50b CDE	15.30a D	20.30b F
Kadirli 6(K6)	1.Sayım	8.30	8.10	8.50	8.50	7.00	7.50	8.30	6.80
	2.Sayım	38.30	32.30	25.20	22.80	40.30	31.90	29.70	23.30
	Fark	30.00c	24.20b E	16.70a H	14.30a F	33.30c	24.40b EF	21.40b E	16.50a E
Merkez 11(M11)	1.Sayım	8.20	7.90	9.30	8.40	8.00	9.30	8.30	8.00
	2.Sayım	33.20	26.00	22.30	19.60	37.50	29.30	33.90	38.50
	Fark	25.00c	18.10b CD	13.00a FG	11.20a BCDEF	29.50c	20.00a ABCD	25.60b F	30.50c H
Merkez 3(M3)	1.Sayım	8.30	8.30	8.80	6.50	7.40	6.80	6.00	7.30
	2.Sayım	38.50	28.30	23.00	16.50	35.50	33.50	15.80	22.30
	Fark	30.20d	20.00c D	14.20b GH	10.00a BCDE	28.10c	26.70c F	9.80a BC	15.00b DE
Düziçi 6(D6)	1.Sayım	7.00	8.40	7.60	7.80	9.40	7.00	7.80	7.20
	2.Sayım	40.00	27.00	14.00	16.90	30.40	25.60	20.60	32.20
	Fark	33.00c	18.60b D	6.40a ABCD	9.10a BC	21.00b	18.60b AB	12.80a CD	25.00c G
Düziçi 3(D3)	1.Sayım	6.70	7.70	6.30	7.70	8.50	7.40	9.50	9.30
	2.Sayım	36.20	12.30	14.80	17.50	36.00	24.50	23.80	15.00
	Fark	29.50c	4.60a A	8.50b CDE	9.80b BCDE	27.50c	17.10b A	14.30b D	5.70a A
Düziçi 1(D1)	1.Sayım	7.80	8.40	8.50	8.90	7.80	7.40	8.80	8.20
	2.Sayım	36.80	34.00	22.80	22.00	42.40	30.90	20.90	22.70
	Fark	29.00b	25.60b E	14.30a GH	13.10a DEF	34.60c	23.50b DEF	12.10a CD	14.50a CDE
Sumbas 7(S7)	1.Sayım	7.10	9.50	9.60	7.90	8.70	9.50	9.00	7.30
	2.Sayım	36.10	29.60	17.80	21.90	37.70	27.80	34.60	31.40
	Fark	29.00d	20.10c	8.20a	14.00b	29.00c	18.30a	25.60bc	24.10b

			D	BCDE	F		A	F	G
Sumbas 5(S5)	1.Sayım	7.60	9.20	9.50	7.60	8.40	8.10	6.50	6.80
	2.Sayım	33.00	28.80	20.80	20.90	34.40	26.10	19.60	27.40
	Fark	25.40c	19.60b	11.30a	13.30a	26.00c	18.00b	13.10a	20.60b
			D	EFG	EF		A	CD	F
Sumbas 3(S3)	1.Sayım	7.40	7.90	7.50	8.30	7.00	8.40	7.10	7.80
	2.Sayım	32.00	26.00	17.10	19.90	34.70	28.00	17.10	18.80
	Fark	24.60c	18.10b	9.60a	11.60a	27.70c	19.60b	10.00a	11.00a
			CD	DEF	CDEF		ABC	BC	BC

*Aynı satırda farklı küçük harflerle ve aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre $P < 0.05$ önem seviyesinde birbirinden farklıdır.

Çizelge 3. 2013 ve 2014 yıllarında Osmaniye ili örnekleme yapılan ilçelerde kısır yabancı yulaf popülasyonlarıyla kurulan sera denemeleri sonucu popülasyon içerisinde kontrole göre Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS) ve Clodinafop-propargyl (ACCCase) tavsiye dozunun yaş ağırlık ve bitki boyu ortalamalarına karşı yüzde (%) etkisi

Table 3. The effect of Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS) and Clodinafop-propargyl (ACCCase) recommended doses compared to the weed biomass and weed height averages (%) according to the control of greenhouse tests with wild oat populations in the sampling districts of Osmaniye province in 2013 and 2014

Popülasyon Population	Yaş ağırlık % etki Weed biomass % effect		Bitki boyu % etki Weed height % effect	
	Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS)	Clodinafop-propargyl (ACCCase)	Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium (ALS)	Clodinafop-propargyl (ACCCase)
Toprakkale 5(T5)	77.06	36.29	83.22	55.86
Hasanbeyli 5(H5)	75.35	3.12	30.91	82.69
Hasanbeyli 4(H4)	52.30	25.00	77.73	70.00
Hasanbeyli 2(H2)	64.44	49.39	81.67	3.87
Kadirli 9(K9)	37.62	51.33	63.64	17.15
Kadirli 7(K7)	65.07	17.28	36.19	51.12
Kadirli 6(K6)	71.95	42.42	44.33	35.74
Merkez 11(M11)	61.72	29.31	48.00	13.22
Merkez 3(M3)	62.72	46.75	52.98	65.12
Düziçi 6(D6)	43.75	42.85	80.61	39.05
Düziçi 3(D3)	42.45	24.81	71.19	48.00
Düziçi 1(D1)	52.71	39.85	50.69	65.03
Sumbas 7(S7)	70.90	39.86	71.72	11.72
Sumbas 5(S5)	42.85	15.78	55.51	49.62
Sumbas 3(S3)	39.13	15.89	60.98	63.90

*Serada yapılan çalışmada %60 ve üstü önemli olarak kaydedilmiştir.

Tavsiye dozunda kullanılan Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium ve Clodinafop-propargyl herbisitlerinin bitki boyları ve yaş ağırlıkları üzerindeki yüzde etkiler yapılan çalışmayla belirlenmiştir. Yaş ağırlıklarda tavsiye dozda Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium'a etki bulunan popülasyonlar T5, H4, H2, K6, M11, D1 ve S5 popülasyonları olup, bu popülasyonlardan T5; %77.06 en yüksek, S5; %42.85 en düşük yüzde etkiye sahip olmuştur. Clodinafop-propargyl'de ise her ne kadar istatistiki anlamda T5, H2 ve D6 popülasyonlarının tavsiye dozunda etki görülse de bu popülasyonların yaş ağırlığına yüzde etkisi %50'nin altında kalmıştır. H2 popülasyonu %49.39 ile en yakın bulunmuştur (Çizelge 3). Fahad ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada buğdayda farklı herbisitleri

seçerek *Convolvulus arvensis*, *Avena fatua*, *Phalaris minor*, *Galium aparine*, *Fumaria indica* ve *Melilotus indica* türlerinin bulunduğu alanlarda deneme kurmuş ve %87 ile Isoproturon etkili maddeli herbisitinin en fazla yabancı ot yaş ağırlığını etkilediğini bildirmiştir. Avrupa Hırvatistan'da buğdayda Iodosulfuron-methyl sodium + Mefenpyr-diethyl, Fluoroglycofene-ethyl + Triasulfuron ve 2.4-D ester + Metosulam herbisitlerinin karışımını düşük dozda geniş yapraklı yabancı otlardan *Matricaria inodora*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Galium aparine* ve *Stellaria media* türlerinin hakim olduğu deneme alanında uygulayarak yaş ağırlıkların %89-100 arasında değiştiğini belirlemiştir (Knezevic ve ark., 2008). Litvanya'da ise Florasulam + 2.4-D ester herbisitinin 4 farklı uygulama dozu kullanılmış ve

Stellaria media, *Chenopodium album*, *Galeopsis tetrahit* ile *Sinapis arvensis* türlerinin farklı gelişim dönemlerine ait yaş ağırlıklar üzerindeki etkiler araştırılarak en etkin belirlenen dozda %75-95 arasında etki ortaya çıkarılmıştır (Auskalnis ve Kadzys, 2006). Böylelikle yabancı ot türlerine ve herbisitlerin özelliklerine göre yaş ağırlıklar üzerinde herbisit etkilerinin değişebileceği saptanmıştır.

Bitki boyları açısından Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium tavsiye dozunda istatistiki anlamda etki saptanan K9, K6, M11, D6, D1, S5 ve S3 popülasyonlarından sadece D6 popülasyonunun yüksek etki gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 3). Benzer bir çalışmada Bibi ve ark. (2008) Pakistan'da buğdayda yabancı otlara karşı bazı herbisitlerin uygulama sonrası bitki boyları üzerindeki etkilerini araştırmış, hasat öncesi kontrolde en fazla bitki boyu olduğunu, diğer bitki boylarının yakın ancak Clodinafop-propargyl ve Carfentrazon ethyl-ester herbisitlerinde bitki boylarının daha kısa olduğunu belirlemiştir. Çukurova'da yapılan çalışmalarda da kısır yabancı yulafa karşı ALS ve ACCase inhibitörü herbisitlerin farklı uygulama dozlarında bitki boylarını etkilediği ortaya konmuştur (Yücel, 2004; Avcı, 2009; Ayata, 2014; Gürbüz, 2016; Torun, 2017). Yapılan çalışmalarla herbisitler tarafından bitki boylarının etkilenebileceği ve farklı uygulama dozlarının ortam koşullarına göre popülasyonlarda farklılık oluşturabileceği ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmada ise popülasyonlar üzerinde tavsiye dozunda bitki boylarına karşı ACCase inhibitörü herbisitinin etkisinin, ALS inhibitörü herbisitine göre daha az olduğu sera çalışmalarında belirlenmiştir. Uygulanan ACCase herbisitinde H4, H2, D1 ve S3 popülasyonları tavsiye dozunda etkili bulunmuştur fakat sadece H4, D1 ve S3 popülasyonlarında %63.00-70.00 arasında değişen bir etki görülmüştür (Çizelge 3). Kanada'da Legere ve ark. (2000) *Avena fatua* popülasyonlarında kullanılan herbisitlerin etkinliğinin arttırılması adına farklı etki mekanizmasına sahip herbisitlerin kesinlikle kullanılmasının önemini belirtmiştir. Hububat ve geniş yapraklı ürünlerde herbisit rotasyonunun yapılarak yabancı otlar üzerinde herbisit etkinliğinin sadece bu yolla sağlanabileceğini bildirmiştir.

SONUÇ

Kısaca yapılan çalışmada buğdayda kullanılan ALS ve ACCase inhibitörlerinin popülasyonlar üzerindeki değişimleri belirlenmiş ve sera çalışmalarında gerek bitki boyuna, gerekse yaş ağırlığa olan etkilerinin ALS inhibitörü tavsiye dozunda daha fazla olduğu saptanmıştır. Ayrıca ACCase inhibitöründe popülasyonlarda en fazla bitki boyu ve yaş ağırlığa etki eden doz aralığının tavsiye dozu ile iki katı doz aralığı olduğu belirlenmiştir. Özellikle buğdayda sorun olan

yabancı otlarla kimyasal mücadelede kesinlikle farklı etki mekanizmasına sahip herbisitler tercih edilmelidir. Çünkü aynı etki mekanizmasının tarlalarda daimi kullanımı sorun olan yabancı ot türleri üzerinde herbisit etkinliğinin yitirilmesine sebep olabilmektedir. Buğdayda farklı etki mekanizmasına sahip herbisitlerin kullanımıyla tarlalar herbisit rotasyonuna tabii tutulmalı ve sorun olan yabancı otlarla mücadelede herbisit etiketi üzerinde yazan tavsiye dozunda uygulanmalıdır. Ancak temel anlamda kimyasal mücadelede herbisitlerin uygulanmasında yabancı otlara karşı olan etkiyi arttırmak istiyorsak muhakkak üretici nezdinde hatalı ve yanlış uygulamalardan dolayı bilinçlendirme yapılmalı ve farklı ürün rotasyonları da tarlalarda uygulanmalıdır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Abbott WS 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2): 265-267.
- Anonim 2009. PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc. Retrieved January 13, 2013.
- Auskalnis A, Kadzys A 2006. Effect of Timing and Dosage in Herbicide Application on Weed Biomass in Spring Wheat. *Agronomy Research*, 4(Special Issue): 133-136.
- Avcı ÇM 2009. Çukurova Bölgesi Buğday Ekim Alanlarında Sorun Olan *Phalaris brachystachys* Link. (Kanlı Çayır)'in Bazı Buğday Herbisitlerine Karşı Oluşturduğu Dayanıklılık Sorunlarının Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bil. Ens., Bitki Koruma ABD, Yüksek Lisans Tezi, 63 s.
- Ayata MU 2014. Adana İli Buğday Ekim Alanlarında Kısır Yabancı Yulaf (*Avena sterilis* L.)'in ACCase (Acetyl-Coa Carboxylase) Enzimi İnhibitörü Herbisitlere Karşı Oluşturduğu Dayanıklılığın Önemi ve Dayanıklı Popülasyonların Haritasının Oluşturulması. Çukurova Üniversitesi Fen Bil. Ens., Bitki Koruma ABD, Yüksek Lisans Tezi, 157 s.
- Ball DA, Frost SM, Bennett LH 2007. ACCase-inhibitor Herbicide Resistance in Downy Brome (*Bromus tectorum*) in Oregon. *Weed Science*, 55: 91-94.
- Beckie HJ, Kirkland KJ 2003. Implication of Reduced Herbicide Rates on Resistance Enrichment in Wild Oat (*Avena fatua*). *Weed Technology*, 17: 138-148.

- Bibi S, Marwat KB, Hassan G, Khan NM 2008. Effect of Herbicides and Wheat Population on Control of Weeds in Wheat. *Pakistan Journal of Weed Science Research*, 14(3-4): 111-119.
- Carlson HL, Hill JE 1985. Wild Oat (*Avena fatua*) Competition with Spring Wheat: Effects of Nitrogen Fertilization. *Weed Science*, 34(1): 29-33.
- Fahad S, Nie L, Rahman A, Chen C, Wu C, Saud S, Huang J 2013. Comparative Efficacy of Different Herbicides for Weed Management and Yield Attributes in Wheat. *American Journal of Plant Sciences*, 4(6):1241-1245.
- Gürbüz R 2016. Adana İli Buğday Ekim Alanlarında ALS İnhibitörü Herbisitlere Karşı Dayanıklılık Kazanmış Yabani Yulaf (*Avena sterilis* L.) ile Yabani Hardal (*Sinapis arvensis* L.) Popülasyonlarının Belirlenmesi ve Dayanıklılık Haritalarının Oluşturulması. Çukurova Üniversitesi Fen Bil. Ens., Bitki Koruma ABD, Doktora Tezi, 321 s.
- Heap IM, Knight R 1986. The Occurrence of Herbicide Cross Resistance in A Population of Annual Ryegrass, *Lolium rigidum*, Resistant to Diclofop-Methyl. *Australian Journal of Agricultural Research*, 37: 149-156.
- Heap IM, Murray BG, Loeppky HA, Morrison IN 1993. Resistance to Aryloxyphenoxypropionate and Cyclohexanedione Herbicides in Wild Oat (*Avena fatua*). *Weed Science*, 41(2): 232-238.
- Kadioğlu İ, Uluğ E, Uygur FN, Üremiş İ, Boz Ö 1993. Çukurova Buğday Ekim Alanlarında Görülen Yabani Yulaf (*Avena sterilis* L.)'ın Ekonomik Zarar Eşiği Üzerinde Araştırmalar. Türkiye I.Herboloji Kongresi, 03-05 Şubat, Adana, Türkiye.
- Kadioğlu İ, Uygur FN, Çınar A 1990. Yabani Yulaf (*Avena sterilis* L.)'ın Yok Edilme Zamanının Buğday Gelişimi ve Verimine Etkisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 5(4): 71-76.
- Knezevic M, Ranogajec L, Samota D 2008. The Effect of Plant Density on Forage and Seed Yields and Quality of Red Clover (*Trifolium pratense* L.). *Proceedings of the VII. Alps-Adria Scientific Workshop, Cereal Research Communications*, 28 April-02 May, Stara Lesna, Slovakia.
- Legere A, Beckie HJ, Stevenson FC, Thomas AG 2000. Survey of Management Practices Affecting the Occurrence of Wild Oat (*Avena fatua*) Resistance to Acetyl-Coa Carboxylase Inhibitors. *Weed Technology*, 14(2): 366-376.
- Mansooji AM, Holtum JA, Boutsalis P, Matthews JM, Powles SB 1992. Resistance to Aryloxyphenoxypropionate Herbicides in Two Wild Oat Species (*Avena fatua* and *Avena sterilis* ssp. *ludoviciana*). *Weed Science*, 40(4): 599-605.
- Preston C, Powles SB 2002. Evolution of Herbicide Resistance in Weeds: Initial Frequency of Target Site-based Resistance to Acetolactate Synthase-inhibiting Herbicides in *Lolium rigidum*. *Heredity*, 88: 8-13.
- Seefeldt SS, Gealy DR, Brewster BD, Fuerst EP 1994. Cross-resistance of Several Diclofop-resistant Wild Oat (*Avena fatua*) Biotypes from the Willamette Valley of Oregon. *Weed Science*, 42(3): 430-437.
- Tardif FJ, Powles SB 1993. Target Site-based Resistance to Herbicides Inhibiting Acetyl-CoA Carboxylase. Brighton Crop Protection Conference, Weeds, 22-25 November, Brighton, UK.
- Torner C, Gonzalez-Andujar JL, Fernandez-Quintanilla C 1991. Wild Oat (*Avena sterilis* L.) Competition with Winter Barley: Plant Density Effects. *Weed Research*, 31(5): 301-307.
- Torun H 2017. Osmaniye İli'nde Ekim Nöbetinin Kısır Yabani Yulafta (*Avena sterilis* L.) Oluşmuş Herbisit Direncine Etkisinin Araştırılması ve Haritalaması. Çukurova Üniversitesi Fen Bil. Ens., Bitki Koruma ABD, Doktora Tezi, 225 s.
- Uygur FN, Koch W, Walter H 1984. Yabancı Ot Bilimine Giriş, PLITS 1984/2(1), Verlog J. Margraf, Stuttgart, 114 s.
- Valverde BE (2007) Status and Management of Grassweed Herbicide Resistance in Latin America. *Weed Technology*, 21(2): 310-323.
- Yücel E 2004. Çukurova Bölgesi Buğday Ekim Alanlarında Sorun Olan Kısır Yabani Yulaf (*Avena sterilis* L.)'ın Bazı Herbisitlere Karşı Ortaya Çıkan Dayanıklılık Sorunlarının Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bil. Ens., Bitki Koruma ABD, Yüksek Lisans Tezi, 96 s.

Some Biological Parameters of *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) in Pesticide-Applied Vermicompost

Birgöl ILIKHAN¹, İbrahim KOÇ²

¹Bitlis Eren University, Institute of Natural and Applied Sciences, 13000, Bitlis, ²Bitlis Eren University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Environmental Engineering, 13000, Bitlis,

¹<https://orcid.org/0000-0003-4629-1192>, ²<https://orcid.org/0000-0003-0803-6801>

✉: ibrahimkoc47@gmail.com

ABSTRACT

The objective of this study was to determine some biological parameters of red California worm (*Eisenia fetida*) in pesticides applied vermicompost. The study conducted under *in-vitro* conditions, as Randomized Block Design with five replications. Commonly used Granland®, Demond® and Safacol® pesticides in Muş province (Turkey) were used as treatments. The temperature and humidity ratio for the experiment were 20-29°C and 70 to 90%, respectively. The experiments were resumed until the young worms hatched from a cocoon reproduced cocoons again. For investigating the effect of the treatments on specific features One-Way Analysis of Variance (One-way ANOVA) and for determining of different groups TUKEY Multiple Comparison Test were used. Variance analysis indicated that there was no statistically differences among fungicide doses in terms of worm weight (P=0.113); however, there were differences in terms of insecticide and herbicide doses (P=0.000). It was detected that there were significant differences among pesticide doses in respect to the cocoon and worm numbers (P=0.000).

Research Article

Article History

Received : 30.05.2019

Accepted : 16.10.2019

Keywords

Earthworms

Cocoon

Eisenia fetida

Pesticides

Vermicompost

Pestisit Uygulanmış Vermikompostta *Eisenia fetida* (Savigny, 1826)'nin Bazı Biyolojik Parametreleri

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, pestisit uygulanmış vermicompostlarda kırmızı Kaliforniya solucanının (*Eisenia fetida*) bazı biyolojik parametrelerini belirlemektir. Çalışma *in-vitro* şartlarda, Tesadüf Parselleri Deneme Düzeninde 5 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Pestisit muamelesinde, Muş ilinde çokça kullanılan bazı pestisitler (Granland®, Demond® ve Safacol®) kullanılmıştır. Deney ortamının sıcaklığı 20-29°C ve nem oranı %70-90 arasında tutulmuş ve deney, kokonlardan çıkan yavru bireylerin tekrar kokon vermesine kadar devam etmiştir. Muamelelerinin belirlenen özelliklere etkisinin araştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi Tekniğinden (One-way ANOVA), farklı grupların belirlenmesinde ise TUKEY Çoklu Karşılaştırma Testi'nden yararlanılmıştır. Yapılan varyans analizi sonucunda; solucan ağırlığı bakımından fungusit dozları arasında istatistiksel olarak önemli farkların bulunmadığı (P=0.113), buna karşın insektisit ve herbisit dozları bakımından söz konusu farkların önemli olduğu görülmüştür (P=0.000). Kokon ve solucan sayıları bakımından ise pestisit dozları arasında önemli farkların bulunduğu tespit edilmiştir (P=0.000).

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 30.05.2019

Kabul Tarihi : 16.10.2019

Anahtar Kelimeler

Toprak solucanları

Kokon

Eisenia fetida

Pestisitler

Vermikompost

To Cite: Ilıkhhan B, Koç İ 2020. Some Biological Parameters of *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) in Pesticide-Applied Vermicompost. KSU J. Agric Nat 23 (2): 366-377, DOI:10.18016/ksutarimdog.vi.571851.

INTRODUCTION

It is significant that pesticides are effective in agricultural pest control; but, if they are used randomly and excessively, beneficial organisms and the other constituents of environment would be

affected severely (Dığrak et al., 1999). Worms are considered as the significant bioindicators of chemical toxicity in soil ecosystem (Yasmin and D'Souza, 2010). The advantage of using these organisms as bioindicator is that they are easy and affordable to be obtained (Bustos-Obregón and Goicochea, 2002).

Helling et al. (2000) determined that *E. foetida*'s growth and reproducing cocoon decreased considerably in fungicide Copper oxychloride® treatments of ≥ 8.92 mg kg⁻¹. Bustos-Obregón and Goicochea (2002) revealed that Parathion® decreased the body weight and survival rate of *E. foetida*. Espinoza-Navarro and Bustos-Obregón (2005) detected a considerable decrease in the body weight of *E. foetida* subjected to Malathion®. Xiao et al. (2006) determined that Acetochlor® did not have a long-termed effect on the growth and reproduction of *E. foetida* at field doses, however sublethal toxicity effect to *E. foetida* was seen at higher doses. Yasmin and D'Souza (2007) observed that pesticides affected the growth and reproduction of *E. foetida* adversely, and Carbendazim® and Dimethoate® sustained greater harm than Glyphosate®. Correia and Moreira (2010) found that Glyphosate® and 2,4-D® treatments had serious effects on *E. foetida*'s growth and reproduction. Farrukh and S-Ali (2011) stated that Dichlorovos® led to the decrease in the weight of *E. foetida* and reproduction and avoidance behaviors were affected significantly. In pesticide treatments to *E. foetida*, Gupta et al. (2011) detected that Endosulfan®, Aldicarb® and Aarbaryl® were the most eco-hazardous pesticides; Chlorpyrifos® and Monocrotophos® were less toxic and ecologically safe. In the study on the effect of 45 pesticides to *E. foetida*, Wang et al. (2012) pointed out that Clothianidin®, Fenpyroximate® and Pyridaben® were super toxic for *E. foetida* based on LC50 values, and those were followed by Carbaryl®, Pyridaphenthion®, Azoxystrobin®, Cyproconazole® and Picoxystrobin®. Rico et al. (2016) determined the evolution of avoidance behavior in worms after a two-day-exposure; and death, loss in weight, enzymatic activities and histopathologic effects after a fourteen-day-exposure, in their study on the toxicity of five pesticides to *E. foetida*. Wang et al. (2016) determine that the toxic effects of some pesticides to *E. foetida*, stated that Imidacloprid®, Lambda-cyhalothrin®, Atrazine® and Chlorpyrifos®, respectively, had toxic effects. Jovana et al. (2014) stated no death in their insecticide and limacide treatment to the worm *E. foetida* (Savigny, 1826), but Terbis® created the most toxic effect. Vermeulen et al. (2001) detected that Mancozeb® did not have a significantly harmful effect on thereproduction or reproduction of *E. foetida*, at recommended dose or estimated environmental concentration.

This research was carried out with the objective to determine some biological parameters of red California worm (*E. foetida*) in widely used some certain pesticides applied vermicomposts in Muş province (Demond®, Safacol® and Granland®)

MATERIAL and METHOD

The study was conducted under *in-vitro* conditions, in

2018. The vermicompost needed for the experiment was obtained from 100% cow manure; cocoons from regenerating from stock culture; and pesticides purchased from trading companies. The study was carried out in Randomized Block Design with five replications. The recommended dose and 4 sub-doses of the pesticides (herbicide Granland®, insecticide Demond® and fungicide Safacol®), which are widely used in Muş province (in Turkey), were applied. The steps given below were followed in the experiment;

1) For pesticide treatments; 100 gr vermicompost was placed into 300 cm³ sized containers; to each sample, 10 ml pesticide solution [for Granland®: Normal dose (0.0125 g 100 ml), one-sub-dose (0.006 g 100 ml), two-sub-dose (0.003 g 100 ml), three-sub-dose (0.0016 g 100 ml), four-sub-dose (0.0008 g 100 ml), and the control group (with no treatment but only tap water is provided); for Demond®: Normal dose (1.25 g 100 ml), one-sub-dose (0.625 g 100 ml), two-sub-dose (0.313 g 100 ml), three-sub-dose (0.156 g 100 ml), four-sub-dose (0.078 g 100 ml) and the control group to which no treatment but only tap water is provided; for Safacol®: Normal dose (0.05 g 100 ml), one-sub-dose (0.025 g 100 ml), two-sub-dose (0.013 g 100 ml), three-sub-dose (0.006 g 100 ml), four-sub-dose (0.003 g 100 ml) and the control group to which no treatment but only tap water is provided], and to the control group, tap water were provided.

2) After treatments, 10 cocoons per container were placed.

3) The temperature and humidity rate of experiment environment were maintained at 20-29°C and 70 to 90%, respectively (Gunadi et al., 2002). For conserving the ambient air humidity, 10 ml tap water was added periodically to the samples every other day.

4) The weight of worms, the number of produced cocoons and the number of young members hatching from each cocoon were determined on a weekly basis until the young worms hatching from a worm cocoon would then reproduce cocoons.

In the statistical analyses of data obtained from this research, One-Way Analysis of Variance (One-way ANOVA) and in the determination of different groups Tukey Multiple Comparison Test were applied. For the mentioned statistical analyses to be carried out, Minitab (Version 17) statistical package programs were benefitted from (Winer et al., 1971).

RESEARCH FINDINGS and DISCUSSION

Effects of insecticide (Demond®) treatment

Results of variance analysis on the effect of insecticide doses on worm weight were presented in Table 1 and Figure 1. When Table 1 is considered, it is seen that the effect of insecticide doses on the worm weight is statistically significant (P=0.000). It was also determined that 92.96% of the variation observed in worm weight could be explained by the doses

($R^2=92.96\%$). Results of Tukey Multiple Comparison Test revealed that differences among doses were significant and normal dose treatment had toxic effect

(Table 2). The average worm weight was found that none of the worm survived at Recommended-dose whereas It was maximum at Two-sub-dose (0.512 g).

Table 1. Results of variance analysis by the effect of insecticide doses on worm weight

Tablo 1. İsektisit dozlarının solucan ağırlığına etkisi bakımından varyans analizi sonuçları

Source <i>Varyasyon Kaynakları</i>	DF <i>Serbestlik Derecesi</i>	Adj SS <i>Kareler Toplamı</i>	Adj MS <i>Kareler Ortalaması</i>	F-Value <i>F-Değeri</i>	P-Value <i>Önemlilik Düzeyi (P)</i>
Treatment (<i>İlaç Uygulaması</i>)	5	0.862	0.173	63.340	0.000
Error (<i>Hata</i>)	24	0.065	0.003		
Total (<i>Genel</i>)	29	0.928			

$R^2 = 92.96\%$

Table 2. Descriptive statistics and Tukey multiple comparison test for weights of worms

Tablo 2. Solucan ağırlıkları bakımından tanımlayıcı istatistikler ve Tukey çoklu karşılaştırma testi

Insecticide Treatments <i>İsektisit Uygulamaları</i>	N <i>Tekrar Sayısı</i>	Mean <i>Ortalama</i>	Grouping <i>Gruplandırma</i>	SE Mean <i>Ort. St. Hatası</i>	Minimum <i>En Az</i>	Maximum <i>En Çok</i>
Two sub-dose (<i>İki alt doz</i>)	5	0.512	A	0.022	0.455	0.590
One sub-dose (<i>Bir alt doz</i>)	5	0.468	A B	0.030	0.408	0.546
Three sub-dose (<i>Üç alt doz</i>)	5	0.445	A B C	0.024	0.369	0.507
Four sub-dose (<i>Dört alt doz</i>)	5	0.374	B C	0.036	0.273	0.464
Control (<i>Kontrol</i>)	5	0.348	C	0.005	0.332	0.363
Recommended-dose (<i>Önerilen doz</i>)	5	0.000	D	0.000	0.000	0.000

Note: Differences among doses which are represented by different letters are significant

Not: Farklı harflerle gösterilen dozlar arasındaki farklar önemlidir

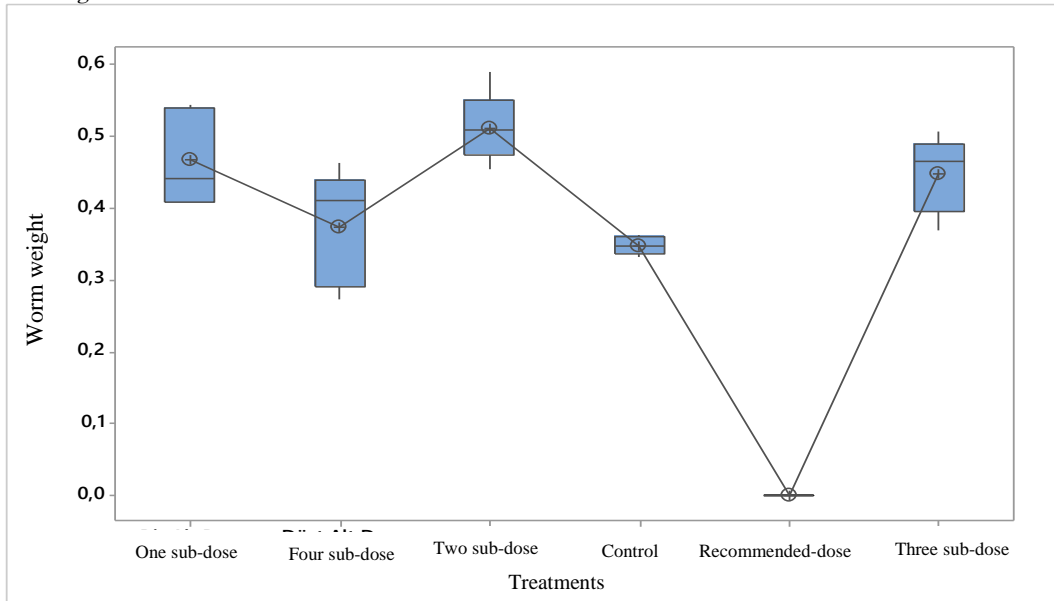


Figure 1. Effect of insecticide doses on worm weight

Şekil 1. İsektisit dozlarının solucan ağırlığına etkisi

Results of variance analysis on the effect of insecticide doses on cocoon number were presented in Table 3 and Figure 2. The results of Tukey Multiple Comparison Test to determine doses causing the differences were given in Table 4. Variance analysis resulted that the effect of insecticide doses on cocoon number was significant ($P=0.000$) and 93.06% of the variation observed in cocoon number could be explained by doses ($R^2=93.06\%$). Seeing the results of Tukey test, it was

detected that the most toxic effect emerged when normal and one-sub-dose were applied. The averages of cocoon number was found minimum at Recommended-dose (0.000 pcs) and maximum in control treatment (7.600 pcs) (Table 4).

Results of variance analysis for the effect of insecticide doses on the number of worms were presented in Table 5 and Figure 3, and Tukey test results were given in Table 6.

Table 3. Results of variance analysis by the effect of insecticide doses on cocoon number
Tablo 3. İnkisistit dozlarının kokon sayısına etkisi bakımından varyans analizi sonuçları

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
<i>Varyasyon Kaynakları</i>	<i>Serbestlik Derecesi</i>	<i>Kareler Toplamı</i>	<i>Kareler Ortalaması</i>	<i>F-Değeri</i>	<i>Önemlilik Düzeyi (P)</i>
Treatment (<i>İlaç Uygulaması</i>)	5	209.070	41.813	64.330	0.000
Error (<i>Hata</i>)	24	15.600	0.650		
Total (<i>Genel</i>)	29	224.670			

R²=%93.06

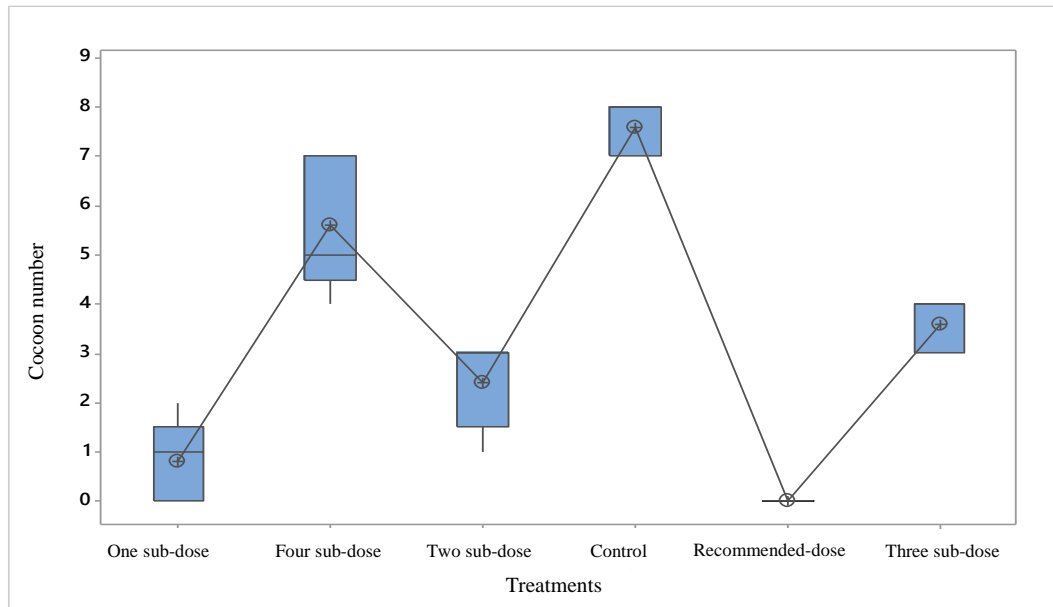


Figure 2. Effect of insecticide doses on cocoon number

Şekil 2. İnkisistit dozlarının kokon sayısına etkisi

Table 4. Descriptive statistics and Tukey multiple comparison test for numbers of cocoons

Tablo 4. Kokon sayıları bakımından tanımlayıcı istatistikler ve Tukey çoklu karşılaştırma testi

Insecticide Treatments	N	Mean	Grouping	SE Mean	Minimum	Maximum
<i>İnkisistit Uygulamaları</i>	<i>Tekrar Sayısı</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Gruplandırma</i>	<i>Ort. St. Hatası</i>	<i>En Az</i>	<i>En Çok</i>
Control (<i>Kontrol</i>)	5	7.600	A	0.245	7.000	8.000
Four sub-dose (<i>Dört alt doz</i>)	5	5.600	B	0.600	4.000	7.000
Three sub-dose (<i>Üç alt doz</i>)	5	3.600	C	0.245	3.000	4.000
Two sub-dose (<i>İki alt doz</i>)	5	2.400	C	0.400	1.000	3.000
One sub-dose (<i>Bir alt doz</i>)	5	0.800	D	0.374	0.000	2.000
Recommended-dose (<i>Önerilen doz</i>)	5	0.000	D	0.000	0.000	0.000

Note: Differences among doses which are represented by different letters are significant

Not: Farklı harflerle gösterilen dozlar arasındaki farklar önemlidir

Table 5. Results of variance analysis by the effect of insecticide doses on worm number

Tablo 5. İnkisistit dozlarının solucan sayısına etkisi bakımından varyans analizi sonuçları

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
<i>Varyasyon Kaynakları</i>	<i>Serbestlik Derecesi</i>	<i>Kareler Toplamı</i>	<i>Kareler Ortalaması</i>	<i>F-Değeri</i>	<i>Önemlilik Düzeyi (P)</i>
Treatment (<i>İlaç Uygulaması</i>)	5	824.000	164.800	36.900	0.000
Error (<i>Hata</i>)	24	107.200	4.467		
Total (<i>Genel</i>)	29	931.200			

R²=%88.49

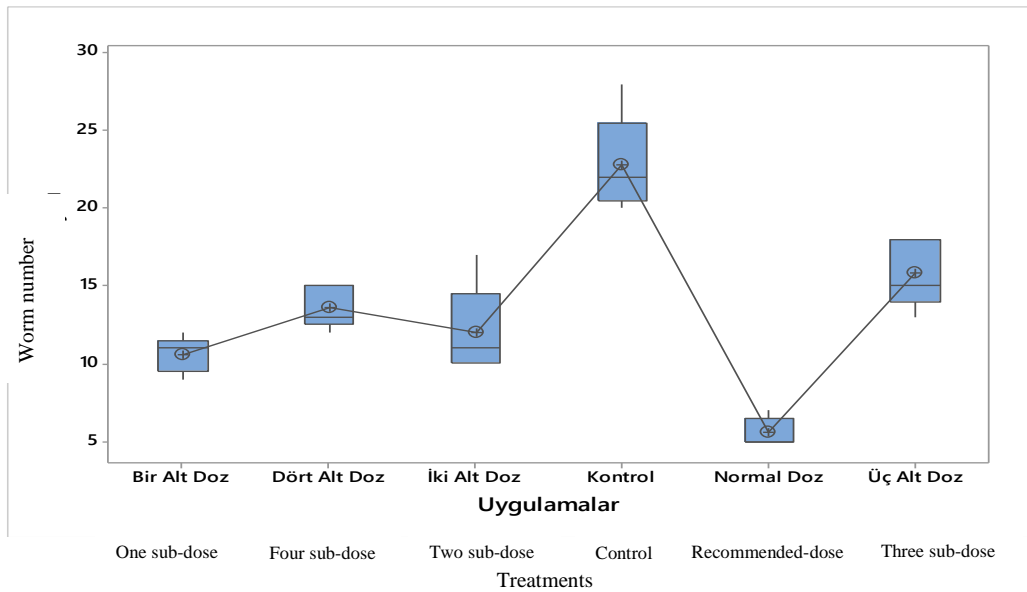


Figure 3. Effect of insecticide doses on worm number

Şekil 3. İnektisit dozlarının solucan sayısına etkisi

Table 6. Descriptive statistics and Tukey multiple comparison test for numbers of worms

Tablo 6. Solucan sayıları bakımından tanımlayıcı istatistikler ve Tukey çoklu karşılaştırma testi

Insecticide Treatments İnektisit Uygulamaları	N	Mean Ortalama	Grouping Gruplandırma	SE Mean Ort. St. H	Minimum En Az	Maximum En Çok
Control (Kontrol)	5	22.800	A	1.390	20.000	28.000
Three sub-dose (Üç alt doz)	5	15.800	B	0.970	13.000	18.000
Four sub-dose (Dört alt doz)	5	13.600	B C	0.600	12.000	15.000
Two sub-dose (İki alt doz)	5	12.000	B C	1.300	10.000	17.000
One sub-dose (Bir alt doz)	5	10.600	C	0.510	9.000	12.000
Recommended-dose (Önerilen doz)	5	5.600	D	0.400	5.000	7.000

Note: Differences among doses which are represented by different letters are significant

Not: Farklı harflerle gösterilen dozlar arasındaki farklar önemlidir

Based on variance analysis, it was determined that the effect of insecticide doses on worm number was statistically significant ($P=0.000$) and 88.49% of the variation observed in the number of worms could be explained by doses ($R^2=88.49\%$). Concerning Tukey test results, it was detected that the most toxic effect emerged when Recommended-dose was applied. The average of worm number was found minimum at Recommended-dose (5.600 pcs) and maximum in control treatment (22.800 pcs) (Table 6).

Effects of herbicide (Granland®) treatment

Results of variance analysis on the effect of herbicide doses on worm weight were presented in Table 7 and Figure 4. The effects of herbicide doses on the worm weight is statistically significant ($P=0.000$) (Table 7). It was also determined that 64.47% of the variation observed in worm weight could be explained by the doses ($R^2=64.47\%$). Results of Tukey Multiple Comparison Test showed that differences among doses were significant and one-sub-dose treatment had toxic effect (Table 8). The average worm weight found minimum at One-sub-dose (0.136 g) and maximum at Three-sub-dose (0.428 g) (Table 8).

Results of variance analysis on the effect of herbicide doses on cocoon numbers were presented in Table 9 and Figure 5. Also, the results of Tukey Multiple Comparison Test to determine dose differences were given in Table 10. Based on variance analysis results, the effect of herbicide doses on cocoon number was significant ($P=0.006$) and 47.57% of the variation observed in cocoon number could be explained by doses ($R^2=47.57\%$). Based on the Tukey test, the most toxic effect emerged when Three-sub-dose were applied. The average of cocoon number was found minimum at Three-sub-dose (3.200 pcs) and maximum at Four-sub-dose (7.000 pcs) (Table 10).

Results of variance analysis for the effect of herbicide doses on worm number were presented in Table 11 and Figure 6, and Tukey test results were given in Table 12. As a result of variance analysis showed that the effect of herbicide doses on worm number was statistically significant ($P=0.000$) and 63.81% of the variation observed in the number of worms which could be explained by doses ($R^2=63.81\%$). The average number of worm was found minimum in control treatment (13.000 pcs) and maximum at Recommended-dose (20.200 pcs) (Table 12).

Table 7. Results of variance analysis by the effect of herbicide doses on worm weight

Tablo 7. Herbisit dozlarının solucan ağırlığına etkisi bakımından varyans analizi sonuçları

Source Varyasyon Kaynakları	DF Serbestlik Derecesi	Adj SS Kareler Toplamı	Adj MS Kareler Ortalaması	F-Value F-Değeri	P-Value Önemlilik Düzeyi (P)
Treatment (İlaç Uygulaması)	5	0.256	0.051	8.710	0.000
Error (Hata)	24	0.141	0.006		
Total (Genel)	29	0.397			

R²=%64.47

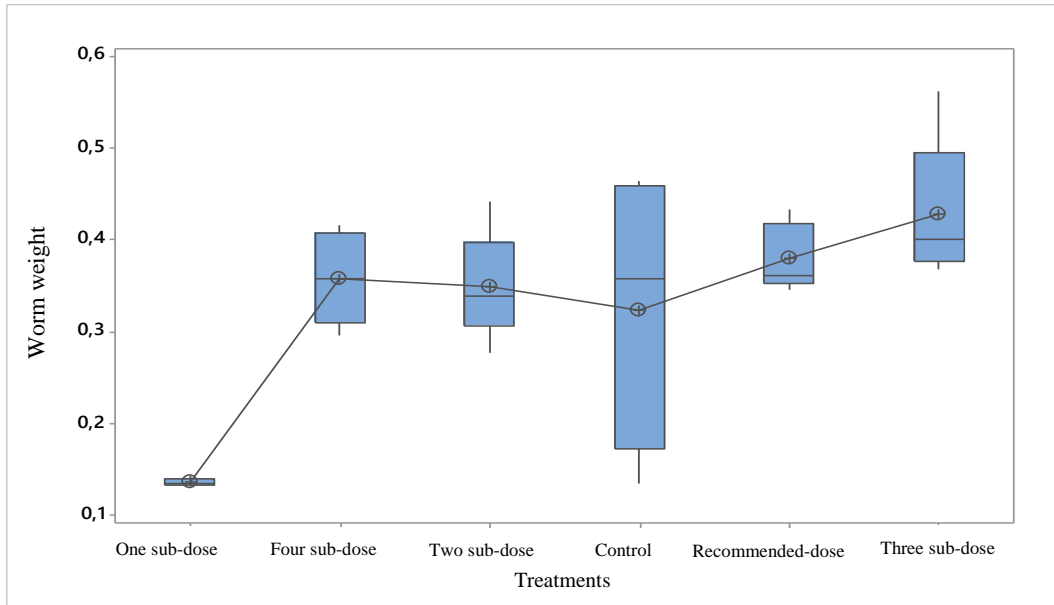


Figure 4. Effect of herbicide doses on worm weight

Şekil 4. Herbisit dozlarının solucan ağırlığına etkisi

Table 8. Descriptive statistics and Tukey multiple comparison test for weights of worms

Tablo 8. Solucan ağırlıkları bakımından tanımlayıcı istatistikler ve Tukey çoklu karşılaştırma testi

Herbicide Treatments Herbisit Uygulamaları	N Tekrar Sayısı	Mean Ortalama	Grouping Gruplandırma	SE Mean Ort. St. Hatası	Minimum En Az	Maximum En Çok
Three sub-dose (Üç alt doz)	5	0.428	A	0.035	0.368	0.563
Recommended-dose (Önerilen doz)	5	0.380	A	0.016	0.346	0.433
Four sub-dose (Dört alt doz)	5	0.358	A	0.022	0.296	0.416
Two sub-dose (İki alt doz)	5	0.349	A	0.027	0.277	0.442
Control (Kontrol)	5	0.320	A	0.066	0.134	0.464
One sub-dose (Bir alt doz)	5	0.136	B	0.002	0.133	0.143

Note: Differences among doses which are represented by different letters are significant

Not: Farklı harflerle gösterilen dozlar arasındaki farklar önemlidir

Table 9. Results of variance analysis by the effect of herbicide doses on cocoon number

Tablo 9. Herbisit dozlarının kokon sayısına etkisi bakımından varyans analizi sonuçları

Source Varyasyon Kaynakları	DF Serbestlik Derecesi	Adj SS Kareler Toplamı	Adj MS Kareler Ortalaması	F-Value F-Değeri	P-Value Önemlilik Düzeyi (P)
Treatment (İlaç Uygulaması)	5	41.370	8.273	4.350	0.006
Error (Hata)	24	45.600	1.900		
Total (Genel)	29	86.970			

R²=%47.57

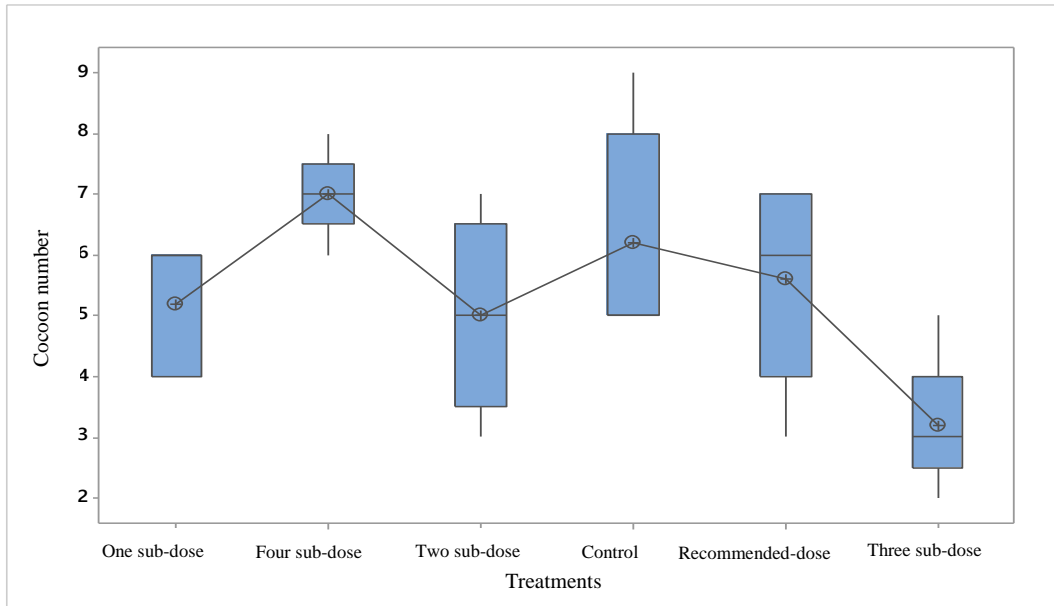


Figure 5. Effect of herbicide doses on cocoon number
Şekil 5. Herbisit dozlarının kokon sayısına etkisi

Table 10. Descriptive statistics and Tukey multiple comparison test for numbers of cocoons

Tablo 10. Kokon sayıları bakımından tanımlayıcı istatistikler ve Tukey çoklu karşılaştırma testi

Herbicide Treatments <i>Herbisit Uygulamaları</i>	N <i>Tekrar Sayısı</i>	Mean <i>Ortalama</i>	Grouping <i>Gruplandırma</i>	SE Mean <i>Ort. St. Hatası</i>	Minimum <i>En Az</i>	Maximum <i>En Çok</i>
Four sub-dose (<i>Dört alt doz</i>)	5	7.000	A	0.316	6.000	8.000
Control (<i>Kontrol</i>)	5	6.200	A	0.800	5.000	9.000
Recommended-dose (<i>Önerilen doz</i>)	5	5.600	A B	0.748	3.000	7.000
One sub-dose (<i>Bir alt doz</i>)	5	5.200	A B	0.490	4.000	6.000
Two sub-dose (<i>İki alt doz</i>)	5	5.000	A B	0.707	3.000	7.000
Three sub-dose (<i>Üç alt doz</i>)	5	3.200	B	0.490	2.000	5.000

Note: Differences among doses which are represented by different letters are significant

Not: Farklı harflerle gösterilen dozlar arasındaki farklar önemlidir

Table 11. Results of variance analysis by the effect of herbicide doses on worm number

Tablo 11. Herbisit dozlarının solucan sayısına etkisi bakımından varyans analizi sonuçları

Source <i>Varyasyon Kaynakları</i>	DF <i>Serbestlik Derecesi</i>	Adj SS <i>Kareler Toplamı</i>	Adj MS <i>Kareler Ortalaması</i>	F-Value <i>F-Değeri</i>	P-Value <i>Önemlilik Düzeyi (P)</i>
Treatment (<i>İlaç Uygulaması</i>)	5	197.500	39.493	8.460	0.000
Error (<i>Hata</i>)	24	112.000	4.667		
Total (<i>Genel</i>)	29	309.500			

R²=%63.81

Table 12. Descriptive statistics and Tukey multiple comparison test for numbers of worms

Tablo 12. Solucan sayıları bakımından tanımlayıcı istatistikler ve Tukey çoklu karşılaştırma testi

Herbicide Treatments <i>Herbisit Uygulamaları</i>	N <i>Tekrar Sayısı</i>	Mean <i>Ortalama</i>	Grouping <i>Gruplandırma</i>	SE Mean <i>Ort. St. Hatası</i>	Minimum <i>En Az</i>	Maximum <i>En Çok</i>
Recommended-dose (<i>Önerilen doz</i>)	5	20.200	A	0.663	18.000	22.000
Four sub-dose (<i>Dört alt doz</i>)	5	18.000	A	0.894	16.000	20.000
One sub-dose (<i>Bir alt doz</i>)	5	17.800	A	0.800	15.000	20.000
Three sub-dose (<i>Üç alt doz</i>)	5	16.400	A B	0.748	15.000	19.000
Two sub-dose (<i>İki alt doz</i>)	5	13.400	B	0.510	12.000	15.000
Control (<i>Kontrol</i>)	5	13.000	B	1.700	7.000	17.000

Note: Differences among doses which are represented by different letters are significant

Not: Farklı harflerle gösterilen dozlar arasındaki farklar önemlidir

Effects of fungicide (*Safacol®*) treatment

Results of variance analysis of the effect of fungicide doses on worm weight were presented in Table 13 and Figure 7. The effect of fungicide doses on the worm weight was not significant ($P=0.113$) (Table 13). It was determined that 29.55% of the variation observed in worm weight could be explained by the doses ($R^2=29.55\%$). The average worm weight was found minimum at Four-sub-dose (0.172 g) and maximum at Two-sub-dose (0.934 g) (Table 14).

Results of variance analysis of effect of fungicide doses on cocoon number were presented in Table 15 and Figure 8. The results of Tukey Multiple Comparison Test to determine doses causing the differences were given in Table 16. The effects of fungicide doses on cocoon numbers was statistically significant ($P=0.004$) and 49.66% of the variation observed in cocoon number could be explained by doses ($R^2=49.66\%$). The average cocoon number was found minimum at Recommended-dose (5.800 pcs) and maximum at Three-sub-dose (11.200 pcs) (Table 16).

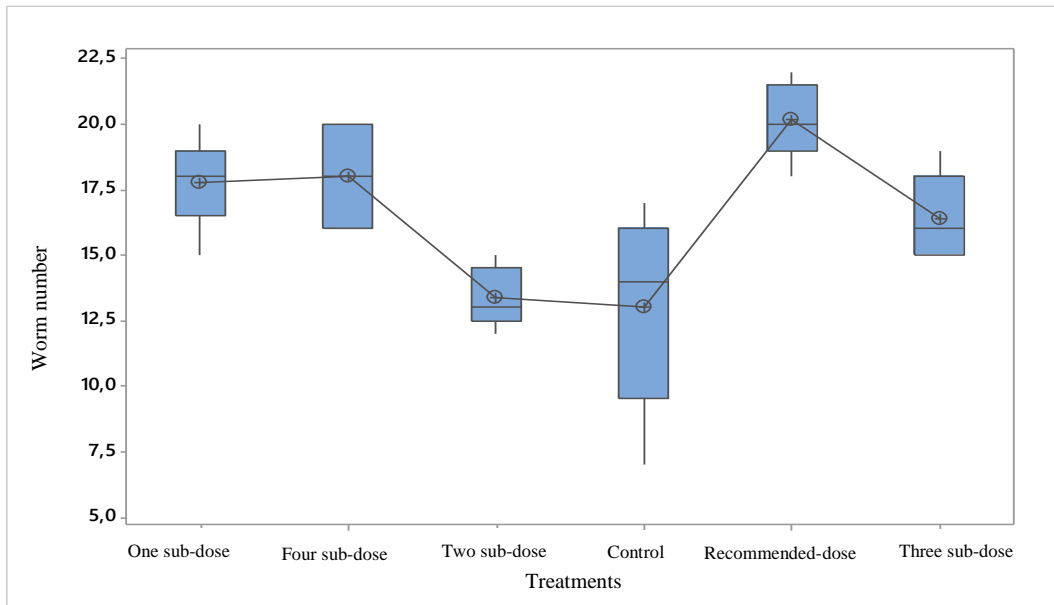


Figure 6. Effect of herbicide doses on worm number
Şekil 6. Herbisit dozlarının solucan sayısına etkisi

Table 13. Results of variance analysis by the effect of fungicide doses on worm weight

Tablo 13. Fungisit dozlarının solucan ağırlığına etkisi bakımından varyans analizi sonuçları

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
<i>Varyasyon</i>	<i>Serbestlik</i>	<i>Kareler</i>	<i>Kareler</i>	<i>F-Değeri</i>	<i>Önemlilik</i>
<i>Kaynakları</i>	<i>Derecesi</i>	<i>Toplamı</i>	<i>Ortalaması</i>		<i>Düzeyi (P)</i>
Treatment (<i>İlaç Uygulaması</i>)	5	0.177	0.035	2.010	0.113
Error (<i>Hata</i>)	24	0.423	0.018		
Total (<i>Genel</i>)	29	0.600			

$R^2=29.55$

Table 14. Introductory statistics for the worm weight according to fungicide doses

Tablo 14. Fungisit dozlarına göre solucan ağırlığı bakımından tanıtıcı istatistikler

Fungicide Treatments	N	Mean	SE Mean	Minimum	Maximum
<i>Fungisit Uygulamaları</i>	<i>Tekrar</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Ort. St. Hatası</i>	<i>En Az</i>	<i>En Çok</i>
	<i>Sayısı</i>				
One sub-dose (<i>Bir alt doz</i>)	5	0.347	0.033	0.252	0.426
Four sub-dose (<i>Dört alt doz</i>)	5	0.172	0.002	0.167	0.181
Two sub-dose (<i>İki alt doz</i>)	5	0.398	0.135	0.218	0.934
Control (<i>Kontrol</i>)	5	0.263	0.014	0.218	0.304
Recommended-dose (<i>Önerilen doz</i>)	5	0.349	0.025	0.289	0.439
Three sub-dose (<i>Üç alt doz</i>)	5	0.239	0.030	0.175	0.323

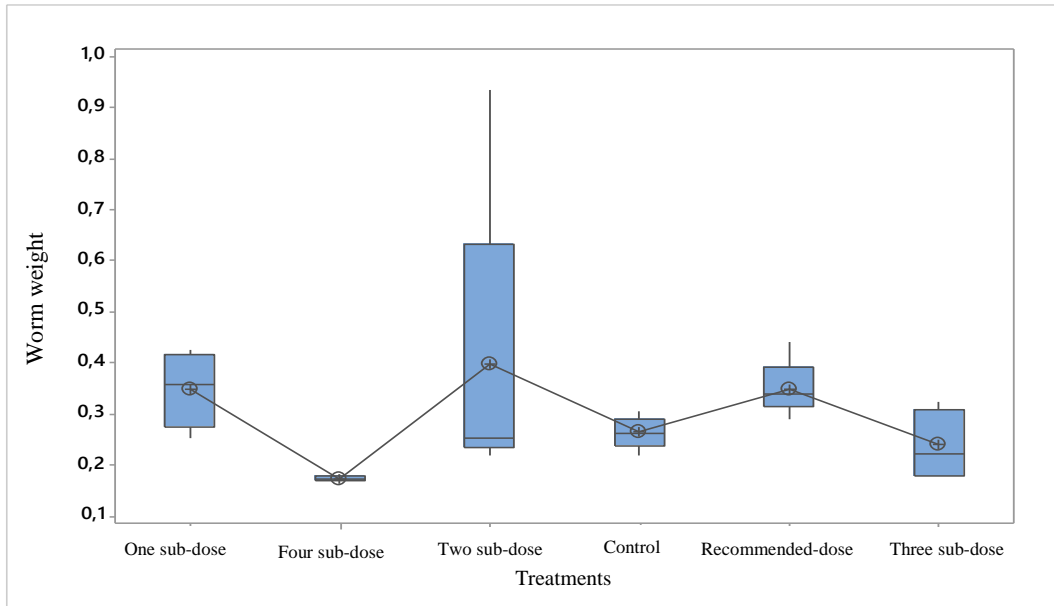


Figure 7. Effect of fungicide doses on worm weight
Şekil 7. Fungisit dozlarının solucan ağırlığına etkisi

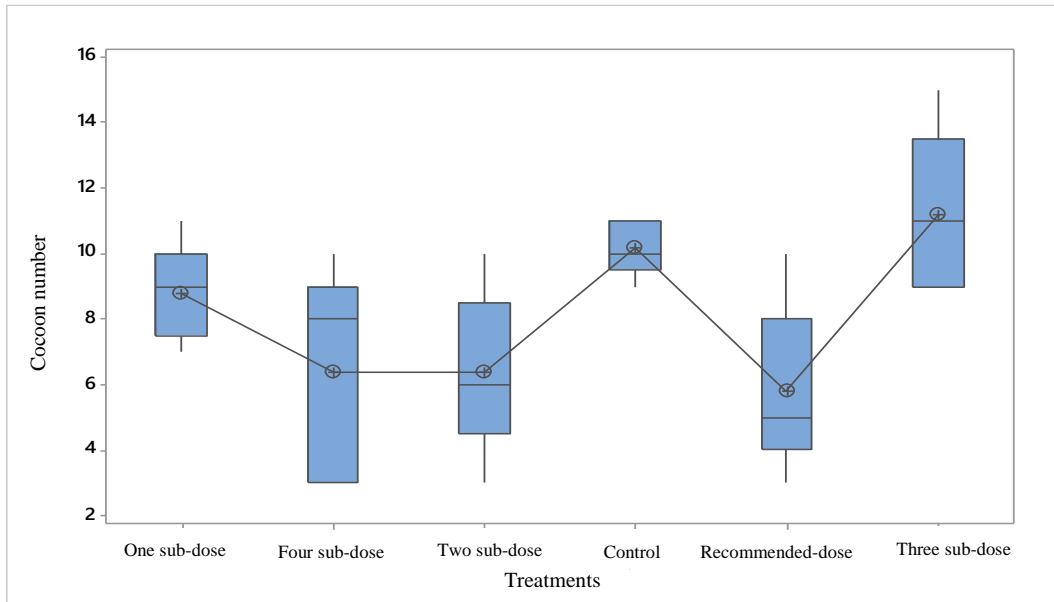


Figure 8. Effect of fungicide doses on cocoon number
Şekil 8. Fungisit dozlarının kokon sayısına etkisi

Table 15. Results of variance analysis by the effect of fungicide doses on cocoon number

Tablo 15. Fungisit dozlarının kokon sayısına etkisi bakımından varyans analizi sonuçları

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F-Değeri	Önemlilik Düzeyi (P)
Treatment (İlaç Uygulaması)	5	127.900	25.573	4.740	0.004
Error (Hata)	24	129.600	5.400		
Total (Genel)	29	257.500			

R²=%49.66

Results of variance analysis for the effect of fungicide doses on worm number were presented in Table 17 and Figure 9, and Tukey test results were given in Table 18. The effects of fungicide doses on worm number were statistically significant (P=0.003) and 51.14% of the variation observed in the number of worms could

be explained by doses (R²=51.14%). Tukey test showed that the most toxic effect emerged when Recommended-dose were applied. The average of worm number were found minimum at Recommended-dose (16.000 pcs) and maximum at Three-sub-dose (21.600 pcs) (Table18).

Table 16. Descriptive statistics and Tukey multiple comparison test for numbers of cocoons

Tablo 16. Kokon sayıları bakımından tanımlayıcı istatistikler ve Tukey çoklu karşılaştırma testi

Fungicide Treatments <i>Fungisit Uygulamaları</i>	N <i>Tekrar Sayısı</i>	Mean <i>Ortalama</i>	Grouping <i>Gruplandırma</i>	SE Mean <i>Ort. St. Hatası</i>	Minimum <i>En Az</i>	Maximum <i>En Çok</i>
Three sub-dose (<i>Üç alt doz</i>)	5	11.200	A	1.110	9.000	15.000
Control (<i>Kontrol</i>)	5	10.200	A B	0.374	9.000	11.000
One sub-dose (<i>Bir alt doz</i>)	5	8.800	A B	0.663	7.000	11.000
Two sub-dose (<i>İki alt doz</i>)	5	6.400	B	1.120	3.000	10.000
Four sub-dose (<i>Dört alt doz</i>)	5	6.400	B	1.440	3.000	10.000
Recommended-dose (<i>Önerilen doz</i>)	5	5.800	B	1.160	3.000	10.000

Note: Differences among doses which are represented by different letters are significant

Not: Farklı harflerle gösterilen dozlar arasındaki farklar önemlidir

Table 17. Results of variance analysis by the effect of fungicide doses on worm number

Tablo 17. Fungisit dozlarının solucan sayısına etkisi bakımından varyans analizi sonuçları

Source <i>Varyasyon Kaynakları</i>	DF <i>Serbestlik Derecesi</i>	Adj SS <i>Kareler Toplamı</i>	Adj MS <i>Kareler Ortalaması</i>	F-Value <i>F-Değeri</i>	P-Value <i>Önemlilik Düzeyi (P)</i>
Treatment (<i>İlaç Uygulaması</i>)	5	104.270	20.853	5.020	0.003
Error (<i>Hata</i>)	24	99.600	4.150		
Total (<i>Genel</i>)	29	203.870			

R²=%51.14

Table 18. Descriptive statistics and Tukey multiple comparison test for numbers of worms

Tablo 18. Solucan sayıları bakımından tanımlayıcı istatistikler ve Tukey çoklu karşılaştırma testi

Fungicide Treatments <i>Fungisit Uygulamaları</i>	N <i>Tekrar Sayısı</i>	Mean <i>Ortalama</i>	Grouping <i>Gruplandırma</i>	SE Mean <i>Ort. St. Hatası</i>	Minimum <i>En Az</i>	Maximum <i>En Çok</i>
Three sub-dose (<i>Üç alt doz</i>)	5	21.600	A	1.210	18.000	25.000
One sub-dose (<i>Bir alt doz</i>)	5	21.200	A	1.020	18.000	24.000
Two sub-dose (<i>İki alt doz</i>)	5	20.600	A	0.872	18.000	23.000
Four sub-dose (<i>Dört alt doz</i>)	5	20.600	A	0.872	18.000	23.000
Control (<i>Kontrol</i>)	5	20.400	A	0.812	18.000	23.000
Recommended-dose (<i>Önerilen doz</i>)	5	16.000	B	0.548	15.000	18.000

Note: Differences among doses which are represented by different letters are significant

Not: Farklı harflerle gösterilen dozlar arasındaki farklar önemlidir

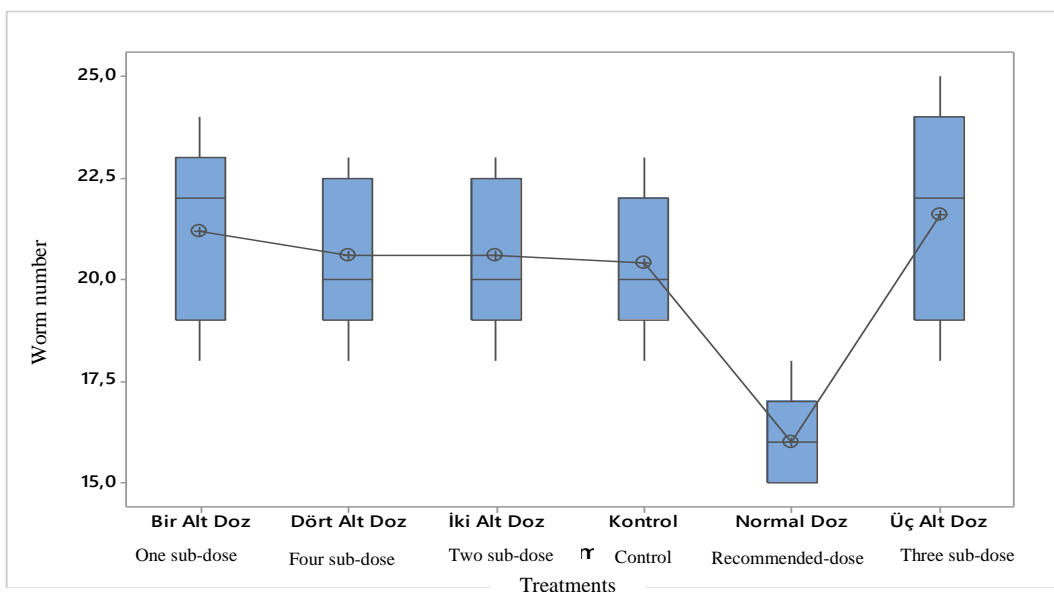


Figure 9. Effect of fungicide doses on worm number

Şekil 9. Fungisit dozlarının solucan sayısına etkisi

Compared to the control, insecticide treatments, particularly at recommended field doses and other doses, resulted negative effects on the worms weight, cocoon numbers and worm numbers. These results was supported by the findings by Haque and Ebing (1983), Bustos-Obregón and Goicochea (2002), Espinoza-Navarro and Bustos-Obregón (2005), Farrukh and S-Ali (2011), Rico et al. (2016), Wang et al. (2016) and Gupta et al. (2011). However, as slightly different from the results obtained from others, Jovana et al. (2014) detected that insecticide Galition G-5® did not cause any death in *E. foetida* members, albeit showing some sensitivity to the insecticide. Findings obtained from fungicide treatments were supported by the findings by Helling et al. (2000); yet, they differ from the results of Vermeulen et al. (2001). The findings obtained from herbicide treatments in this research were not very similar to those of Haque and Ebing (1983), Xiao et al. (2006), Correia et al. (2010), Jovana et al. (2014) and Wang et al. (2016), yet, It was considered that the results were partially compatible. In the light of findings obtained from this research, it has been determined that insecticide (Demon®) and fungicide (Safacol®), especially at the recommended dose for the field use have negative effects on *E. fetida* weight, the number of produced cocoon and the number of hatching from the cocoons; but, herbicide (Granland®) showed less negative effect. It has been realized that these results share similarity with the findings obtained by Heimbach (1992), Yasmin and D'Souza (2007), and Wang et al. (2012).

CONCLUSIONS

Consequently, it has been detected that among the pesticides tested, especially insecticide and fungicide have negative effects on *E. fetida*. With the awareness that pesticides regarded as a must in agricultural activities in present-day conditions effect every individual and every single thing, it is recommended that:

- 1) Pesticides should be definitely subjected to a wide range of toxicity tests before they are launched to the market,
- 2) Should be specific to the target pest,
- 3) Should not be used above the recommended dosing rate, and
- 4) Should be considered as measure of the last resort in pest control.

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to thank to Prof. Dr. Mehmet MENDEŞ for his help in the interpretations of the statistical analyses for the study. This study constitutes a part of a Master thesis (Some Biological Parameters of *Eisenia foetida* Grown in Pesticide Treated

Vermicomposts, by author Birgül ILIKHAN, Bitlis Eren University).

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Bustos-Obregón E, Goicochea RI 2002. Pesticide Soil Contamination Mainly Affects Worm Male Reproductive Parameters. *Asian Journal of Andrology*, 4(3): 195-200.
- Correia FV, Moreira JC 2010. Effects of Glyphosate and 2, 4-D on Worms (*Eisenia foetida*) in Laboratory Tests. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85(3): 264-268.
- Dığrak M, Kaçar N, Sönmez A 1999. Pomarsol, Mitikol, Rubigan ve Platoon'un Toprak Mikroflorası Üzerine Etkileri. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(5): 1071-1077.
- Espinoza-Navarro O, Bustos-Obregón E 2005. Effect of Malathion on the Male Reproductive Organs of Worms, *Eisenia foetida*. *Asian Journal of Andrology*, 7(1): 97-101.
- Farrukh S, S-Ali A 2011. Effects of Dichlorovos Organophosphate on Growth, Reproduction, and Avoidance Behavior of Worm *Eisenia foetida*. *Iranian Journal of Toxicology*, 5(14): 495-501.
- Gunadi B, Edwards CA, Blount C 2002. The Influence of Different Moisture Levels on the Growth, Fecundity and Survival of *Eisenia fetida* in Cattle and Pig Manure Solids. The Ohio State University, Columbus (USA).
- Gupta RD, Chakravorty PP, Kaviraj A 2011. Susceptibility of Epigeic Worm *Eisenia fetida* to Agricultural Application of Six Insecticides. *Chemosphere*, 84(5): 724-726.
- Haque A, Ebing W 1983. Toxicity Determination of Pesticides to Worms in the Soil Substrate. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 395-408.
- Helling B, Reinecke SA, Reinecke AJ 2000. Effects of the Fungicide Copper Oxylchloride on the Growth and Reproduction of *Eisenia foetida* (Oligochaeta). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46(1): 108-116.
- Heimbach F 1992. Correlation Between Data from Laboratory and Field Tests for Investigating the Toxicity of Pesticides to Worms. *Soil Biology and Biochemistry*, 24(12): 1749-1753.
- Jovana M, Tanja M, Mirjana S 2014. Effects of Three Pesticides on the Worm *Eisenia foetida* (Savigny 1826) Under Laboratory Conditions: Assessment of mortality, biomass and growth

- inhibition. *European Journal of Soil Biology*, 62: 127-131.
- Rico A, Sabater C, Castillo MA 2016. Lethal and Sublethal Effects of Five Pesticides used in Rice Farming on the Worm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 127: 222-229.
- Vermeulen LA, Reinecke AJ, Reinecke SA 2001. Evaluation of the Fungicide Manganese-Zinc Ethylene Bis (Dithiocarbamate)(Mancozeb) for Sublethal and Acute Toxicity to *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48(2): 183-189.
- Wang Y, Wu S, Chen L, Wu C, Yu R, Wang Q, Zhao X 2012. Toxicity Assessment of 45 Pesticides to the Epigeic Worm *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 88(4): 484-491.
- Wang Y, An X, Shen W, Chen L, Jiang J, Wang Q, Cai L 2016. Individual and Combined Toxic Effects of Herbicide Atrazine and Three Insecticides on the Worm, *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology*, 25(5): 991-999.
- Winer BJ, Brown DR, Michels KM 1971. *Statistical principles in experimental design*. Vol. 2. McGraw-Hill, New York (USA).
- Xiao N, Jing B, Ge F, Liu X 2006. The Fate of Herbicide Acetochlor and Its Toxicity to *Eisenia fetida* Under Laboratory Conditions. *Chemosphere*, 62(8): 1366-1373.
- Yasmin S, Souza DD' 2007. Effect of Pesticides on the Reproductive Output of *Eisenia fetida*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79(5): 529-532.
- Yasmin S, Souza DD' 2010. Effects of Pesticides on the Growth and Reproduction of Worm: A Review. *Applied and Environmental Soil Science*, 1-9.



Samsun, Amasya, Tokat ve Eskişehir İlleri Memeli Faunası ve Türlerin Koruma Statüleri

Ahmet Yesari SELÇUK¹, Haluk KEFELİOĞLU^{2*}

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Samsun

¹<https://orcid.org/0000-0002-2785-2823>, ²<https://orcid.org/0000-0002-7421-6037>

✉: halukefe@omu.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada Samsun, Amasya, Tokat ve Eskişehir illerinin memeli faunası araştırılmış ve belirlenen memeli türlerinin koruma statüleri belirtilmiştir. Samsun, Amasya, Tokat ve Eskişehir illerinde 2014-2016 yılları arasında arazi çalışması gerçekleştirilmiştir. Arazi çalışmaları sırasında, canlı hayvan yakalama kapanları, çukur tuzaklar, fotokapan, yuva alanları, hayvan dışkı ve izleri ve pelet içeriklerindeki (baykuş kusmukları) memeli hayvan kalıntılarında (kafatası ve çene kemikleri) faydalanılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda Böcekçiller (Eulipotyphla), Kemiriciler (Rodentia), Tavşanlar (Lagomorpha), Etçiller (Carnivora) ve Çift Toynaklılar (Cetartiodactyla) takımları içerisinde sınıflandırılan Samsun ili için 47, Amasya ili için 32, Tokat ili için 49 ve Eskişehir ili için 34 memeli hayvan türü tespit edilmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 22.07.2019

Kabul Tarihi : 08.11.2019

Anahtar Kelimeler

Biyolojik çeşitlilik

Kromozom

Kafkasya küçük böcekçili

Microtus sp. Pelet

Mammalian Fauna of Samsun, Amasya, Tokat and Eskisehir Provinces and Conversation Status of Species (Classis: Mammalia)

ABSTRACT

In this study, the mammalian fauna of Samsun, Amasya, Tokat and Eskisehir provinces was investigated and their protection status was determined. In 2014-2016, field studies were carried out in Samsun, Amasya, Tokat and Eskisehir provinces. During the field studies, it was utilized from live animal trapping tools, pit traps, phototraps, nest areas, animal feces and traces, and mammalian remains (skull and jaw bones) in pellet contents (owl pellets). As a result of these investigations, 47 mammal species classified in insectivores (Eulipotyphla), rodents (Rodentia), Rabbitish (Lagomorpha), Carnivores, Even-toed ungulates (Cetartiodactyla) mammal groups were identified for Samsun province, 32 for Amasya province, 49 for Tokat province and 34 for Eskisehir province.

Research Article

Article History

Received : 22.07.2019

Accepted : 08.11.2019

Keywords

Biological diversity

Chromosome

Microtus sp., Pellet

Sorex volnuchini

To Cite : Selçuk AY, Kefelioğlu H 2020. Samsun, Amasya, Tokat ve Eskişehir İlleri Memeli Faunası ve Türlerin Koruma Statüleri. KSU Tarım ve Doğa Derg 23 (2): 378-386. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.595008.

GİRİŞ

Türkiye, Asya, Afrika ve Avrupa arasındaki coğrafik konumu, iklimsel çeşitliliği, eşsiz jeolojik geçmişinden dolayı biyolojik çeşitlilik açısından oldukça zengindir (Karataş, 2006). Ülkemizdeki 160'tan fazla memeli türü bulunmaktadır (Karataş, 2006). Türkiye'de yayılış gösteren 150'den fazla memeli türünün (deniz memelileri hariç) Kryštufek ve Vohralik (2001, 2005, 2009) koruma statüleri ise, global ölçekte 10 tür veri yetersiz (DD), 11 tür hassas (VU), 10 tür tehlikeye girebilir (NT), 2 tür tehlike altında (EN) ve 117'den fazla tür düşük risk (LC) şeklindedir (IUCN, 2019).

Son yıllarda Türkiye'de memeli hayvan çeşitliliğinin belirlenmesine yönelik birçok çalışma gerçekleştirilmiştir (Karataş, 2016; Bulut ve ark., 2017; Gözütok, 2017; Toyran ve ark., 2017; Toyran ve

Adızel, 2018; Yağcı, 2019). Bu çalışmada gerçekleştirilen arazi çalışmaları sonucunda Samsun, Amasya, Tokat ve Eskişehir illerinin memeli faunasının güncel durumuna katkı yapılması ve türlerin koruma statülerinin anlaşılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada, Samsun, Amasya, Tokat ve Eskişehir illerinde yayılış gösteren memeli türlerinin belirlenmesine yönelik 2014 ve 2016 yılları arasında her ilde ayrı ayrı arazi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışma alanında ağırlığı 100 g'dan daha düşük olan küçük memeliler için yüksek hassasiyete sahip canlı hayvan yakalama kapanları (Sherman tipi kapan, 100 adet) ve çukur tuzak yöntemi kullanılmıştır. Arazi

çalışmaları sonucunda elde edilen Memeli hayvanların, iç ve dış morfolojik karakterleri ve ayırımında güçlük çekilen türler için kromozom analizleri ve mt-DNA sitokrom *b* gen bölgesi (1140 baz çifti) tür teşhislerinin gerçekleştirilmesinde kullanılmıştır. Kromozom analizler (standart karyotip, C-bantlama, Ag-NOR bantlama) Ford ve Hamerton (1956), Summer (1972), Howell ve Black (1980)'a göre gerçekleştirilmiştir. mt-DNA sitokrom *b* gen bölgesi analizinde ise Selçuk (2018)'de gerçekleştirilen yöntem kullanılmıştır. mt-DNA sitokrom *b* gen bölgesi elde edildikten sonra Gen Bankası'nda (NCBI) her bir dizinin BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analizi sadece *Sorex* türlerinin teşhisinde kullanılmıştır. BLAST analizi gerçekleştirilerek her bir sitokrom *b* dizisinin *Sorex* türlerine ait diğer örneklerle benzerliği kontrol edilmiştir (Selçuk, 2018). *Microtus* (Tarla fareleri) türleri morfolojik karakterlerine dayalı tür teşhislerinin yapılması yarılmalara yol açabileceği için *Microtus* cinsi içerisinde yer alan türlerin teşhisinde kromozom analizlerinin sonuçları dikkate alınmıştır. Canlı yakalama kapanlarının yanı sıra, çalışma alanında yayılış göstermesine rağmen canlı yakalama kapanları ile yakalanamamış küçük memelilerin belirlenebilmesi için, arazi çalışması boyunca baraka, terk edilmiş binalar, bozkır alanlar ve çamlık alanlardan baykuş ve yırtıcı kuş peletleri (kusmukları) toplanmıştır. Türkiye'de yayılış gösteren birçok baykuş türünün ana besin kaynağını küçük memeliler oluşturabilmektedir (Bulut ve ark., 2012; Kaya ve Coşkun, 2017; Selçuk ve ark., 2017, 2018, 2019). Bu nedenle arazi çalışmaları sonucunda elde edilen peletlerin içerikleri laboratuvar ortamında analiz edilmiş ve pellet içeriklerinden elde edilen küçük memelilere ait kafatası ve çene kemikleri tür teşhisinde kullanılmıştır. Çalışma alanında yayılış gösteren büyük memelilerin belirlenmesinde, fotokapanlar, ayak izi, dışkı, kemirme, eşinme, ağaçlarda bırakılan izlerden faydalanılmıştır. Bu sayede çalışma alanında yayılış gösteren büyük memeliler tespit edilmiştir. Yarasa türlerinin alandaki varlığının belirlenebilmesi için Yarasa dedektörü (Anabat ver:1.9, model: Pettersson/M500-384) kullanılmıştır. Memeli tür teşhisleri yapılırken Kryštufek ve Vohralik (2001, 2005, 2009), Turan (1984), Wilson ve Reeder (2005) dikkate alınmıştır. Büyük memelilere ait ayak izi ve dışkıdan tür teşhisinde ise WWF- Türkiye (Doğal Hayat Koruma Vakfı) "Türkiye' deki Memeli Hayvanların İz Rehberi" kitapçığından faydalanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

2014-2016 yılları arasında gerçekleştirilen arazi çalışmaları sonucunda (her ilde 40 gün arazi çalışması gerçekleştirilmiştir), Samsun/Amasya/Tokat/Eskişehir illerinde

Eulipotyphla 7/4/3/3, Chiroptera 6/1/8/3, Rodentia 20/19/24/16, Lagomorpha 1/1/1/1, Carnivora 10/5/9/8, Cetartiodactyla 3/2/4/3 olmak üzere toplam Samsun için 47, Amasya için 32, Tokat için 49 ve Eskişehir için 34 memeli hayvan türü tespit edilmiştir. Bu türlerden Samsun ili için LC: 43 tür, VU: 1 tür, NT: 2 tür, DD: 1 tür, Amasya ili için LC: 29 tür, VU:-, NT: 2 tür, DD: 1 tür, Tokat ili için LC: 43 tür, VU: 2 tür, NT: 4 tür, DD: 1 tür ve Eskişehir ili için LC: 31 tür, VU: -, NT: 2 tür, DD: 1 tür koruma statülerinde oldukları belirlendi (Çizelge 1).

İç ve dış morfolojik özelliklerinin türler arasında fark edilemeyecek kadar farklılık göstermesinden dolayı morfolojik verilere dayalı *Sorex* taksonomisi tartışmalıdır (Churchfield, 1990). Türkiye'de yayılış gösteren *Sorex* türlerinin dış karakterleri tür teşhisinde önemli rol oynamaktadır (Kryštufek ve Vohralik, 2001). Ancak, dış karakterlerine dayalı tür teşhisi, araştırmacının değerlendirmesine bağlı olduğu ve dış karakterlerinin coğrafik varyasyon göstermesinden dolayı yetersiz taksonomik veri elde edilmesine sebep olmaktadır (Dolgov, 1968; Dannelid, 1998). Bu nedenle, morfolojik karakterlere dayalı tür teşhisi yerine kromozom analizi ve sitokrom *b* gen bölgesine ait nükleotit dizisinin BLAST analizi sonucunda (Selçuk, 2018) Samsun ili sınırları içerisinde *Sorex volnuchini* türlerinin yayılış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 1c, 2, 3c; Çizelge 1).

Arazi çalışması sonucunda elde edilen *Crocridura suaveolens* (2n=40), *Crocridura leucodon* (2n=28) *Sorex volnuchini* (2n=40), *Cricetulus migratorius* (2n=22) ve *Myodes glareolus* (2n=56) türlerine ait kromozom analizlerinin metafaz plakları da Şekil 3'de gösterilmiştir. Bu sonuçların türler üzerinde daha önce yapılan karyotip çalışmaları ile uyumlu oldukları belirlendi (Arslan ve Akan, 2008; Çolak ve Kıvanç, 1991; Selçuk ve Kefelioğlu, 2017, 2018; Tez, 2000).

Arazi çalışmaları sonucunda canlı yakalama kapanları ve çukur tuzaklar gibi geleneksel canlı hayvan yakalama teknikleri ile arazi çalışmaları sırasında belirlenememiş türlerin tespit edilmesinde baykuş ve yırtıcı kuş peletlerinin analizi oldukça kullanışlı bir yöntemdir (Teta ve ark., 2010; Yalden, 2009). Samsun ve Amasya illerinden elde edilen peletlerin analizi sonucunda *Crocridura suaveolens*, *Crocridura leucodon*, *Suncus etruscus*, *Mus macedonicus*, *Mus domesticus*, *Rattus norvegicus*, *Apodemus flavicollis*, *Microtus levis*, *Arvicola amphibius*, *Meriones tristrami*, *Cricetulus migratorius*, *Mesocricetus brandti*, *Nannospalax xanthodon*, *Pipistrellus pipistrellus* türler belirlenmiştir (Şekil 1a; 4a,c,d,e; Çizelge 1).

Sorex türlerinde olduğu gibi morfolojik olarak birbirlerine benzeyen *Microtus* türlerinin (Şekil 5 c, d) kromozom analizleri sonucunda *Microtus guentheri* için 2n=54 ve NFa=54; *Microtus subterraneus* için 2n=54 ve NFa=56; *Microtus levis* için 2n=54 ve NFa=54; *Microtus dogramacii* için ise 2n=48 ve

NFa=48 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçların daha önce Türkiye'den farklı araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen karyolojik çalışmalar ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir (Çolak ve ark., 1997; Kefelioğlu, 1995; Kefelioğlu ve Kryštufek, 1999).

Spermophilus xanthoprimum (Şekil 6b) ve *Mesocricetus brandti* türlerinin global ölçekte yayılış sınırlarını büyük bir bölümünü Anadolu oluşturmaktadır (Kryštufek ve Vohralik, 2005, 2009; Šidlovskij, 1976). Her iki türde yayılış gösterdiği

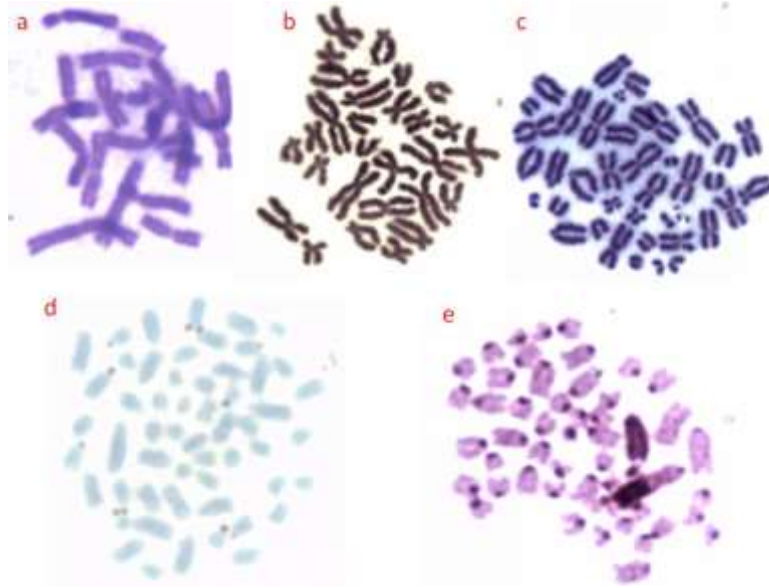
Anadolu'da habitat olarak genellikle bozkır alanları tercih etmektedirler (Gür ve Gür, 2010; Kryštufek ve Vohralik, 2009). Dar bir coğrafya da yayılış gösteren her iki türün de koruma statüsü Tehlike altına girebilir (NT) şeklinde olup popülasyonları azalma göstermektedir (IUCN 2019; Çizelge 1). Tarım alanlarını genişletme çalışmaları sonucunda her iki türün de yaşam alanı olan bozkırların bozulması, popülasyonların parçalanmasına ve azalmasına neden olduğu için türler için tehlike oluşturmaktadır (IUCN, 2019).



Şekil 1. a: Pelet analizi sonucunda elde edilen *Suncus etruscus* kafatası, b: Çukur tuzak yöntemi ile yakalanan *Crocidura suaveolens*, c: *Sorex volnuchini* kafatası, d: *Neomys anomalus*, e: *Erinaceus concolor*, f: *Talpa levantis*
Figure 1. a: Skull of the *Suncus etruscus* obtained from owl pellet analysis b: *Crocidura suaveolens* caught with pitfall trap c: skull of *Sorex volnuchini*, d: *Neomys anomalus*, e: *Erinaceus concolor*, f: *Talpa levantis*



Şekil 2. *Sorex volnuchini* türünün mt-DNA sitokrom b gen bölgesine ait nükleotit dizisi (sadece 560 baz çifti gösterilmiştir).
Figure 2. Nucleotide sequence of the mt-DNA cytochrome b gene region of *Sorex volnuchini* (only 560 base pairs was shown)



Şekil 3. Çalışmada elde edilen örneklerle ait kromozom analiz sonuçları, a: *Cricetulus migratorius* (2n=22, Standart karyotip), b: *Crocidura leucodon* (2n=28, Standart karyotip), c: *Sorex volnuchini* (2n=40, Standart karyotip), d: *Myodes glareolus* (2n=56, Ag-NOR bantlama sonucu), e: *Microtus levis* (2n=54, C-bantlama sonucu)

Figure 3. Result of the chromosome analysis a: *Cricetulus migratorius* (2n=22, conventional karyotype), b: *Crocidura leucodon* (2n=28, conventional karyotype), c: *Sorex volnuchini* (2n=40, conventional karyotype), d: *Myodes glareolus* (2n=56, Ag-NOR banding), e: *Microtus levis* (2n=54, C-banding)



Şekil 4. Dışkı örneği ve pelet analizlerinden elde edilen memeli hayvan kalıntıları, a: *Apodemus flavicollis*, b: *Canis lupus* dışkısı, c: *Mus macedonicus*, d: *Meriones tristrami*, e: *Rattus norvegicus*,

Figure 4. Feces sample and mammals fragments extracted from owl pellets a: *Apodemus flavicollis*, b: feces of *Canis lupus*, c: *Mus macedonicus*, d: *Meriones tristrami*, e: *Rattus norvegicus*,

Türkiye'nin nehir, göl, akarsu gibi sucul alanlarında yayılış gösteren *Lutra lutra* türünün (Şekil 7d,f) koruma statüsü günümüzde Yakın tehdit (NT) şeklinde olup, bu türün popülasyonlarındaki bireyleri tehdit eden unsurların başında araç çarpması (Şekil 7d), avcılık, yaşam alanlarının kirletilmesi ve doğal

yaşam alanlarındaki kıyı bitki örtüsünün tahribi gelmektedir (Roos ve ark., 2001; Simpson, 1997; Turan ve ark., 2015; Tüzün ve Albayrak, 2005). Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada *Lutra lutra* (Şekil 7d), *Martes foina*, *Vulpes vulpes*, *Erinaceus concolor* (Şekil 1e) türlerine karayollarında ölü olarak rastlanıl-

Çizelge 1. Samsun, Amasya, Tokat ve Eskişehir illerinde gerçekleştirilen arazi çalışması sonucunda belirlenebilen memeli türleri ve IUCN koruma statüleri

Table 1. Identifiable species as a result of field studies conducted in Samsun, Amasya, Tokat and Eskişehir provinces and IUCN conservation status

Takım	Familiya	Tür	Samsun	Amasya	Tokat	Eskişehir	ICUN
Order	Family	Species	Samsun	Amasya	Tokat	Eskişehir	IUCN
Eulipotyphla	Soricidae	<i>Sorex volnuchini</i>	+				LC
	Soricidae	<i>Neomys anomalus</i>	+				LC
	Soricidae	<i>Crocidura suaveolens</i>	+	+	+	+	LC
	Soricidae	<i>Crocidura leucodon</i>	+	+	+	+	LC
	Soricidae	<i>Suncus etruscus</i>	+				LC
	Erinaceidae	<i>Erinaceus concolor</i>	+	+	+	+	LC
	Talpidae	<i>Talpa levantis</i>	+	+			LC
	Chiroptera	Rhinolophidae	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	+		+	+
Rhinolophidae		<i>Rhinolophus hipposideros</i>	+		+	+	LC
Rhinolophidae		<i>Rhinolophus euryale</i>			+		NT
Vespertilionidae		<i>Myotis daubentonii</i>	+				LC
Vespertilionidae		<i>Myotis emarginatus</i>	+				LC
Vespertilionidae		<i>Myotis myotis</i>			+	+	LC
Vespertilionidae		<i>Eptesicus serotinus</i>	+		+		LC
Vespertilionidae		<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	+	+	+		LC
Vespertilionidae		<i>Myotis blythii</i>			+		LC
Vespertilionidae		<i>Myotis aurascens</i>			+		LC
Rodentia	Sciuridae	<i>Sciurus anomalus</i>	+	+	+	+	LC
	Sciuridae	<i>Spermophilus xanthopymnus</i>		+	+	+	NT
	Cricetidae	<i>Arvicola amphibius</i>	+	+	+	+	LC
	Cricetidae	<i>Myodes glareolus</i>	+	+	+		LC
	Cricetidae	<i>Microtus levis</i>	+	+	+	+	LC
	Cricetidae	<i>Microtus dogramacii</i>	+	+	+		LC
	Cricetidae	<i>Microtus guentheri</i>		+	+	+	LC
	Cricetidae	<i>Microtus majori</i>	+				LC
	Cricetidae	<i>Microtus subterraneus</i>	+	+	+		LC
	Cricetidae	<i>Mesocricetus brandti</i>	+	+	+		NT
	Cricetidae	<i>Cricetulus migratorius</i>		+	+		LC
	Muridae	<i>Apodemus mystacinus</i>	+		+	+	LC
	Muridae	<i>Apodemus flavicollis</i>	+	+	+	+	LC
	Muridae	<i>Apodemus witherbyi</i>	+		+	+	LC
	Muridae	<i>Apodemus uralensis</i>	+	+	+		LC
	Muridae	<i>Mus domesticus</i>	+	+	+	+	LC
	Muridae	<i>Mus macedonicus</i>	+	+	+	+	LC
	Muridae	<i>Rattus rattus</i>	+	+	+	+	LC
	Muridae	<i>Rattus norvegicus</i>	+	+	+	+	LC
	Muridae	<i>Meriones tristrami</i>		+	+	+	LC
	Spalacidae	<i>Nannospalax xanthodon</i>	+	+	+	+	DD
	Gliridae	<i>Dryomys nitedula</i>	+		+	+	LC
Gliridae	<i>Muscardinus avellanarius</i>	+		+		LC	
Gliridae	<i>Glis glis</i>	+		+		LC	
Dipodidae	<i>Allactaga williamsi</i>		+	+	+	LC	
Lagomorpha	Leporidae	<i>Lepus europaeus</i>	+	+	+	+	LC
Carnivora	Canidae	<i>Canis lupus</i>	+	+	+	+	LC
	Canidae	<i>Canis aureus</i>	+		+	+	LC

	Canidae	<i>Vulpes vulpes</i>	+	+	+	+	LC
	Ursidae	<i>Ursus arctos</i>	+		+	+	LC
	Mustelidae	<i>Mustela nivalis</i>	+	+	+	+	LC
	Mustelidae	<i>Martes foina</i>	+	+	+	+	LC
	Mustelidae	<i>Meles meles</i>	+	+	+		LC
	Mustelidae	<i>Vormela peregusna</i>	+		+		VU
	Mustelidae	<i>Lutra lutra</i>	+		+	+	NT
	Felidae	<i>Felis silvestris</i>	+				LC
	Felidae	<i>Felis chaus</i>				+	LC
Cetartiodactyla	Suidae	<i>Sus scrofa</i>	+	+	+	+	LC
	Cervidae	<i>Cervus elaphus</i>	+			+	LC
	Cervidae	<i>Capreolus capreolus</i>	+	+	+	+	LC
	Bovidae	<i>Capra aegagrus</i>			+		VU
	Bovidae	<i>Rupicapra rupicapra</i>			+		LC

mıştır. Doğal habitatlarda bulunan karayollarının popülasyonları parçalaması ve bariyer görevi görmesi, araç çarpmaları sonucunda yaban hayvanlarının ölümüne sebep vermesi (Şekil 7d), doğal habitatlarda kayba sebebiyet vermesi gibi etkilerinin olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Benítez-López ve ark., 2010; Forman ve ark., 2003; Van der Ree ve ark., 2011).

Türkiye’de koruma altında olan ve popülasyonu azalma eğilimi gösteren koruma statüsü ise hassas (VU) kategorisinde olan *Capra aegagrus* türünü tehdit eden başlıca unsur bu türün aşırı avlanmasıdır (IUCN, 2019).

SONUÇ

Sonuç olarak, gerçekleştirilen bu çalışma ile Samsun ili için 47, Amasya ili için 32, Tokat ili için 49 ve Eskişehir ili için 34 memeli hayvan türü tespit edilmiştir. Bu türlerden *Lutra lutra*, *Spermophilus xanthoprymnus*, *Mesocricetus brandti*, *Rhinolophus euryale*, *Vormela peregusna* ve *Capra aegagrus* nesli Yakın Tehdit (NT) veya Hassas (VU) kategorisinde yer almaktadır. Bu türlerin popülasyon yoğunlukları

tespit edilerek, türlere özgü koruma yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Tarım ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Müdürlüğü tarafından yürütülen ‘Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanteri ve İzleme Projesi (UBENİS)’ kapsamında gerçekleştirilmiştir. Tarım ve Orman Bakanlığı Samsun, Amasya, Tokat ve Eskişehir şube müdürlüğü çalışanlarına arazi çalışmalarına katkılarından dolayı teşekkür ederiz. Ayrıca sayın Nizamettin Yavuz’a fotoğraflar için teşekkür ederiz (Şekil 5b; Şekil 6a,b,c,d; Şekil 7a,b,c,e,f).

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.



Şekil 5. a: *Arvicola amphibius*, b: *Rattus norvegicus*, c: *Microtus guentheri*, d: *Microtus dogramacii*
Figure 5. a: *Arvicola amphibius*, b: *Rattus norvegicus*, c: *Microtus guentheri*, d: *Microtus dogramacii*



Şekil 6. a: *Sciurus anomalus*, b: *Spermophilus xanthoprimum*, c: *Capreolus capreolus*, d: *Sus scrofa*
Figure 6. a: *Sciurus anomalus*, b: *Spermophilus xanthoprimum*, c: *Capreolus capreolus*, d: *Sus scrofa*



Şekil 7. a: *Canis aureus*, b: *Felis silvestris*, c: *Lepus europaeus*, d: araç çarpması sonucunda ölmüş olan *Lutra lutra*, e: *Mustela nivalis*, f: *Lutra lutra*
Figure 7. a: *Canis aureus*, b: *Felis silvestris*, c: *Lepus europaeus*, d: *Lutra lutra* was killed by a car crash on road, e: *Mustela nivalis*, f: *Lutra lutra*

KAYNAKÇA

Arslan A., Akan Ş. 2008. G- and C-banded karyotype of *Cricetulus migratorius* Pallas, 1773 (Mammalia: Rodentia) in Central Anatolia. Turkish Journal of

Zoology, 32: 453–456.

Benítez-López A., Alkemade R., Verweij PA. 2010. The impacts of roads and other infrastructure on mammal and bird populations: A meta-analysis.

- Biological Conservation, 143:1307- 1316.
- Bulut Ş., Akbaba B., Ayaş Z. 2012. Analysis of mammal remains from owl pellets (*Asio otus*) in a suburban area in Beytepe, Ankara. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 40: 233–237.
- Bulut Ş., Akbaba B., Karataş A. 2017. Contributions to the Knowledge of Mammals in Çorum Province, Turkey. Hittite Journal of Science and Engineering, 4(1): 57-63.
- Churchfield S. 1990. *The natural history of shrews*. London, Christopher Helm Publishers, London, 192p.
- Çolak E., Kıvanç E. 1991. Distribution and taxonomic status of genus *Clethrionomys* Tilesius, 1850 (Mammalia: Rodentia) in North Anatolia. Communications Faculty Sciences University Ankara, 9: 1–16. (in Turkish with English summary).
- Çolak E., Yiğit N., Sözen M., Özkurt Ş. 1997. A study on taxonomic status of *Microtus subterraneus* (de Selys Longchamps, 1836) and *Microtus majori* Thomas, 1906 (Mammalia: Rodentia) in Turkey. Turkish Journal of Zoology, 22: 119–129 (in Turkish with English summary).
- Dannelid E. 1998. *Dental adaptations in shrews*. Mammal Research Institute, Polish Academy of Sciences, Białostockie Zakłady Graficzne, Poland, 174p.
- Dolgov VA. 1968. Structure and variability of some bones of the postcranial skeleton of Palearctic red-toothed shrews (Mammalia, *Sorex*). Proceedings of Zoological Museum, 10: 179-199.
- Ford CE., Hamerton, JL. 1956. A colchicine, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. Stain Technology, 31: 247-251.
- Forman RTT., Sperling D., Bissonette JA., Clevenger AP., Cutshall CD., Dale VH., Fahrig L., France R., Goldman CR., Heanue K., Jones JA., Swanson FJ., Turrentine, T., Winter TC. 2003. Road Ecology. Science and Solutions. Island Press, Washington, D.C., USA.
- Gözütok S. 2017. Mammalian Fauna of Bursa Province and Conversation Status of Species (Classis: Mammalia). International Journal of Agriculture and Wildlife Science, 3(2): 120-130.
- Howell WM., Black DA. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. Experientia, 36: 1014-1015.
- Karatas A., 2006. Türkiye'nin memelileri. In: Eken G., Bozdoğan M., Isfendiyaroğlu., S., Kılıc DT., Lise Y. (Eds.), Türkiye'nin Önemli Doğa Alanları. Doğa Derneği, Ankara, Turkey, pp. 50–51 (in Turkish).
- Karataş A., 2016. Hatay ilini memeli faunası. Tabiat ve İnsan, 194: 15-21.
- Kaya A., Çoşkun Y. 2017. Erzurum'dan Toplanan Kulaklı Orman Baykuşu (*Asio otus*) Peletlerinde Memeli Hayvan Türleri. Bitlis Eren University Journal of Science, 6: 47-50.
- Kefelioğlu H. 1995. The taxonomy of the genus of *Microtus* (Mammalia: Rodentia) and its distribution in Turkey. Turkish Journal of Zoology, 19: 35–63. (in Turkish with English summary)
- Kefelioğlu H., Kryštufek B. 1999. The taxonomy of *Microtus socialis* group (Rodentia: Microtinae) in Turkey, with the description of a new species. Journal of Natural History, 33: 47–67.
- Kryštufek B., Vohralík V. 2001. Mammals of Turkey and Cyprus: Insectivora. Annales Majora, Koper.
- Kryštufek B., Vohralík V. 2005. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia I: Sciuridae, Dipodidae, Gliridae, Arvicolinae. Annales Majora, Koper.
- Kryštufek B., Vohralík V. 2009. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia II: Cricetinae, Muridae, Spalacidae, Calomyscidae, Capromyidae, Hystricidae, Castoridae. Annales Majora, Koper.
- Roos A., Greyerz E., Olsson M., Sandegren F. 2001. The otter (*Lutra lutra*) in Sweden- population trends in relation to DDT and total PCB concentrations during 1968±99. Environmental Pollution, 111: 457-469.
- Šidlovskij MV. 1976. Opredelitel gryzunov Zakavkazja. Akademija nauk Gruzinskoj SSR, Tbilisi.
- Simpson VR. 1997. Health status of otter (*Lutra lutra*) in south-west England based on postmortem findings. Veterinary record, 141: 191-7.
- Selçuk AY., Kefelioğlu H. 2017. Cytogenetic characteristic of the Caucasian pygmy shrew (*Sorex volnuchini*) and Levant mole (*Talpa levantis*) (Mammalia: Eulipotyphla) in northern Anatolia, Turkey. Turkish Journal of Zoology, 41: 963-969.
- Selçuk AY., Bankoğlu K., Kefelioğlu H. 2017. Comparison of Winter Diet of Long-eared Owls *Asio otus* (L., 1758) and Short-eared Owls *Asio flammeus* (Pontoppidan, 1763) (Aves: Strigidae) in Northern Turkey. Acta Zoologica Bulgarica, 69: 345-348.
- Selçuk AY., Özkoç ÜÖ., Kefelioğlu H. 2018. Diet Composition of the Barn Owl *Tyto alba* (Scopoli, 1769) (Strigiformes: Tytonidae) in the Kızılırmak Delta, Turkey. Acta Zoologica Bulgarica, 70: 517-522.
- Selçuk AY., Kefelioğlu H. 2018. Cytogenetic Characteristics of *Crocidura suaveolens*, *Crocidura leucodon*, *Sorex raddei* (Mammalia: Eulipotyphla) from Turkey: Constitutive Heterochromatin Distribution. Turkish Journal of Nature and Science, 7:15-20.
- Selçuk AY. 2018. Karyological features and molecular phylogeny of *Sorex* species (Mammalia: Soricidae) distributed in Turkey. PHD thesis. Graduate School of Sciences Department of Biology, Ondokuzmayis University, 144p.
- Selçuk AY., Özkoç ÜÖ., Bilir AM., Kefelioğlu H. 2019. Diet composition of the Long-eared Owl (*Asio otus*) in the Eastern Anatolia (Turkey). Turkish Journal

- of Forestry, 20:72-75.
- Sumner AT. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Expl Cell Research*, 75: 304-306.
- Tez C. 2000. Taxonomy and distribution of the white-toothed shrews (*Crocidura*) (Soricidae: Insectivora: Mammalia) of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 24: 365-374.
- Teta P., González-Fischer CM., Codesido M., Bilencia DN. 2010. A contribution from Barn Owl pellets analysis to known micromammalian distributions in Buenos Aires Province, Argentina. *Mammalia*, 74: 97-103.
- Toyran K., Yorulmaz T., Gözütok S. 2017. Mammal fauna of Ihlara Valley (Aksaray, Turkey). *Bitlis Eren University Journal of Science and Technology*, 7(2): 108-114.
- Toyran K., Adızel Ö. 2018. Contributions to the mammal fauna of Bitlis Province, Turkey. *Bitlis Eren University Journal of Science and Technology*, 8(2): 90-94.
- Turan N. 1984. Türkiye'nin Av ve Yaban Hayvanları Memeliler. Olgun Kardeşler Matbaacılık Sanayi, Ankara, 177s.
- Turan İ., Keten A., Yorulmaz Y., Doğan C., Baştar F. 2015. Abant Gölü'ündeki Su Samurunun (*Lutra lutra*) habitat tercihi. *Journal of Forestry Research*, 1:2, 51-56.
- Tüzün İ., Albayrak İ. 2005. The effect of disturbances to habitat quality on otter (*Lutra lutra*) activity in the river Kızılırmak (Turkey): a Case Study. *Turkish Journal of Zoology*, 29: 327-335.
- Van der Ree R., Jaeger, JAG., Van der Grift EA., Clevenger AP. 2011. Effects of roads and traffic on wildlife populations and landscape function: Road Ecology is moving toward larger scales. *Ecology and Society*, 16:48.
- Yağcı T. 2019. Species Identification of Small Mammal Fauna in Bilecik Province and Molecular Researches for the Protection of Gene Resources. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 5(1): 149-160.
- Yalden DW. 2009. *The Analysis of Owl Pellets*. 4th. ed. Mammal Society. 28 p.
- Wilson DE., Reeder DM. (eds.). 2005. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. 3rd edition. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, 2142 pp.

A New Lichenicolous Fungus Record from The Çamlık National Park (Yozgat, Turkey), *Tremella candelariellae* (Basidiomycota, Tremellales)

Zekiye KOCAKAYA^{1*}, Mustafa KOCAKAYA², Mehmet Ünsal BARAK³

University of Yozgat Bozok, Boğazlıyan Vocational School, Department of Organic Agriculture, 66400, Yozgat, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-5248-0462>, ²<https://orcid.org/0000-0003-2306-8094>, ³<https://orcid.org/0000-0002-2050-149x>

✉: zekiye.kocakaya@bozok.edu.tr

ABSTRACT

Tremella candelariellae Diederich & Etayo was reported on *Candelariella antennaria* Räsänen first time in Turkey. Morphological, anatomical and ecological characteristics of the species are presented. In addition, the sequence analysis of the ITS region was performed and the phylogenetic tree was formed by closely related species.

Research Article

Article History

Received : 15.05.2019

Accepted : 08.11.2019

Keywords

Lichenicolous Fungus

Molecular Phylogeny

Taxonomy

Tremella

Çamlık Milli Parkı (Yozgat, Türkiye)'nden Yeni Bir Likenikol Mantar Kaydı, *Tremella candelariellae* (Basidiomycota, Tremellales)

ÖZET

Tremella candelariellae Diederich & Etayo Türkiye'den ilk kez *Candelariella antennaria* Räsänen üzerinden rapor edilmiştir. Türün morfolojik, anatomik ve ekolojik özellikleri verilmiştir. Ayrıca ITS bölgesine ait dizi analizi yapılarak yakın ilişkili türlerle birlikte filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 15.05.2019

Kabul Tarihi : 08.11.2019

Anahtar Kelimeler

Likenikol Mantar

Moleküler Filogeni

Taksonomi

Tremella

To Cite : Kocakaya Z, Kocakaya M, Barak MÜ 2020. A New Lichenicolous Fungus Record from The Çamlık National Park (Yozgat, Turkey), *Tremella candelariellae* (Basidiomycota, Tremellales). KSU J. Agric Nat 23 (2): 387-390. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.565751.

INTRODUCTION

The genus *Tremella* Pers., contains predominantly mycoparasite species growing in a wide variety of basidiomycetes and ascomycetes fungi (Chen 1998). *Tremella* species is highly variable in appearances, such as size, shape and colour. Lichenicolous species usually grow in the host's induced galls. However, they all have common features. All species within the genus have been found to be parasites and grow with them in the hymenium of other fungi (Pippola and Kotiranta, 2008). Millanes et al., 2012 studied the phylogenetic position of the genus and stated that fifty-one *Tremella* species have been identified. Two lichenicolous *Tremella* species were reported from Turkey (Halici, 2015; Kocakaya et al., 2018). In this study, morphological, anatomical, ecological and phylogenetic features of the species were given.

MATERIAL and METHOD

Lichen sample was collected from Çamlık National Park in 2017. Morphological and anatomical investigations were performed under a stereomicroscope (Olympus SZX10) and light microscope (Olympus BX53). They were examined by standard microscopic techniques. Measurements were made in water. The new record specimen is deposited in Yozgat Bozok University Herbarium Yozgat, Turkey.

DNA was extracted using the DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) following the manufacturer's protocols with minor modifications. ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) (White et al., 1990) and ITS1-F (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) (Gardes and Bruns, 1993) were used to amplify the ITS sequence. PCR-amplification was carried out, following Millanes et al. (2012). PCR products were

visualized on a 1% agarose gel. The sequence of PCR product obtained from the *Tremella* sample was performed using the Big Dye Terminator Cycle Sequencing v3.1 (Macrogen, Holland) following the manufacturer's protocol and analysed on an ABI 3730XL Genetic Analyser.

Sequence results were analyzed automatically using the Clustal W option in the BioEdit program, along with samples from Genbank. Details and GenBank accession numbers of the samples are listed in Table 1. Phylogenetic tree was constructed by Maximum Likelihood analysis using MEGA 7 program. Pairwise deletion was performed to delete and control data gaps. The tree reliability was tested with 1000 bootstrap replications. We selected the out groups used in the previous phylogenetic analysis of the genus *Tremella* (Millanes, et al., 2012).

RESULTS and DISCUSSION

Morphology and Anatomy

Tremella candelariellae Diederich & Etayo 1996

A detailed description is provided by Diederich, P. 1996. Some lichenicolous fungus is easily observed because they deform the host thallus and form large abnormally shaped galls. *T. candelariella* is an inconspicuous species that due to the small size of the host (*Candelariella* species). It is easily ignored in the herbarium, because it slightly deforms only small apothecia in the host (Lendemmer, 2008). This species has been described on the thallus of *Candelariella vitellina* (Hoffm.) Müll. Arg. and *C. xanthostigma*

(Pers. ex Ach.) Lettau (Diederich, 1996). In our phylogenetic studies, appeared on the apothecia of *C. antennaria* (Figure 1. A). Galls occurs on the host thallus. Galls and host thallus are the same colour. Gall surfaces are pruinose and covered with numerous yellow crystals in microscopic sections.

Basidiomata superficial, convex, bright yellow galls on the host thallus, often with a granular, pruinose surface (Figure 1.A), 0.1-0.8 mm in diam., hyphae mixed with host hyphae, basidia, hyaline, ellipsoid, 2 celled 18-20 x 10-12 µm (Figure 1.B), basidiospores ellipsoid, hyaline 6.5-7 x 5-6 µm. Conidia not seen.

Each particular species of *Tremella* is host-specific, often limited to a single fungal genus or species. Therefore, it was not seen on a different genus from *Candelariella*. The most closely related species in phylogenetic studies is *Tremella dendrographae* Diederich & Tehler. However, there are significant differences in morphological and anatomical studies. *T. dendrographae* has larger basidia and longer basidiospores. In addition, host lichens are different. *T. dendrographae* prefer to *Dendrographa* Darb. genus as a host. While *T. candelariella* formed yellow galls, *T. dendrographae* formed whitish galls on the host thallus. Besides, *T. dendrographae* is a very common fungus that causes a large and visible formation (Nash et al., 2004).

Specimen examined: Turkey, Yozgat, Çamlık National Park, on *Pinus nigra* bark, 39° 48' 047" N, 34° 48' 498" E, alt. 1613 m, August 26, 2017 (Herb. No: CMP 0.086).

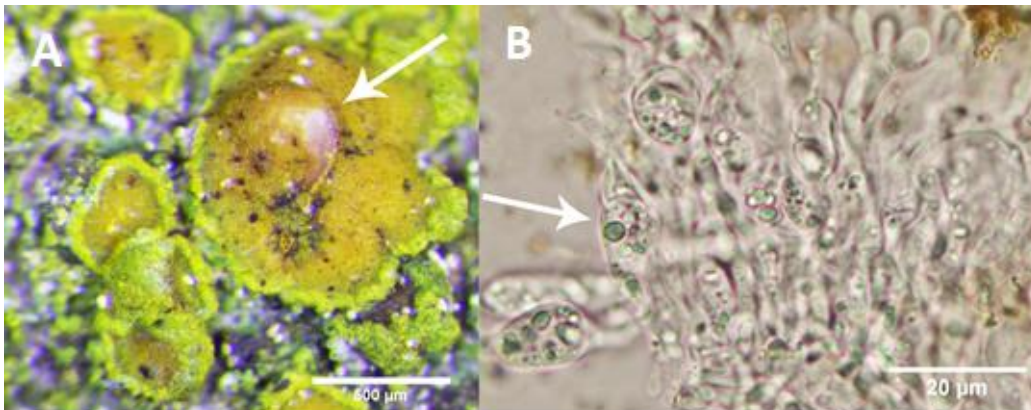


Figure 1. A) Galls on apothecia of *C. antennaria* B) Basidia

Şekil 1. A) *C. antennaria*'nin apotesyumu üzerindeki gal oluşumu B) Bazidyum

Distribution

The species was described in Luxembourg at a altitude of 300 m on *C. vitellina* (Diederich, 1996). Later in Italy, at a altitude of 1300 m, on *C. xanthostigma* (Diederich, 1996) and in the U.S.A. In Pennsylvania on *C. xanthostigma* (Lendemmer, 2008). It also known from Poland (Kukwa and Jabłońska, 2008) and Sweden (Westberg, et al., 2008). Turkish specimen was collected in central Anatolia at Çamlık National Park,

1613 m at the altitude on *C. antennaria*.

Molecular Results

ITS sequence was successfully obtained. It was evaluated together with the sequence results from the gene bank (Table 1). The evolutionary history was inferred by using the Maximum Likelihood method based on the Tamura 3-parameter model (Tamura, 1992) (Figure 2).

Table 1. Sequences downloaded from GenBank and newly produced (bold).

Tablo 1. GenBank'tan indirilen ve yeni üretilen diziler (koyu renk).

Species	Locality	nrITS
<i>Tremella caloplacae</i>	Greenland	JN053468
<i>T. caloplacae</i>	France	JN053469
<i>T. candelariellae</i>	Luxembourg	JN053470
<i>T. candelariellae</i>	Turkey	MN566922
<i>T. cetrariicola</i>	Finland	JN053490
<i>T. cetrariicola</i>	Latvia	JN053491
<i>T. cladoniae</i>	Estonia	JN053477
<i>T. cladoniae</i>	France	JN053478
<i>T. coppinsii</i>	UK	JN053495
<i>T. coppinsii</i>	Estonia	JN053496
<i>T. dendrographae</i>	USA	JN053471
<i>T. hypogymniae</i>	Sweden	JN053484
<i>T. hypogymniae</i>	Estonia	JN053485
<i>T. lobariacearum</i>	Madeira	JN053473
<i>T. lobariacearum</i>	Canary Islands	JN053474
<i>T. phaeophysciae</i>	Luxembourg	JN053479
<i>T. phaeophysciae</i>	Estonia	JN053480
<i>T. umbilicariae</i>	Peru	KM507564
<i>Phaeotremella pseudofoliacea</i>	Sweden	JN053502
<i>Filobasidium uniguttulatum</i>	-	AF444302
<i>F. floriforme</i>	-	AF190007

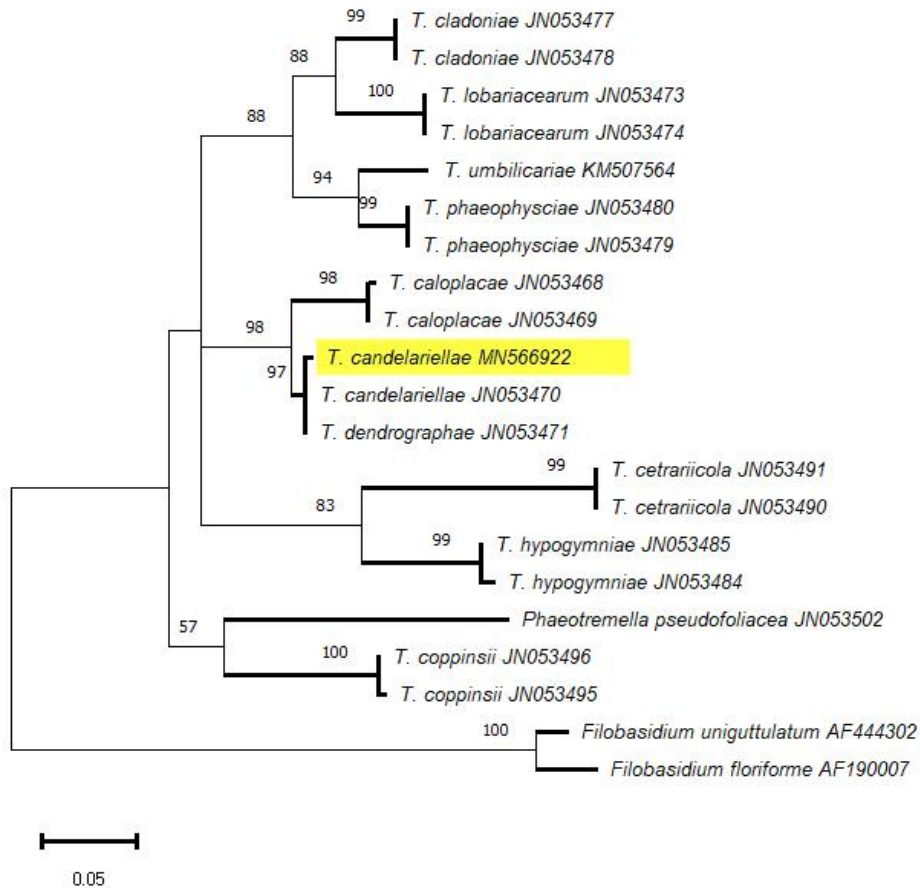


Figure 2. Maximum likelihood analysis of the ITS region of *T. candelariellae* and related species. Numbers at tree nodes indicate bootstrap values of ML (only values $\geq 50\%$).

Şekil 2. *T. candelariellae* ve ilişkili türlerin ITS bölgesine ait maksimum olabilirlik analizi. Ağaç nodlarındaki sayılar, ML'nin bootstrap değerlerini gösterir (sadece $\geq 50\%$ değerleri).

The sequence result compared with the Luxembourg sample in the gene bank. Our sequence result is matched in the phylogenetic tree with this sample. *T. candelariella* is similar to *T. dendrographa* as the morphological and anatomical features. Also, this species are located in the same clad in phylogenetic tree.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was financially supported by Yozgat Bozok University project with the project number of 6602b-FEF/16-45.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Chen CJ 1998. Morphological and molecular studies in the genus *Tremella*. *Bibliotheca Mycologica*, 174: 1–225.
- Diederich P 1996. The Lichenicolous Heterobasidiomycetes. *Bibliotheca Lichenologica*, 61:1-198.
- Gardes M, Bruns TD 1993. ITS Primers with Enhanced Specificity For basidiomycetes - Application to the Identification of Mycorrhizae and Rusts. *Molecular Ecology*, 2: 113–118.
- Halici MG 2015. New records of Crustose Teloschistaceae and Lichenicolous Fungi from Turkey. *Mycotaxon*, 130: 769-773.
- Kocakaya M, Kocakaya Z, Barak MÜ 2018. A New Lichenicolous Fungus Record from the Turkey, *Tremella macrobasidiata* (Basidiomycota, Tremellales). *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(1): 95-97.
- Kukwa M, Jabłońska A 2008. New or interesting records of lichenicolous fungi from Poland VI. – *Herzogia*, 21: 167–179.
- Lendemer JC 2008. New and Interesting Records of Lichens and Lichenicolous Fungi from New Jersey and Pennsylvania. *Evansia*, 25(4): 102-109.
- Millanes AM, Westberg M, Wedin M, Diederich P 2012. *Tremella diploschistina* (Tremellomycetes, Basidiomycota, Fungi), A New Lichenicolous Species Growing on *Diploschistes*. *Lichenologist*, 44(3): 321-332.
- Nash TH, Ryan BD, Gries C, Bungartz F 2004. Lichen Flora of the Greater Sonoran Desert Region. Vol II. Arizona, Lichens Unlimited.
- Tamura K 1992. Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions When There are Strong Transition-transversion and G+C-Content Biases. *Molecular Biology and Evolution*, 9: 678-687.
- Pippola E, Kotiranta H 2008. The genus *Tremella* (Basidiomycota, Tremellales) in Finland. *Ann. Bot. Fennici*, 45: 401–434.
- Westberg M, Millanes AM, Wedin M 2008. *Tremella candelariellae* – en ny lavparasiterande basidiesvamp för Sverige. *Lavbulletinen*, 2: 74–77.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, New York, USA: 315–322.

First report of *Rutstroemia elatina* (Ascomycota) from Turkey

İlgaz AKATA¹, Makbule ERDOĞDU²

¹Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, ²Ahi Evran University Faculty Of Agriculture Department Landscape Architecture Kirsehir-Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-1731-1302>, ²<https://orcid.org/0000-0001-8255-2041>

✉: akata@science.ankara.edu.tr

ABSTRACT

The purpose of this research was to identify *Rutstroemia* samples from Bolu province (Turkey) on June 22, 2019. The samples were identified based on both conventional and molecular methods (ITS region of the rDNA). By considering the high sequence similarity of the collected samples (Akata 7020) with *Rutstroemia elatina* (Alb. & Schwein.) Rehm, the relevant specimen was considered to be *R. elatina* and the morphological data supported this finding. This species was firstly reported from Turkey. The results of the molecular analysis and a short description of the newly reported species along with its colored images associated with macroscopic and microscopic structures were conferred.

Research Article

Article History

Received : 29.09.2019

Accepted : 29.11.2019

Keywords

Rutstroemia elatina

Ascomycota

New record

Turkey

Rutstroemia elatina (Ascomycota) 'nın Türkiye'den ilk raporu

ÖZET

Bu araştırmanın amacı 22 Haziran 2019'da Bolu (Türkiye)' den toplanan *Rutstroemia* örneklerini tanımlamaktır. Numunelerin tanımlanması hem geleneksel hem de moleküler yöntemlere (rDNA'nın ITS bölgesi) dayanarak yapılmıştır. Toplanan örneklerin (Akata 7020) *Rutstroemia elatina* (Alb. & Schwein.) Rehm ile olan yüksek sekans benzerliği dikkate alındığında, ilgili örnek *R. elatina* olarak kabul edilmiş ve morfolojik veriler bu bulguyu desteklemiştir. Bu tür ilk defa Türkiye'den rapor edilmiştir. Moleküler analizin sonuçları, makroskopik ve mikroskopik yapılarla ilişkin renkli fotoğraflarıyla ile birlikte yeni rapor edilen türün kısa bir betimlemesi yapılmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 29.09.2019

Kabul Tarihi : 29.11.2019

Anahtar Kelimeler

Rutstroemia elatina,

Ascomycota

Yeni kayıt

Türkiye

To Cite : Akata I, Erdoğan M 2020. First report of *Rutstroemia elatina* (Ascomycota) from Turkey. KSU J. Agric Nat 23 (2): 391-395. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.626466

INTRODUCTION

Rutstroemia is the largest genus of the family *Rutstroemiaceae* within the order *Helotiales* (*Ascomycota*). The genus comprises roughly 75 widely distributed species particularly in temperate regions and its members are mainly characterized by brownish to black, cup to funnel or goblet shaped apothecia with short stipe, eight-spored, uni to biseriata, amyloid and cylindric asci, branched to unbranched, cylindrical to filiform paraphyses sometimes thickenings toward to tips, ellipsoid to allantoid, hyaline, smooth, mostly uni to bisepate, more rarely multiseptate spores (Hansen and Knudsen, 2000; Kirk et al., 2008).

R. elatina is an uncommon species growing on the fallen branches, twigs or needles of *Abies alba* (silver fir). Although it is considered to be specific to silver fir, it has also been reported on *Picea abies* (Palmer et al., 1994). According to the literature (Işık and Türkekul, 2018; Sesli and Denchev, 2008; Öztürk et al., 2010), *R. conformata* (P. Karst.) Nannf. and *R. firma* (Pers.) P.

Karst. have hitherto been registered from Turkey but there was no report of *R. elatina* (Alb. & Schwein.) Rehm for Turkish *Rutstroemia*. The purpose of this study was to make a contribution to the larger *Ascomycota* of Turkey.

MATERIALS and METHODS

Rutstroemia specimens were collected from Bolu province during the field study in 2019. Macroscopic characteristics of the fresh specimens were noted and their photographs were taken at the growth sites. Microscopic features such as asci, paraphyses and spores were examined with Leica DM 1000" bright field light microscope and some chemicals (Congo red, Melzer's reagent, 5% potassium hydroxide, 10% ammonium hydroxide etc.) were utilized for this purpose. We benefited from the relevant literature (Breitenbach and Kränzlin, 1984; Hansen and Knudsen, 2000) for identification. The identified voucher samples were deposited to the Herbarium of

Ankara University (ANK).

Molecular study

DNA Isolation

The genomic DNA was isolated from the sporophores of the specimen, according to the modified CTAB method (Aras et al., 2013). NanoDrop One Microvolume UV-Vis Spectrophotometer (ThermoFisher) was used to calculate the concentration and purity of the extracted DNA.

PCR Amplification and Sequencing

The ITS1, 5.8s rRNA gene and ITS2 regions were amplified with PCR by using the universal ITS1 and ITS4 oligonucleotides (White et al., 1990). PCR was conducted in a reaction volume of 25µl. The final concentrations of the PCR ingredients were adjusted as follows: 1× Taq DNA polymerase buffer, 2 units of Taq DNA polymerase (Fermentas), 0,4 mM dNTPs, 3 mM MgCl₂, and 15 pmol of both ITS 1 and ITS4 primers. PCR was carried out in a Thermal Cycler (Applied Biosystems MiniAmp Plus) with the following thermal cycling protocol: first denaturation step of 95°C for 4 min, persued by 35 cycles of 95°C for 30s, 56°C for 15s, and 72 °C for 40s, and a last elongation step of 7 min at 72°C. The PCR amplicons were electrophoretically analyzed in 1.2% agarose gel containing ethidium bromide, and the amplicon sizes were defined by the aid of a DNA size marker (GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, ThermoFisher). The sequences of the amplicons were determined with

Sanger dideoxy chain termination method at the laboratory of MacroGen Europe in Amsterdam, The Netherlands using the same oligonucleotide primers.

Sequence Analysis

The ITS gene sequences of some relevant fungal species were obtained from GenBank and used for the phylogenetic analysis of the 'Akata 7020. While the ITS sequences of the genera *Rutstroemia* and *Lanzia*, two of the most well-known genera of the *Rutstroemiaceae* family, were used as ingroup sequences, the ITS sequences of *Gyromitra esculenta* and *Morchella angusticeps* were used as the outgroup sequences. The sequences were assembled by using Geneious Prime 2019.1.3 software (Biomatters Ltd) and used for the sequence identity analysis with Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). The DNA sequences were aligned using the CLUSTALW and molecular phylogenetic analyses were conducted by using the neighbor joining method based on the Kimura 2-parameter substitution model via MEGAX software with using 1000 bootstrap replicates (Felsenstein, 1985; Kumar et al., 2018).

RESULTS

Ascomycota

Helotiales

Rutstroemiaceae

Rutstroemia elatina (Alb. & Schwein.) Rehm (Figure 1,2).



Figure 1. *Rutstroemia elatina*: a-d. apothecia
Şekil 1. *Rutstroemia elatina*: a-d. apotezyumlar



Figure 2. *Rutstroemia elatina*: a-d. asci, e,f. a portion of paraphyses, g-m. spores.

Şekil 2. *Rutstroemia elatina*: a-d. askuslar, e,f. parafizlerin bir bölümü, g-m. sporlar.

Macroscopic and microscopic features:

Apothecia: 3-5 mm broad, dark brown to black, goblet to cup shaped. **Hymenium** smooth. **Outer surface** slightly fibrous. **Stipe** up to 3 mm long, the same color. **Flesh** black and gelatinous. **Odor and taste** not distinctive. **Asci** 145–160 × 11–14 µm, uniseriate, cylindric, eight-spored, hyaline and amyloid. **Paraphyses** up to 5 µm broad, hyaline, filiform, with slight clavate thickening at the apex. **Spores** 16–18 × 5–6 µm, hyaline, ellipsoid to allantoid, guttulate, smooth, sometimes with a septum in the centre.

Ecology: April to June, on fallen branch or needles of *Abies alba* Mill. (silver fir) and *Picea abies* (L.) H.Karst. (European spruce) (Breitenbach and Kränzlin, 1984; Palmer et al., 1994).

Distribution: Bosnia and Herzegovina, Denmark, France, Germany, Poland, Romania, Russia, Switzerland and the Czech Republic (Breitenbach and Kränzlin, 1984; Palmer et al., 1994).

Specimen examined: Turkey—Bolu: Yedigöller road, 2 km distance to entrance of Ayıkayası Nature Park, on branch of *Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani* (Asch. & Sint. ex Boiss.) Coode & Cullen, 40° 53' 42" N–39° 40' 05" E, 1628 m, 22.06.2019, Akata 7020.

Using phylogenetic analysis, two distinct clades were revealed along with an outgroup. While the clade 1 contained fungi species from the genus *Lanzia*, the clade 2 included species from the genus *Rutstroemia* together with 'Akata 7020'. On the other hand,

Gyromitra esculenta and *Morchella angusticeps* were branched far from the other fungi species and constituted an outgroup as expected. The BLAST analysis performed with the ITS sequence of Akata 7020 provided evidence for 100% similarities of this new records with *Rutstroemia. elatina*. The phylogenetic tree constructed based on the ITS sequences further supported the close identity relationship of the new record with *R. elatina* with a bootstrap value of 100. The ITS sequence of the isolate ANK Akata 7020 was deposited to Genbank under the accession number MN263048.

DISCUSSION

R. elatina is a sabrobe species and its most common host species is considered to be *Abies alba*. Moreover, its samples have also been collected on *Picea abies* (Palmer et al., 1994). *R. elatina* is characterized by dark brown to black, stipitate, goblet to cup shaped apothecia up to 5mm in width, smooth hymenium, uniseriate, amyloid and cylindric asci containing eight-spores, septate, unbranched and filiform paraphyses slightly thickening at the tips, smooth, hyaline, ellipsoid to allantoid spores sometimes with a single central septum (Hansen and Knudsen, 2000).

R. elatina may be confused with *Rutstroemia bulgarioides* (P. Karst.) P. Karst. because of their similar color and macroscopic appearance. Though both species have dark olive brown to black, goblet to

cup shaped and stipitate apothecia, the latter is separated from the former by its shorter asci (up to 100 µm long) and spores (up to 9 µm long). The most important characteristics of *R. bulgarioides* are to grow on damp spruce (*Picea* Link) cone lying on the ground between february and may, especially after the snow melts (Breitenbach and Kränzlin, 1984).

As the morphological data is not sufficient per se for the accurate identification of fungal species, the use of sequence data from the conserved DNA regions such as ITS is utilized as a useful tool in taxonomic studies for the last three decades (Baldwin, 1992; Raja et al., 2017). Additionally, ITS is one of the most common DNA barcoding markers and therefore serves as an

important source of information for the researchers to make comparisons of data. Hence, we used ITS region for the molecular identification of the Akata 7020. The BLAST and phylogenetic analyses carried out based on the ITS regions revealed 100% genetic similarity between the *Rutstroemia elatina* and the new record (GenBank ID: MN263048) (Figure 3).

In this present study, *R. elatina* was firstly recorded from Turkey and species numbers of Turkish *Rutstroemia* increased to total of three. Additionally, after *Abies alba* and *Picea abies*, *Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani* was also reported as a new host species for *R. elatina*.

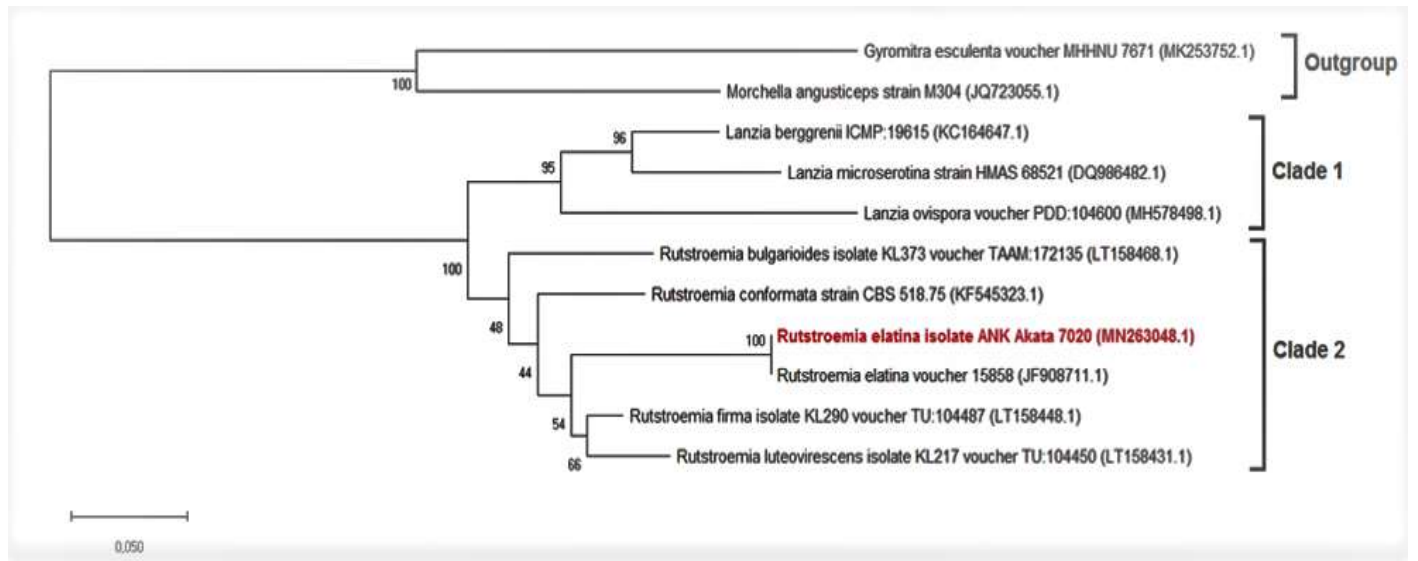


Figure 3. The neighbor joining tree demonstrating the phylogenetic relationships of 11 fungi inferred from the nuclear ITS region. Bootstrap values from 1000 bootstrap replicates were given next to the branches. All sequences were obtained from GenBank except for Akata 7020. *Gyromitra esculenta* and *Morchella angusticeps* were used as the outgroup samples. Accession numbers are given in parentheses. The scale bar shown at the lower left indicates a genetic distance of 0.05.

Şekil 3. 11 mantar türünün çekirdek ITS bölgelerinden çıkarılan filogenetik ilişkilerini gösteren komşu katılımı ağacı. 1000 önyükleme tekrarlarına ait önyükleme değerleri dalların yanında verilmiştir. Akata 7020 hariç geri kalan tüm diziler GenBank'tan alınmıştır. *Gyromitra esculenta* ve *Morchella angusticeps* dış grup örnekleri olarak kullanılmıştır. Dizilerin erişim numaraları parantez içerisinde verilmiştir. Sol altta gösterilen ölçek çubuğu 0.05 genetik uzaklığı belirtmektedir.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to TÜBİTAK (Project no: 217z038) for its financial support.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

Aras S, Duran A, Yenilmez G 2013. Isolation of DNA for RAPD analysis from dry leaf material of some *Hesperis L. specimens*", Plant Mol. Biol. Report,

21(4): 461–462.

Baldwin BG 1992. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: An example from the Compositae. Mol. Phylogenetics Evol., 1(1): 3–16.

Breitenbach J, Kränzlin F 1984. Fungi of Switzerland, vol. 1. Lucerne, Verlag Mykologia.

Hansen L, Knudsen H 2000. Nordic Macromycetes (Ascomycetes). Vol.1. Copenhagen: Nordsvamp.

Felsenstein J 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution, 39:783–791.

Işık H, Türkekel İ 2018. New additions to Turkish macrofungi from Tokat and Yozgat Provinces. Mycotaxon 133: 697–709.

- Kirk PF, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA 2008. Dictionary of the fungi, 10th ed. CAB International. Wallingford, UK.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 35:1547–1549.
- Öztürk Ö, Doğan HH, Yıldırım Ş 2010. Macrofungi of Eldivan dağ (Çankırı). *Ot Sistemik Botanik Dergisi*, 17(2): 141-154.
- Palmer JT, Tortić M, Matočec N 1994. *Sclerotiniaceae (Discomycetes)* collected in the former Federal Republic of Yugoslavia. *Österreichische Zeitschrift für Pilzkunde*, 3: 41-70.
- Raja HA, Miller AN, Pearce CJ, Oberlies NH 2017. Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. *J. Nat. Prod.*, 80(3): 756–770.
- Sesli E, Denchev CM 2008. Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey. – *Mycotaxon* 106: 65–67. + [complete version, 1–36, new version uploaded in February 2014].
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315–322 in *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, eds. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White. New York: Academic Press.



Spermatheca Structure of *Cassida atrata* Fabricius, 1787 (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) in Scanning Electron Microscope (SEM)

Neslihan BAL

Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

<https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>

✉: neslihansilkin@gmail.com

ABSTRACT

It is accepted that male genitalia are not diagnostic, spermatheca are partly diagnostic within the genus *Cassida* Linnaeus, 1758. However, so far, it appears that genital studies are based solely on stereo microscopy. Ultrastructures of genitalia have been not studied except for a few studies. In this study, female genital structure belonging to three *Cassida atrata* Fabricius, 1787 specimens collected from Kayseri and Niğde provinces in 1996 and 2018 from Turkey was examined for the first time in SEM in order to determine whether ultrastructural studies are useful from taxonomic point of view. Thus, new diagnostic characters were obtained and it revealed that it was diagnostic for species in other subgenus. Photos of spermatheca taken by both SEM and stereo microscope are also given.

Research Article

Article History

Received : 08.10.2019

Accepted : 19.12.2019

Keywords

Chrysomelidae

Cassida

SEM

Spermatheca

Turkey

Taramalı Elektron Mikroskobunda (SEM) *Cassida atrata* Fabricius, 1787' nin Spermatheca Yapısı (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae)

ÖZET

Cassida Linnaeus, 1758 cinsi içerisinde genel olarak erkek genitalinin ayırt edici olmadığı, spermatheka'nın ise kısmen ayırt edici olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte şimdiye kadar yapılan genital çalışmalarının sadece stereo mikroskobu dayalı olduğu görülmektedir. Genital yapıların ultrastrüktürel yapısı birkaç çalışma dışında çalışılmamıştır. Ultrastrüktürel çalışmaların taksonomik açıdan kullanışlı olup olmadığını ortaya koymak amacıyla bu çalışmada Türkiye'den 1996 ve 2018 yıllarında Kayseri ve Niğde illerinden toplanan toplam üç *Cassida atrata* Fabricius, 1787 örneğine ait dişi genital yapısı SEM'de ilk defa olarak incelenmiştir. Bu sayede, yeni ve ayırt edici karakterler elde edilmiş ve diğer bir alt cinsteki daha önce çalışmış türlerden ayırt edici olduğu ortaya konulmuştur. Dişi genitalinin hem SEM hem de stereo mikroskop fotoğrafları da çalışma içerisinde sunulmuştur.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 08.10.2019

Kabul Tarihi : 19.12.2019

Anahtar Kelimeler

Chrysomelidae

Cassida

SEM

Spermatheca

Türkiye

To Cite : Bal N 2020. Spermatheca Structure of *Cassida atrata* Fabricius, 1787 (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) in Scanning Electron Microscope (SEM). KSU J. Agric. Nat. 23 (2): 396-401. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.630773.

INTRODUCTION

The genus *Cassida* Linnaeus, 1758, contains numerous species spread around the world (Palearctic, Nearctic, Oriental, Afro-tropical, Madagascar and Australian regions). In the Palearctic and Oriental region, species of the genus *Cassida* appear to be divided into 15 subgenera (Borowiec, 2007; Özdikmen and Bal, 2019).

The Cassidinae fauna of Turkey include 51 species of six genera. The genus *Cassida* has 41 species of 11 subgenera (Ekiz et al., 2013; Özdikmen et al., 2014; Özdikmen and Kaya, 2014).

The nominotypical subgenus *Cassida* (*Cassida*) Linnaeus, 1758 includes 46 species distributed around the World (45 Palearctic species including the type

species *Cassida nebulosa* Linnaeus, 1758 and one native species from North America). The nominotypical subgenus is represented by 21 species in Turkey. *Cassida atrata* Fabricius, 1787 is one of the species in the nominotypical subgenus.

According to Bordy and Doguet (1987), Borowiec and Świątojańska (2001) and Borowiec (2007), male genitalia are not diagnostic within the genus *Cassida* Linnaeus, 1758. Spermathecae are partly diagnostic. However, studies on genitalia have been based on only stereo microscope up to now. Ultrastructures of genitalia have never been studied except for a few recent works (Ataş et al., 2019a, 2019b).

Hitherto, we think that arrangement of the subgeneric

classification in the genus *Cassida* on the base of aedeagal and especially spermathecal morphologies was overlooked due to this acceptance and approval. However, we believe that ultrastructural and detailed investigations of aedeagi and spermathecae will be very important in the genus *Cassida* with regard to subgeneric classification especially. With this reason, detailed investigations of spermatheca of *Cassida atrata* Fabricius, 1787 from Turkey were studied with stereo microscope. Obtaining observations are presented in below.

The aim of this work is to reveal; detailed morphologies of spermatheca of *Cassida atrata* observed by stereo microscope and SEM.

MATERIALS and METHODS

The available specimens (a total of three specimens) for the present work were collected from Kayseri and Niğde provinces in Turkey in 1996 and 2018. The specimens were deposited at Gazi University (Ankara, Turkey).

The spermatheca were dissected from abdomen, and remaining tissue was removed with fine tweezers. For

microscopic examination, the samples were placed in 70% ethanol and examined with Olympus SZX7 stereomicroscope.

For scanning electron microscopy (SEM), cleaned samples were dehydrated using an ascending series of ethanol (70%, 80%, 90%, and 100%) and then air dried. After that, the specimens were mounted onto SEM stubs using a double-sided adhesive tape, coated with gold using a Polaron SC 502 Sputter Coater, and examined with a JEOL JSM 6060 Scanning Electron Microscope (SEM) at 10 kV.

RESULTS and DISCUSSION

Cassida atrata Fabricius, 1787(Fig. 1)

Cassida atrata is a European species. Its body length is 5.1-7 mm. It is distributed in Europe (Albania, Austria, Bulgaria, Bosnia, Croatia, Czech Republic, France, Germany, Greece, Herzegovina, Hungary, Italy, Latvia, Macedonia, Moldova, Poland, Romania, Serbia- Montenegro, Slovakia, Slovenia, Turkey, Ukraine) and Asia (Turkey) (Warchalowski, 2010; Borowiec and Sekerka, 2010).



Figure 1. *Cassida atrata* Fabricius, 1787; A. dorsal view, B. ventral view, C. Lateral view. Scale bars size is 1 mm
Şekil 1. *Cassida atrata* Fabricius, 1787; A. dorsal görünüm, B. Ventral görünüm, C. Yandan görünüm. Ölçek çubuk boyutu 1 mm'dir.

The species is widely distributed in Turkey. It has been recorded from nine provinces including Ankara, Bolu, Bursa, Çorum, Eskişehir, Isparta, Mersin and Niğde provinces in Asian Turkey and Edirne province in European Turkey (Ekiz et al., 2013; Özdikmen and Kaya, 2014).

Material examined: Kayseri: Develi, Kocahacılı, 38°11'15" N 35°23'50" E, 07.V.2018, 1092 m, 1 specimen; Niğde: Melendiz, between Hançerli-Küçükköy, 03.VII.1996, 1 specimen; Çamardı, 29.VI.1996, 1 specimen.

Spermatheca of *Cassida atrata* was studied with SEM and stereo microscope. Observations on ultrastructural and detailed morphologies are

presented as follows:

Spermatheca: In stereo microscope(Fig. 2): Vasculum (General view of spermatheca) is eggplant-shaped or boxing glove-shaped, distinctly curved, relatively obtuse angled, dissymmetrical C-shaped (apical part of cornu prolonged). It is generally light brown. In vasculum, cornu is much thicker than the nodulus, especially in the apical part. Apical part of cornu is clearly swollen and dark in color. Apex of cornu is not rounded. Nodulus is short, almost parallel, not swollen. Nodulus is darkened on internal surface basally. Ampulla is in the shape of an elongated channel or tubular and connected to the nodulus on the outer surface in the basal part of the nodulus. The ramus is in the form of a long straight and thick

channel or pipe which is slightly enlarged in the middle. The widest part of ramus is slightly thinner than the thickness of the nodulus. The spermatheca gland is attached to the ramus at the outer surface of the ramus. Ductus spermatheca connects straight to the ramus, which is thick and long. It is in the form of a flat tube that folds widely in the proximal part. It is thicker in the next large part, and is regularly curved in a spiral shape. Ductus spermatheca is thinner than ramus.



Figure 2. Spermatheca of *Cassida atrata* Fabricius, 1787. Scale bars size is 0,5 mm.

Şekil 2. *Cassida atrata* Fabricius, 1787, 'nın spermatekası. Ölçek çubuk boyutu 0,5 mm'dir.

In SEM (Scanning Electron Microscope)(Figs. 3-6):

Observations obtained by SEM are similar to those of stereo microscope in general. Therefore, only different characters in photos of SEM are presented below.

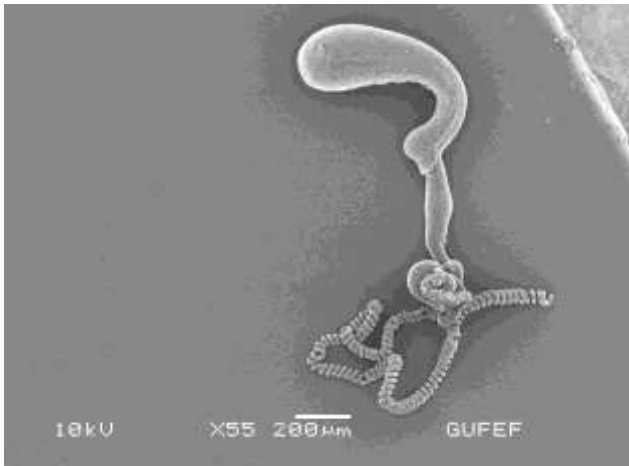


Figure 3. Spermatheca of *Cassida atrata*, lateral view (SEM). Scale bars size is 200 µm.

Şekil 3. *Cassida atrata*'nın spermatekasının yandan görünümü (SEM). Ölçek çubuk boyutu 200 µm'dir.

Apex of cornu is round. Nodulus has a distinct integument on internal surface basally. The

integument behind nodulus fringed that more or less corrugated. Spermathecal gland connected to proximal duct before its first curve. Nodulus, cornu, proximal tube of ductus spermatheca have scattered, irregular and sparsely ultrastructural pits.

Cassida atrata is in the nominotypical subgenus of *Cassida*. According to the results of the present work, spermathecal morphologies of *Cassida atrata* distinctly differ from *Cassida nebulosa* Which is the type species of the genus and nominotypical subgenus.

Many characters in detail are diagnostic. These diagnostic characters can be seen below.

Spermatheca of *Cassida nebulosa* Linnaeus, 1758 in stereo microscope (Fig. 7): General view of spermatheca is in the form of an opened hook or bird beak-shaped, distinctly curved. Nodulus is distinctly swollen and bulbous. Apical part of cornu is clearly sharpened. Apex of cornu is pointed. Cornu has an integument trace in front of the apex. Collum is invisible, and much reduced. Ramus is visible, but small. It is joined to nodulus in latero median part of external surface basally. Ductus spermatheca is very long, rather fine, and regularly spiral almost along its length.

Diagnostic characters of spermatheca for *Cassida nebulosa* and *Cassida atrata* in stereo microscope:

General view of spermatheca is in the form of an opened hook or a bird beak-shaped, distinctly curved. Nodulus is distinctly swollen and bulbous. Nodulus is not darkened on any part. Apical part of cornu is clearly sharpened. Apex of cornu is pointed. Cornu has an integument trace in front of the apex. Ramus visible, but small. It is joined to nodulus in latero median part of external surface basally. Ductus spermatheca is very long, rather fine, regularly spiral almost along its length. *Cassida nebulosa* Linnaeus, 1758

General view of spermatheca is eggplant-shaped or boxing glove-shaped, distinctly curved, relatively obtuse angled, dissymmetrical C-shaped (apical part of cornu prolonged). Nodulus is short, almost parallel, not swollen. Nodulus is darkened on internal surface basally. Apical part of cornu is clearly swollen. Apex of cornu is rounded. Cornu does not have any integument trace in front of the apex. Ramus is invisible, very reduced or absent. Proximal duct is joined to nodulus in latero median part of external surface basally because ramus is invisible. Ductus spermatheca is rather thick, straight tube-shaped at the proximal part, and then this tube is broadly twisted. These parts are probably almost 1/3 of all length of ductus spermatheca. Last part (or last 2/3) of ductus spermatheca is probably rather long, rather thick and regularly spiral. *Cassida atrata* Fabricius, 1787.

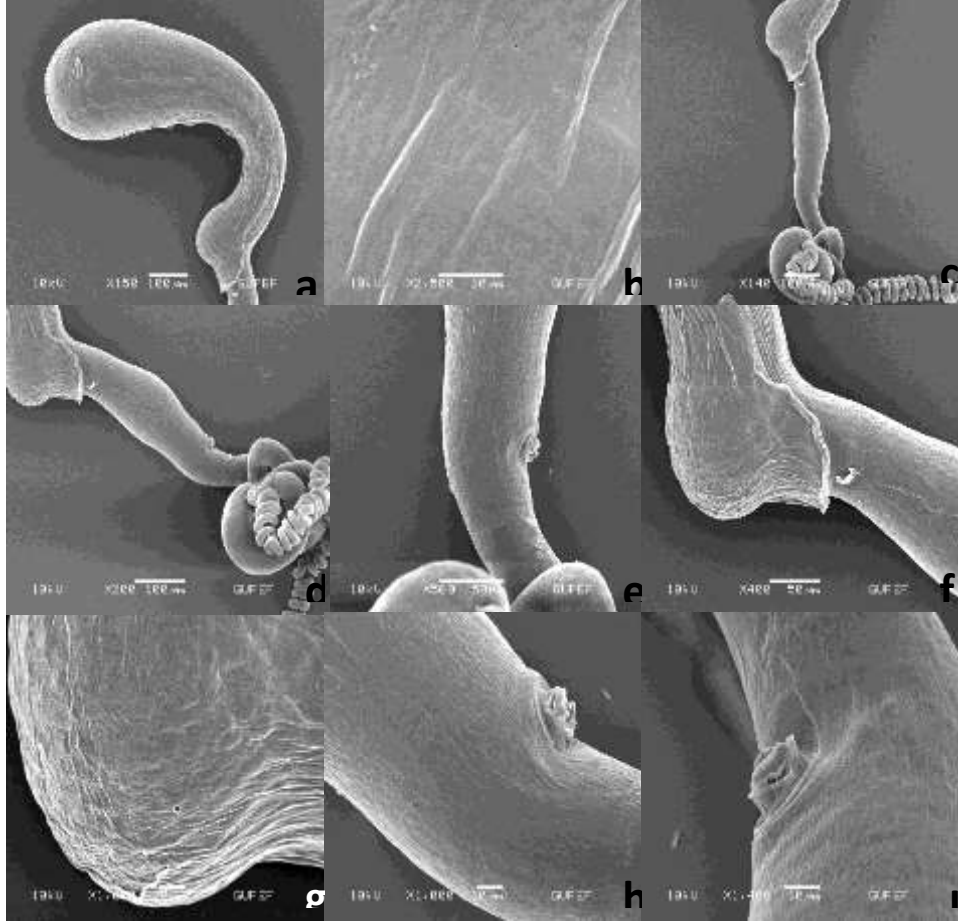


Figure 4. Spermatheca of *Cassida atrata*, **a**. Nodulus, cornu and integument; **b**. Pits on the apical part of cornu; **c and d**. Integument, ampulla, spermathecal gland and ductus spermatheca; **e**. Connection of spermathecal gland on proximal duct; **f**. Integument on basal part of nodulus; **g**. Pits on integument in basal part of nodulus; **h and i**. spermathecal gland on proximal duct in lateral view (SEM). Scale bars size are 100 μ m, 50 μ m, 50 μ m, 10 μ m, 10 μ m, 10 μ m, respectively.

Şekil 4. *Cassida atrata*'nın spermatekası, **a**. Nodulus, cornu ve integument; **b**. Cornu'nun apikal kısmındaki çukurlar, **c ve d**. İntegüment, ampulla, spermatekal bez ve spermateka kanalı; **e**. Proksimal kanal üzerindeki spermatekal bağlantı. **f**. Nodulusun kaide kısmı üzerindeki integüment; **g**. Nodulusun kaide kısmındaki integümentteki çukurlar; **h ve i**. Proksimal kanaldaki spermatekal bezin yandan görünümü (SEM). Ölçek çubuklarının boyutları sırasıyla 100 μ m, 50 μ m, 50 μ m, 10 μ m, 10 μ m, 10 μ m'dir.

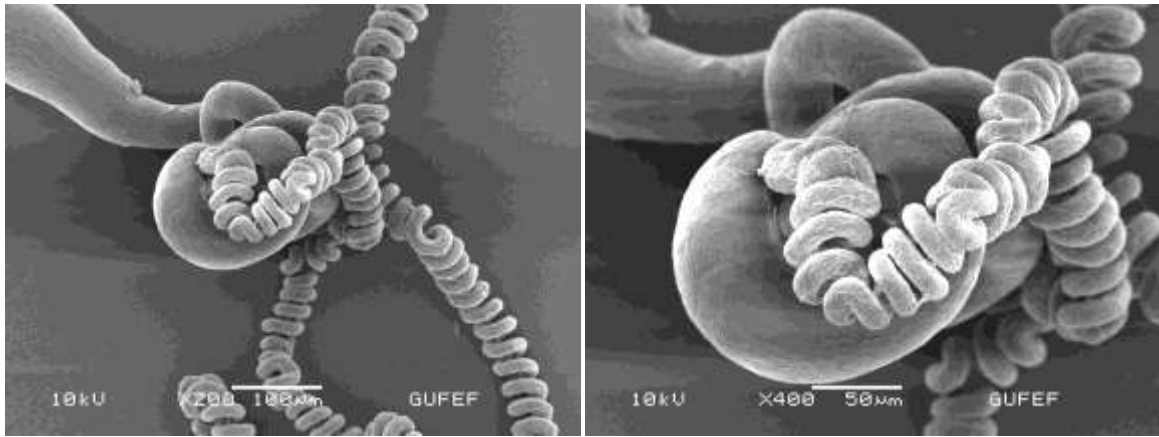


Figure 5. Spermatheca of *Cassida atrata*, ramus, spermathecal gland, proximal duct and ductus spermatheca in lateral view (SEM). Scale bars size are 100 μ m, 50 μ m, respectively.

Şekil 5. *Cassida atrata*'nın spermatekası; ramus, spermatekal bez, proksimal kanal ve spermateka kanalının yandan görünümü (SEM). Ölçek çubuklarının boyutu sırasıyla 100 μ m, 50 μ m'dir.

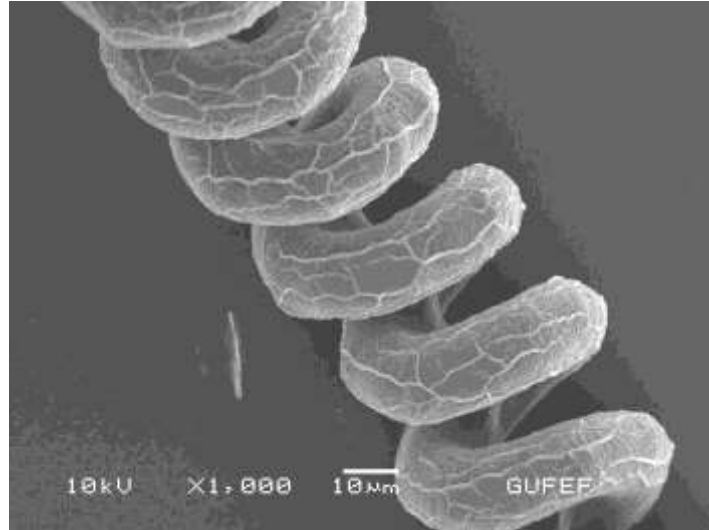


Figure 6. Spermatheca of *Cassida atrata*, spiral part of ductus spermatheca in lateral view (SEM). Scale bars size is 10 µm.

Şekil 6. *Cassida atrata*'nın spermatekası, spermateka kanalının spiral kısmı yandan görünümde (SEM). Ölçek çubuk boyutu 10 µm.



Figure 7. Spermatheca of *Cassida nebulosa* Linnaeus, 1758, lateral view (from Bordy, 2009).

Şekil 7. *Cassida nebulosa* Linnaeus, 1758 'in spermatekasının yandan görünümü (Bordy, 2009 dan).

CONCLUSION

As mentioned above, nine spermathecal characters for *Cassida nebulosa* are determined. The type species clearly differs from *Cassida atrata* by all determined spermathecal characters.

Accordingly, it can be said that the type species *Cassida nebulosa* and *Cassida atrata* are probably not congeneric.

According to the results of the present study, we believe that ultrastructural and detailed investigations of spermathecae will be very important in the genus *Cassida* with regard to subgeneric classification especially.

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to thank Prof. Dr. Zekiye Suludere for her

tremendous support in the process of picturing the study material with Scanning Electron Microscope. I would also like to thank Prof. Dr. Hüseyin Özdikmen who has, with his taxonomic knowledge and academic experience guided me through my study and broadened my horizon in every aspect of life. Lastly, I would also thank to Gazi University Academic Writing, Research and Application Center for their support in proofreading the current study.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Ataş F, Özdikmen H, Bal N, Amutkan Mutlu D & Suludere Z. 2019a. A SEM study on aedeagus and spermatheca of *Cassida seraphina* Ménétries, 1836 (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) from Turkey. *Munis Entomology & Zoology*, 14 (2): 395-411.
- Ataş F, Özdikmen H, Bal N, Amutkan Mutlu D. & Suludere Z. 2019b. A SEM study on aedeagus and spermatheca of *Cassida hablitziae* Motschulsky, 1838 (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) from Turkey. *Munis Entomology & Zoology*, 14 (2): 519-529.
- Bordy B 2009. Coléoptères, Chrysomelidae: Hispinae et Cassidinae, Faune de France, volume 85, 260 pp.
- Bordy B Doguet S 1987. Contribution à la connaissance des Cassidinae de France. Étude de leur spermatheque (Coleoptera, Chrysomelidae). *Nouvelle Revue d'Entomologie (N.S.)*, 4: 161-176.
- Borowiec L 2007. Two new species of *Cassida*

- Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) from Madagascar and notes on subgenera of the genus *Cassida* Zootaxa, 1586: 47-58.
- Borowiec L, Sekerka L 2010. Cassidinae. Pp. 368-390. In Löbl, I. & Smetana A. (eds.). Catalogue of Palaearctic Coleoptera, Vol. 6. Chrysomeloidea. Stenstrup: Apollo Books, 924 pp.
- Borowiec L, Świętojańska J 2001. Revision of *Cassida itigiosa* group from southern Africa (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae). Annales Zoologici, Warszawa, 51: 153-184.
- Ekiz AN, Şen İ, Aslan EG, Gök A 2013. Checklist of leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) of Turkey, excluding Bruchinae. Journal of Natural History, 47(33-34): 2213-2287.
- Kısmalı S, Sassi D 1994. Preliminary list of Chrysomelidae with notes on distribution and importance of species in Turkey. II. Subfamily Cassidinae Spaeth. Türk Entomol. Derg., 18(3): 141-156.
- Özdikmen H, Bal N 2019. On the subgenus *Alledoya* Hincks, 1950 (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae). Munis Entomology&Zoology, 14(2): 350-357.
- Özdikmen H, Kaya G 2014. Chorotype identification for Turkish Chrysomeloidea (Coleoptera) Part I – Chrysomelidae: Hispinae and Cassidinae. Munis Entomology&Zoology, 9(1): 58-70.
- Özdikmen H, Mercan N, Cihan N, Kaya G, Topcu NN, Kavak M 2014. The importance of super family Chrysomeloidea for Turkish biodiversity (Coleoptera). Munis Entomology&Zoology, 9(1): 17-45.
- Warchalowski A 2003. Chrysomelidae: the leaf beetles of Europe and the mediterranean Area. Warszawa: Natura optimadux Foundation; 600 pp.
- Warchalowski A 2010. The Palearctic Chrysomelidae. Identification keys. Vol. 1 & 2. Warszawa, 2010. 1212 pp.



Lectotypification of Some Names in *Dianthus* L. (Caryophyllaceae)

Ergin HAMZAOĞLU¹

Gazi University, Gazi Faculty of Education, Department of Mathematics and Science Education, 06500, Ankara, Turkey
<https://orcid.org/0000-0001-6053-6796>

✉: erginhamzaoglu@gazi.edu.tr

ABSTRACT

In this study, lectotypifications of 21 valid or synonym names of the genus *Dianthus* L. (Caryophyllaceae) were determined. Among these; the types of *D. acrochlorus* Stapf, *D. haussknechtii* Boiss., *D. hypochlorus* Boiss. & Heldr., *D. kastembeluensis* Freyn & Sint., *D. kotschyanus* Boiss. & Heldr., *D. lydus* Boiss., *D. micranthus* Boiss. & Heldr., *D. multipunctatus* Ser. var. *gracilior* Boiss., *D. pallens* Sibth. & Sm. var. *oxylepis* Boiss. and *D. striatellus* Fenzl were based upon the specimens collected from two or more localities. The types of *D. bitlisianus* Kotschy ex Boiss., *D. brevicaulis* Fenzl, *D. carmelitarum* Reut. ex Boiss., *D. cibrarius* Clem., *D. hymenolepis* Boiss., *D. muschianus* Kotschy ex Boiss., *D. polycladus* Boiss. and *D. setisquameus* Hausskn. ex Bornm. were based upon the specimens collected from a single locality without mentioning any “type”. And *D. arpadianus* Ade & Bornm. var. *trojanus* Bornm. & Sint., *D. engleri* Hausskn. & Bornm. and *D. siphonocalyx* Blakelock were based upon the specimens for which multiple “types” were stated. Most of the specimens of the lectotypes determined in this study were collected from Turkey and the rest came from Syria and Iraq.

Research Article

Article History

Received : 15.05.2019
Accepted : 08.11.2019

Keywords

Dianthus
Typification
Turkey
Syria
Iraq

Dianthus L.’ta (Caryophyllaceae) Bazı İsimlerin Lektotipifikasyonu

ÖZET

Bu çalışmada, *Dianthus* L. cinsinde (Caryophyllaceae) geçerli veya sinonim durumda olan 21 ismin lektotipifikasyonu yapıldı. Bunlar arasında; *D. acrochlorus* Stapf, *D. haussknechtii* Boiss., *D. hypochlorus* Boiss. & Heldr., *D. kastembeluensis* Freyn & Sint., *D. kotschyanus* Boiss. & Heldr., *D. lydus* Boiss., *D. micranthus* Boiss. & Heldr., *D. multipunctatus* Ser. var. *gracilior* Boiss., *D. pallens* Sibth. & Sm. var. *oxylepis* Boiss. ve *D. striatellus* Fenzl’de tipler iki veya daha fazla adresten toplanmış örneklerle dayandırılmıştır. *D. bitlisianus* Kotschy ex Boiss., *D. brevicaulis* Fenzl, *D. carmelitarum* Reut. ex Boiss., *D. cibrarius* Clem., *D. hymenolepis* Boiss., *D. muschianus* Kotschy ex Boiss., *D. polycladus* Boiss. ve *D. setisquameus* Hausskn. ex Bornm.’da tipler, “tip” belirtmeksizin tek adresten toplanmış örneklerle dayandırılmıştır. Ve *D. arpadianus* Ade & Bornm. var. *trojanus* Bornm. & Sint., *D. engleri* Hausskn. & Bornm. ve *D. siphonocalyx* Blakelock’ta ise, birden fazla “tip” olarak belirtilmiş örneklerle dayandırılmıştır. Bu çalışmada lektotip olarak belirlenen örneklerin çoğunluğu Türkiye’den, bir kısmı ise Suriye ve Irak’tan toplanmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 15.05.2019
Kabul Tarihi : 08.11.2019

Anahtar Kelimeler

Dianthus
Tipifikasyon
Türkiye
Suriye
Irak

To Cite : Hamzaoğlu E 2020. Lectotypification of Some Names in *Dianthus* L. (Caryophyllaceae). KSU J. Agric Nat 23 (2): 402-415. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.636135.

INTRODUCTION

Dianthus L. is the second largest genus in the family Caryophyllaceae, after *Silene* L. The genus, which includes ca. 300 species, is generally distributed in the Mediterranean region of Europe and Asia (Valente et al. 2010). The first study focusing on *Dianthus* species

in the Turkish flora was carried out by Reeve (1967), and in that study 67 species were recorded. In recent years, 16 new species and 4 new records were added to the Turkish *Dianthus*. On the other hand, it was determined that 5 species are not grown in Turkey (Gemici & Leblebici, 1995; Menemen & Hamzaoğlu,

2000; Özhatay & Kültür, 2006; Vural, 2008; Yılmaz et al., 2011; İlçim et al., 2013; Hamzaoğlu et al., 2014; 2015a; 2015b; 2015c; 2017; 2018; Hamzaoğlu & Koç, 2015; 2018a; 2018b; 2019a; 2019b; 2019c; Deniz et al., 2016; Oskay, 2018). As a result of these studies, total species number of the genus *Dianthus* in Turkey has reached 82, of which 43 are endemic, so that the endemism rate is about 52 %.

Some taxa of the genus *Dianthus* determined in Turkey were based upon the specimens collected from two or more localities (i.e. syntypes) (Reeve, 1967). Some of these specimens were collected from a single locality, without any information about the type indicated on them. This situation caused a great uncertainty about which specimen is the “type” of the species. In some of the taxonomic studies “lectotypification” of some taxa, such as *D. viscidus* Bory & Chaub., *D. cruentus* Griseb., *D. anatolicus* Boiss., *D. transcaucasicus* Schischk., *D. tabrisianus* Bien. ex Boiss. and *D. crinitus* Sm. var. *crossopetalus* Fenzl ex Boiss., distributed also in Turkey, were carried out in recent years (Strid, 1986; Rechinger, 1988; Nersesyan, 2011). However, these studies are extremely limited. This study was concerned with the revision of *Dianthus* that provided some of the new data (TÜBİTAK, Project No. KBAG-111T873). The lectotypification process was carried out by using virtual images. The virtual herbaria images, significantly increased in recent years, made these types of studies much easier than in the past.

MATERIAL and METHOD

The materials of this study were the virtual images obtained from the K, E, P, JE, WU, BM, PH and BR Herbaria and related protologues. In addition to these images mentioned above, the topotype specimens in the GAZI and ANK Herbaria were also utilized. The names attributed to the specimens were discussed in the framework of type localities indicated on the labels and the details indicated in the protologues by the authors themselves in their own handwriting. The rules and recommendations of the ICN (Art. 9.3 and 9.12, Rec. 9A and 9C) have been followed while designating the lectotype (Turland et al. 2018).

RESULTS

The lectotyped names were evaluated in alphabetical order and the names of the species were indicated in italic and bold as follows: The first paragraph of the lectotypification of the species includes the name of the taxon, author and the identity. The second and third paragraphs contain the protologue citation and the specimen chosen as a lectotype, respectively. Finally, the reasons for lectotyping of the names were explained. Whether the lectotyped names are valid or a synonym was outside the scope of this article. In addition, the incomplete or incorrect localities on the

labels were corrected in square brackets.

Dianthus acrochlonis Stapf, Denkschr. Kaiserl. Akad. Wiss., Wien. Math. -Naturwiss. Kl. 51: 350 (1886)!

Protologue citation: “Lycia: Ad Karakiöi (2.viii.1882); in ruinis monasterii supra Owadjik. (2.VIII.1882.)”.

Lectotype (designated here): “Passhöhe ober Karakiöi, 2 August 1882, Luschan” (WU 066702), Figure 1.

Other syntype specimens: “Lycia: In ruinis monasterii supra Owadjik. (2.VIII.1882)”.

Note: The epithet of this species has been corrected from the protologue “*acrochlorus*” to “*acrochlonis*” in accordance with Article 60.8 of the ICN (Turland et al., 2018; IPNI, 2019; The Plant List, 2019). It was defined based on specimens collected from two localities in Antalya Province, Turkey (Karakiöi [Karaköy] and Owadjik [Ovacık] villages, [Elmalı District]) (Stapf, 1886). There was a sheet collected by Luschan from Karaköy village present in the WU Herbarium. This specimen with the barcode of “WU0066702” was chosen as the lectotype (Figure 1).

Dianthus arpadianus Ade & Bornm. var. ***trojanus*** Bornm. & Sint., Repert. Spec. Nov. Regni Veg. 36: 385 (1934)!

Protologue citation: “Collectus a cl. Sintenis in monte Kapudagh montium Ida, in Asia minore (Mysia), 1.VII.1883 et distributus sub No. 556”.

Lectotype (designated here): “P. Sintenis: Iter trojanum 1883. M. Ida, in marmor montis Kapu-Dagh, 1/7, No. 556” (E [E00301902] Virtual image!; **isolectotypes:** E [E00301899] Virtual image!; [E00301901] Virtual image!; K [K000725436] Virtual image!; [K000725437] Virtual image!; P [P05294835] Virtual image!; JE [JE00015045] Virtual image!; [JE00015046] Virtual image!; [JE00015047] Virtual image!), Figure 1.

Note: According to the protologue, this taxon is defined based on specimens collected from Balıkesir Province, Turkey (Kapudagh [Kapıdağ, Kaz Dağı]) (Ade, 1934). There were nine sheets collected by Sintenis from Kapıdağ in the E, K, JE, and P Herbaria. Three of the nine sheets had “type specimen” written on them in the E. Also, there was a sheet in the K with “isotypus” written on it (K000725436). However, nothing was written on the remaining sheets in the K (K000725437), P (P05294835) and JE (JE00015045, JE00015046, JE00015047). Since the holotype was not clearly specified, the sheet in the E with the barcode of “E00301902” was chosen as the lectotype (Figure 1).

Dianthus bitlisianus Kotschy ex Boiss., Fl. Orient. 1: 483 (1867)!

Protologue citation: “In aridis prope Bitlis Armenia meridionalis (Ky!)”.

Lectotype (designated here): “In aridis ad urbem Bitlis alt. 4600'. Diebus Sept., Kotschy Suppl. 762” (P [P04980977] Virtual image!; **isolectotype.**



Figure 1. Lectotype of *Dianthus acrochlonis* (A), *Dianthus arpadianus* var. *trojanus* (B), *Dianthus bitlisianus* (C) and *Dianthus brevicaulis* (D, specimens on the bottom of sheet).

Şekil 1. *Dianthus acrochlonis* (A), *Dianthus arpadianus* var. *trojanus* (B), *Dianthus bitlisianus* (C) ve *Dianthus brevicaulis* (D, kartonun altındaki örnek)'in lektotipi.

P [P04980976] Virtual image!; JE [JE00017149] Virtual image!), Figure 1.

Note: The type locality of the taxon was given as “Bitlis” in the protologue (Boissier, 1867). There were three identical sheets found in the P and JE Herbaria, labelled “Bitlis, Kotschy 762”. One of these sheets, (P04980976), was selected as the lectotype (Figure 1).

Dianthus brevicaulis Fenzl, Pug. Pl. Nov. Syr. 10-11 (1842)!

Protologue citation: “In alpibus Tauri occidentalis (Kotschy coll. n. 91”.

Lectotype (designated here): “In monte Tauro, Aestate 1836, legit Th. Kotschy N° 91” (K [K000725515] Virtual image!, specimens on the bottom of sheet; **isolectotype:** K [K000725513] Virtual image!; [K000725514] Virtual image!; WAG [WAG0004000] Virtual image!; S [S07-16787] Virtual image!; L [1706160] Virtual image!; BM [BM000571476] Virtual image!; H [H1341175] Virtual image!), Figure 1.

Note: According to the protologue, this species was defined based on specimens collected from west of the Taurus Mountains in Turkey (Fenzl, 1842). There were eight sheets found in the K, WAG, S, L, BM, and H Herbaria, labelled “Kotschy 91”. On some of them, only the “Type” or “Type Number. HERB. KEW.” was written. Since the holotype was not clearly specified, the sheet in the K with the barcode of “K000725515” was chosen as the lectotype (Figure 1).

***Dianthus carmelitarum* Reut. ex Boiss., Fl. Orient. 1: 512 (1867)!**

Protologue citation: “In monte Techdagh Armenia (Huet)”.

Lectotype (designated here): “In montibus Tech-Dagh supra Erzeroum, in pascuis, Jul. 1853, Huet du Pavillon” (K [K000725526] Virtual image!; **isolectotype:** K [K000725527] Virtual image!), Figure 2.

Note: The type locality of the taxon was given as “above Erzurum, Tekdağ” in the protologue (Boissier, 1867). There were two specimens collected by Huet from “Tekdağ” present at the virtual herbarium in the K. One of these sheets (K000725526) was selected as the lectotype, since they are similar (Figure 2).

***Dianthus cibrarius* Clem., Mem. Reale Accad. Sci. Torino, II, 16: 256 (1857)!**

Protologue citation: “Copiose occurrit in convalle quadam alpina Olympi bith. latere S.E. Floret Augusto mense”.

Lectotype (designated here): “In herbido alpin. Olympi bith., 18 aug 1850, Clementi collegit” (K [K000725530] Virtual image!; **isolectotypes:** K [K000725532] Virtual image!, specimen on the left of sheet; BM [BM000571465] Virtual image!), Figure 2.

Note: The type locality of the taxon was indicated as “Olympi bith. [Uludağ, Bursa]” in the protologue (Clementi, 1857). There were three sheets collected by Clementi from “Olympi bith.” present at the virtual herbarium in the K. Since the holotype was not clearly specified, the sheet in the K with the barcode of “K000725530” was chosen as the lectotype (Figure 2).

***Dianthus engleri* Hausskn. & Bornm., Mitt. Geogr. Ges. (Thüringen) Jena 9: 16 (1890)!**

Protologue citation: “alpine Region des kappadok. Akdagh 1900 m, Exsicc. Nr. 984”.

Lectotype (designated here): “Cappadociae bor.: in summo jugo Karababa in monte Ak-dagh, alt. 2300 m, 2.8.1889”, Bornmüller 984” (K [K000725512] Virtual image!; **isolectotypes.** PH [00011434] Virtual image!; BR [0000006969462] Virtual image!; BM [BM000571474] Virtual image!; JE [JE00013305] Virtual image!; KFTA [KFTA0000031] Virtual image!; GB [GB0047145] Virtual image!), Figure 2.

Note: The type locality of the species was written, “[Turkey A5 Amasya] in the summo cacumine “Kara-

baba” mountains is Akdagh, 2700 m, 1 vii 1889, Bornm. 984” in the *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* where both the name of the province and the altitude were indicated erroneously (Reeve, 1967). Floristically, the location of Amasya “Akdağ” is included in the “Galatia” Region (Davis, 1965). However, it was clearly stated in the protologue that the species was distributed in the “Cappadocia” Region (Haussknecht, 1890). In addition, there is no hill with the name of “Karababa” in the Amasya “Akdağ” mountain range. “Karababa” hill is located in the “Akdağ” mountain range between Sivas and Yozgat Provinces. The altitude of this hill is 2350 meters, which does not comply with the altitude of 2700 meters indicated in the *Flora of Turkey*. Specimens collected from the Karababa hill and the region in its close proximity also verified this fact (Ekim 4132, ANK; Hamzaoğlu 3947 and 6488, GAZI). There were six sheets, with the identification of “Bornmüller 984, Karababa, Akdağ”, found in the BM, PH, KFTA, K, JE, and BR Herbaria. Furthermore, there is no collector’s number on the sheet label with the barcode “JE00013306” in the JE Herbarium. However, it was written “orig.”, that is, “original” in parentheses by Haussknecht. Of these seven sheets, there was no expression of “type” or “holotype” written on any of them by Bornmüller or Haussknecht. Among these sheets, only the ones found in the BM, KFTA, and BR Herbaria were described as the “isotype”. On the other hand, “typus” was written by Kuzmina in 2000 on a sheet with the barcode of “JE00013305” found in the JE Herbarium. However, no lectotype publication was found that would support and make this note valid. As a result, there were no signs whatsoever indicating the type of the specimens obtained from the K, PH, and JE Herbaria. Since the “holotype” of the species was not clearly specified, the specimen barcoded “JE00013305” in the JE Herbarium has been chosen as the lectotype (Figure 2).

***Dianthus haussknechtii* Boiss., Fl. Orient. 1: 489 (1867)!**

Protologue citation: “In monte Masmeneudagh Cappadocia (Bal!), in graminosis montis Berytdagh Cataonia alt. 6000’ (Hausskn!). Fl. Aug.”.

Lectotype (designated here): “In graminosis Berytdagh, Taurus Cataonicus, 6000’, 10.8.65, Haussknecht 1181” (JE [JE00017212] Virtual image!), Figure 3.

Other syntype specimens: “In monte Masmeneudagh Cappadocia (Bal!)”.

Note: The species was defined based on specimens collected from two localities in Adana and Kahramanmaraş Provinces, Turkey (Masmeneudagh [Karanfil Mountain, Pozantı] and Berytdagh [Berit Mountain, Göksun]) (Boissier, 1867). There was a sheet collected by Haussknecht from “Berit Mountain”



Figure 2. Lectotype of *Dianthus carmelitarum* (A), *Dianthus cibrarius* (B) and *Dianthus engleri* (C).
Şekil 2. *Dianthus carmelitarum* (A), *Dianthus cibrarius* (B) ve *Dianthus engleri* (C)'nin lektotipi.

present at the virtual herbarium in the JE. The sheet with the barcode of “JE00017212” was chosen as the lectotype (Figure 3).

Dianthus hymenolepis Boiss., Diagn. Pl. Orient. 1(8): 64 (1849)!

Protologue citation: “In Mesopotamia loco non indicato Kotschy pl. Assy. N° 161”.

Lectotype (designated here): “Pl. Mesopot., 1841, Kotschy 169” (K [K000725525] Virtual image!; **isolectotype:** K [K000725524] Virtual image!), Figure 3.

Note: The type locality of the taxon was indicated only as “Mesopotamia” in the respective protologue (Boissier, 1849). There were two sheets present at the virtual herbarium in the K, labelled “Mesopot., 1841, Kotschy 169”. Although the labels indicated the correct form as “Kotschy 169”, the author mistakenly quoted this number as “Kotschy 161” in the protologue. Due to fact that these sheets bear no sign related to typification, the specimen barcoded “K000725525” was selected as the lectotype (Figure 3).

Dianthus hypochlorus Boiss. & Heldr., Diagn. Pl. Orient. 1(8): 67 (1849)!

Protologue citation: “In pascuis siccis Tauri Isaurici inter valles Tourtchalar et Ermenek alt. 3000' et in regione alpina montis Anemas alt. 7000' (forma minor) (Heldreich)”.

Lectotype (designated here): “In pascuis sicuis vallis Ermenek Isauria. Jul. 1845, Heldreich” (K [K000725510] Virtual image!, specimens on the bottom right of sheet; **isolectotype:** K [K000725511] Virtual image!; H [H1505683] Virtual image!; WAG [WAG0004002] Virtual image!; GOET [GOET005973] Virtual image!), Figure 3.

Other syntype specimens: “In pascuis montis Anemas, Lycaonia, Aug. 1845, Heldreich” (K [K000725508] Virtual image!, as var. *alpina*; [K000725509] Virtual image!, as var. *alpina*).

Note: There were two the different type localities of the taxon indicated in the protologue as “Tourtchalar [Turcalar, Sarıveliler] et Ermenek” and “montis Anemas [Dedegöl Dağı]” (Boissier, 1849). A sheet with the protologue of “Anemas” was determined in the K Herbarium. Two labels, two barcodes and four specimens are present on the sheet (K000725508 and K000725509). “*Dianthus hypochlorus* Boiss. & Heldr. var. *alpina*” was written on the labels. These specimens were determined to be “forma minor” in the protologue of the original publication, whereas, in the explanation section, they were determined to be “forma alpina”. However, the specimens under “forma alpina (var. *alpina*)” were not given as “type” but were given as “syntype” under “*Dianthus hypochlorus*”. Consequently, the name “forma alpina (var. *alpina*)” was not published as valid and remained as a “nomen

nudum”. A total of five sheets with the protologue of “Ermenek” were determined. “Type” was written on one of these, “syntype HERB. KEW.” was written on two of these, whereas, “isosyntype” was written on the other two. Since the holotype was not clearly specified, the sheet with the barcode of “K000725510” was selected as the lectotype (Figure 3).

Dianthus kastembeluensis Freyn & Sint., Oesterr. Bot. Z. 43: 375 (1893)!

Protologue citation: “Paphlagonia ad Kastemuni: in collibus inter Taschlö Chan Eliots die 15. aug. (Exsicc. no. 4964) et in collibus siccis supra Seidler die 17. aug. 1892 (Exsicc. no. 5018) leg. Sintenis”.

Lectotype (designated here): “Kastambuli: in pascuis montis supra Seidler. 17.VIII, 1892, Sintenis 5018” (K [K000725518] Virtual image! **isolectotypes.** GOET [GOET005953] Virtual image!; JE [JE00017198] Virtual image!; BM [BM000572329] Virtual image!; PRC [PRC455183] Virtual image!; KFTA [KFTA0000030] Virtual image!; S [S07-16959] Virtual image!; LD [LD-1220430] Virtual image!; [LD-1220490] Virtual image!), Figure 3.

Other syntype specimens: “Kastambuli: inter Taschlik-Chan et Eliod. 15.VIII, 1892, Sintenis 4964” (K [K000725519] Virtual image!; JE [JE00017199] Virtual image!; LD [LD-1220190] Virtual image!; [LD-1220550] Virtual image!).

Note: This taxon is defined based on specimens collected from two localities in Kastamonu Province, Turkey (Taschlö [Taşlık] and “Seidler [Seydiler] villages) (Freyn, 1893). There were nine sheets present at the virtual herbaria in the K, JE, S, LD, KFTA, PRC, BM, GOET labelled “Seydiler, Sintenis 5018”. Of these, “type” was written on two sheets in the LD Herbarium, “isosyntype” was written on the sheets in the BM and PRC Herbaria and “syntype” was written on the sheet in the KFTA Herbarium. Whereas, there is no writing at all related to the typology on the sheets in the K, GOET, S and JE Herbaria. Since the holotype was not clearly specified, this sheet (K000725518) was selected as the lectotype (Figure 3).

Dianthus kotschyanus Boiss. & Heldr., Diagn. Pl. Orient. 1(8): 68 (1849)!

Protologue citation: “In Tauro Cilicia Kotschy N° 86 sub *D. pallenti*, Tauro Lycaonica in monte Karadagh supra Larenda et inter Beychehr et Koniah. (Heldreich)”.

Lectotype (designated here): “In monte Tauro, Aestate 1836, legit Th. Kotschy N° 86” (K [K000725439] Virtual image!; **isolectotype.** K [K000725438] Virtual image!), Figure 4.

Note: This taxon is defined based on specimens collected from three localities in Turkey (Taurus Mountains, above Karadağ, and between Beyşehir and Konya) (Boissier, 1849). There were two sheets present

in the K Herbarium, labelled “in monte Tauro, Kotschy 86”. There were three specimens on these sheets with two different barcodes of “K000725439” and “K000725438”. The specimens have been indicated with three different names on the sheets as “*Dianthus kotschyanus*”, “*Dianthus anatolicus*” and “*Dianthus pomeridianus*”. There was only “Syntype HERB.

KEW.” written on them. Since the holotype was not clearly specified, the sheet with the barcode of “K000725439” was chosen as the lectotype (Figure 4).

***Dianthus lydus* Boiss.**, Diagn. Pl. Orient. 1(1): 20 (1843)!



Figure 3. Lectotype of *Dianthus haussknechtii* (A), *Dianthus hymenolepis* (B), *Dianthus hypochlorus* (C, specimens on the bottom right of sheet) and *Dianthus kastembeluensis* (D).

Şekil 3. *Dianthus haussknechtii* (A), *Dianthus hymenolepis* (B), *Dianthus hypochlorus* (C, kartonun altında sağdaki örnek) ve *Dianthus kastembeluensis* (D)'in lektotipi.

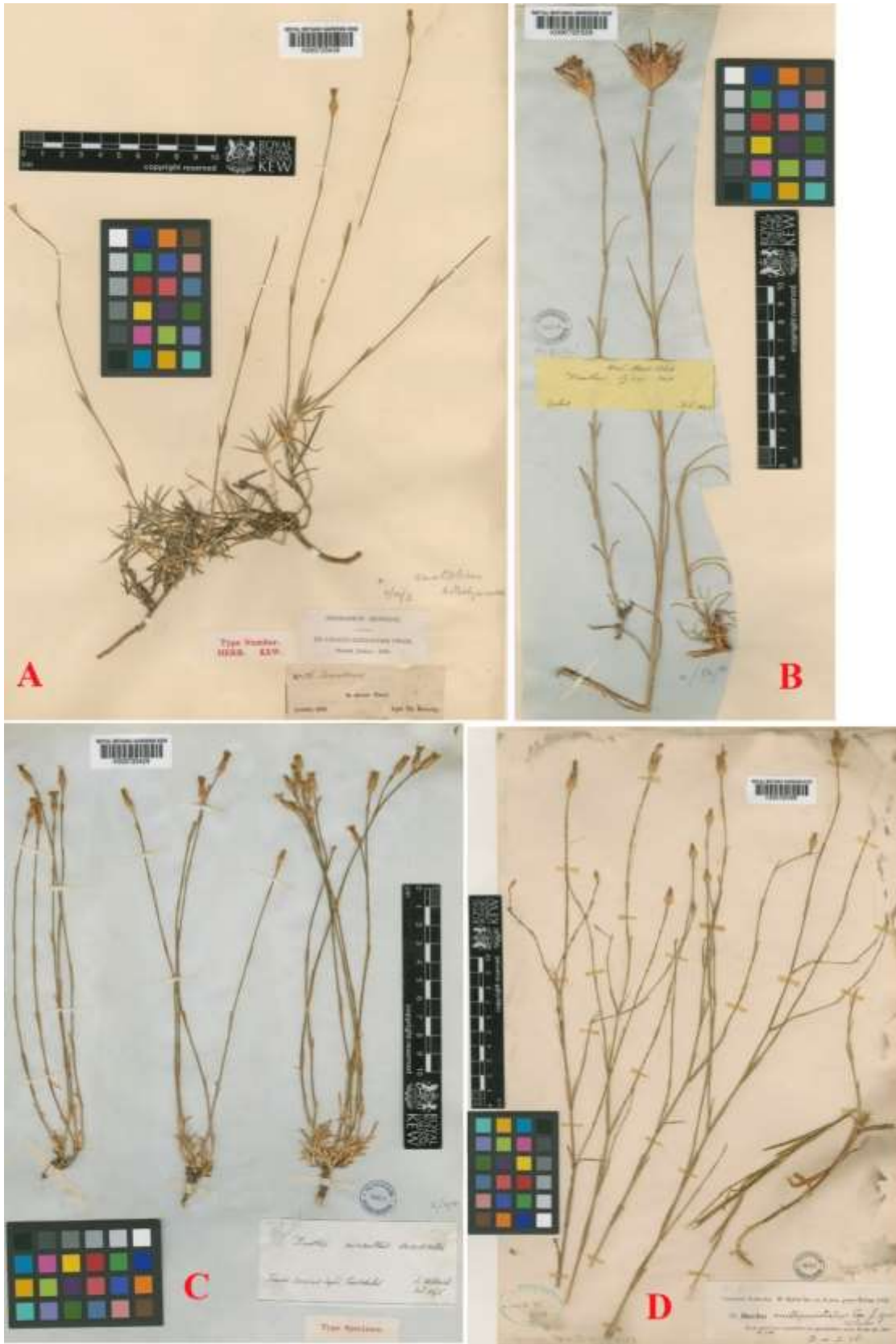


Figure 4. Lectotype of *Dianthus kotschyanus* (A), *Dianthus lydus* (B, specimens on the left of sheet), *Dianthus micranthus* (C) and *Dianthus multipunctatus* var. *gracilior* (D).

Şekil 4. *Dianthus kotschyanus* (A), *Dianthus lydus* (B, kartonun solundaki örnekler), *Dianthus micranthus* (C) ve *Dianthus multipunctatus* var. *gracilior* (D)'un lektotipi.

Protologue citation: “In montibus Lydia Tmolo, Sypilo ubi legi Jun. 1842”.

Lectotype (designated here): “Sipylus, Jul. 1842, Boissier” (K [K000725528] Virtual image!, specimens on the left of sheet; **isolectotypes:** E [E00301863] Virtual image!, specimens on the right of sheet; P [04986544] Virtual image!, specimens on the right of sheet), Figure 4.

Note: This taxon is defined based on specimens collected from two localities in Manisa Province, Turkey (Lydia Tmolo [Bozdağ] and Sypilo [Spil Dağı]) (Boissier, 1843). Three sheets collected by Boissier from “Sipylus” were found in the E, K and P Herbaria. The sheet in the K with the barcode of “K000725528” was chosen as the lectotype (Figure 4).

Dianthus micranthus Boiss. & Heldr., Diagn. Pl. Orient. 1(8): 69 (1849)!

Protologue citation: “In herbis Tauri Isaurici, in montibus supra Tourtchalar alt. 4000' et in parte occidentali montis Gheidagh. Alt. 6000'. (Heldr.)”.

Lectotype (designated here): “Taurus Isauricus supra Tourtchalar, Jul. 1845, Heldreich” (K [K000725428] Virtual image!; **isolectotype.** K [K000725430] Virtual image!, only “Taurus Isauricus” written on the label; E [E00301886] Virtual image!, GOET [GOET005955] Virtual image!, H [H1341470] Virtual image!, WAG [WAG0004044] Virtual image!), Figure 4.

Other syntype specimens: “In saxosis montis Gheidagh, Isauri, a. 6000', Jul. 1845, Heldreich” (K [K000725429] Virtual image!, as var. *minor*; GOET [GOET005954] Virtual image!, as var. *minor*).

Note: This species was defined based on specimens collected from two localities in Karaman and Antalya Provinces, Turkey (Tourtchalar [Turcalar, Sarıveliler] and Gheidagh [Geyik Dağları]) (Boissier, 1849). Two sheets with the protologues “Gheidagh” were determined in the K and GOET Herbaria (K000725429, GOET005954). “*Dianthus micranthus* Boiss. & Heldr. var. *minor*” was written on the labels of these sheets. These specimens in the protologue of the original publication were given as “syntype” under “*Dianthus micranthus*”. Consequently, it was not published as a valid “var. *minor*” name and remained as a “nomen nudum”. Six sheets were found in the K, E, H, GOET, and WAG Herbaria, labelled “Taurus Isauricus supra Tourtchalar”. “Type” was written on four of these sheets, whereas, “syntype” and “isosyntype” were written on the other two. Since the holotype was not clearly specified, the sheet with the barcode of “K000725428” was chosen as the lectotype (Figure 4).

Dianthus multipunctatus Ser. var. *gracilior* Boiss., Fl. Orient. 1: 483 (1867)!

Protologue citation: “In regione inferiori Tauri circa Gulek (Ky exs. 88!), Syria in Amano (Ky exs. 69!), circa

Suadieh et Antiochiam (Boiss!), ad Aintab (Haussk!)”.

Lectotype (designated here): “Locis graminosa-repestribus ad aquaeductum supra Beilan alt. 3000' 23. junii, Kotschy 69” (K [K000725408] Virtual image!, **isolectotype.** BM [BM000572318] Virtual image!), Figure 4.

Other syntype specimens: “Tulluk p. Aintab, 27.6. 1865, alt. 3000” (K [K000725407] Virtual image!), “Syria Antiochei jul 1846, Boissier” (K [K000725409]).

Note: There were four different type localities mentioned in the protologue of the taxon as “Gulek [pass]”, “Amanos”, “Samandağ and Antakya”, and “Gaziantep” (Boissier, 1867). There were two sheets present at the virtual herbaria in the K and BM, labelled “Belen, Kotschy 69” and “syntype”. Since the holotype was not clearly specified, the sheet in the K with the barcode of “K000725408” was chosen as the lectotype (Figure 4).

Dianthus muschianus Kotschy ex Boiss., Fl. Orient. 1: 510 (1867)!

Protologue citation: “In alpebus Armenia australis supra Musch alt. 7500' (Ky exs. 439). Fl. aest.”.

Lectotype (designated here): “Plantae ex schistosis in alpebus prope Musch lectae, ad nives deliquescentes frequens, 7500'. Die 6 Sept. 1859, Kotschy 439” (K [K000725520] Virtual image!; **isolectotypes:** P [P04998389] Virtual image!; [P04998390] Virtual image!; [P04998391] Virtual image!; JE [JE00017196] Virtual image!; H [H1341530] Virtual image!; S [S07-17165] Virtual image!; BM [BM000571464] Virtual image!), Figure 5.

Note: According to the protologue, this taxon was defined based on specimens collected from Muş Province, Turkey (supra Musch [above Muş]) (Boissier, 1867). Eight sheets collected by Kotschy (no. 439) from Muş Province were found in the K, P, BM, H, S, and JE Herbaria. There were two sheets in the H and BM Herbaria with “type” written on their labels (H1341530, BM000571464). However, nothing was written on the remaining sheets in the K, P, S and JE. Since the holotype was not clearly specified, the sheet in the K with the barcode of “K000725520” was chosen as the lectotype (Figure 5).

Dianthus pallens Sibth. & Sm. var. *oxylepis* Boiss., Fl. Orient. 1: 485 (1867)!

Protologue citation: “In Syria boreali ad Aleppo (Oliv!), in deserto propi Orfa (Haussk!), ad Siwereek (Ky exs. 99!), in Antilibano versus Damascusum (Gail!), deserto ad Palmyram (Bl!), montibus Persiae bor. (Buhse! Ky exs. 445!)”.

Lectotype (designated here): “Pl. Mesopot., Kurdistan & Mossul, ad Süverek (=Severek), 1841, Kotschy No. 99” (K [K000725421] Virtual image!; **isolectotype.** K [K000725422] Virtual image!), Figure 5.



Figure 5. Lectotype of *Dianthus muschianus* (A), *Dianthus pallens* var. *oxylepis* (B) and *Dianthus polycladus* (C).
Şekil 5. *Dianthus muschianus* (A), *Dianthus pallens* var. *oxylepis* (B) ve *Dianthus polycladus* (C)'un lektotipi.

Other syntype specimens: “In m. Elbrus pr. Derbend., 5 Jul. 1843, Kotschy 445” (BM [BM000572326] Virtual image!).

Note: There were six different type localities stated in the protologue of the taxon as “Aleppo”, “Urfa”, “Siverek”, “Damascus [Sam]”, “Palmyra” and “Northern Iranian Mountains” (Boissier, 1867). There were two sheets found in the K Herbarium, labelled “Kotschy 99”. The sheet with the barcode of “K000725421” was chosen as the lectotype (Figure 5).

Dianthus polycladus Boiss., Diagn. Pl. Orient. 1(8): 65 (1849)!

Protologue citation: “In montibus aridis et humulioribus Syriae inter Darkousch ad Orontem et planitiem Aleppensem. Legi Jun. 1846”.

Lectotype (designated here): “Syria, inter Edlips et Darkousch, Jun. 1846, Boissier” (K [K000725418] Virtual image!; **isolectotype.** K [K000725419] Virtual image!; PH [PH00011440] Virtual image!; LECB [LECB0000542] Virtual image!), Figure 5.

Note: There was only one type locality quoted in the protologue of the species as “between Asi river and Aleppo in Darkush, Idlib province, Syria” (Boissier, 1849). There were four sheets found in the K, PH and,

LECB Herbaria, labelled “between Idlib and Darkush”. These sheets bear no marks about the typification of the species. Therefore, the specimen barcoded “K000725418” was selected as the lectotype (Figure 5). A label that wrote “syntypus” was pasted onto the sheet found in the LECB Herbarium. It is thought that this note was written incorrectly, because the taxon was defined from only one protologue and consequently, it could not have a “syntype” specimen.

Dianthus setisquameus Hausskn. ex Bornm., Mitt. Geogr. Ges. (Thüringen) Jena 9: 15 (1890)!

Protologue citation: “alpine Region des kappadok. Akdagh 17–1900 m, Bornmüller. (Exciss. Nr. 975)”.

Lectotype (designated here): “Cappadocia borealis in regione superiore montis Ak-Dağ, 2000 m, 1/viii 89, Bornmüller No: 975 (K [K000725452] Virtual image!; **isolectotypes.** JE [JE00017232] Virtual image!; S [S07-17201] Virtual image!; BM [BM000571469] Virtual image!; LECB [LECB0000543] Virtual image!; BR [BR0000005231782] Virtual image!; KFTA [KFTA0000636] Virtual image!; GOET [GOET005961] Virtual image!), Figure 6.

Note: The type locality of the species is erroneously quoted in *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* as “[Turkey A5 Amasya] in regione alpina montis Ak dagh, 1900 m, 1889, Bornmüller 975” (Reeve, 1967). The species was collected from the same locality as “*Dianthus engleri*” mentioned above. That is why the collection numbers follow each other (Bornmüller 975 and 984). Apart from that, in both the protologue and the label of the species, it was clearly stated that the species grow in the “Cappadocia” Region (Haussknecht, 1890). In a recent study, there have been specimens belonging to the same species collected from the Nalbant hill (Yozgat, Akdağmadeni) in 2017 (Koç 3193, GAZI). “Karababa hill” and “Nalbant hill” belong to the “Akdağ” mountain range located between Sivas and Yozgat Provinces. There were eight sheets found belonging to Bornmüller’s “975, Akdağ” in the K, JE, S, BM, LECB, KFTA, GOET, and BR Herbaria. Since these specimens had no sign whatsoever of typification, the specimen barcoded “K000725452” in the K Herbarium was chosen as the lectotype (Figure 6). A label written “syntypus” was pasted on the sheet found in the KFTA Herbarium. It is thought that this note was written incorrectly, because the taxon was defined only from this protologue and consequently, it could not have a “syntype” specimen.

Dianthus siphonocalyx Blakelock, Kew Bull. 3: 397 (1948)!

Protologue citation: “N. IRAQ: Jabal Rubal (or Robal), S. of Atrush, 750 m., rocky limestone slope (scrub oak forest), 14.7.33, E. Guest 3654”.

Lectotype (designated here): “Flora of Irak. Jabal Rubal, S of Atrush, E.R. Guest 3654” (K [K000725443] Virtual image!; **isolectotypes.** K [K000725442] Virtual

image!; [K000725444] Virtual image!; [K000725445] Virtual image!; [K000725446] Virtual image!), Figure 6.

Note: The type of the related taxon was indicated as “Guest 3654” in the protologue (Blakelock, 1948). But there were five sheets in the K Herbarium, all labelled “Type” and “Guest 3654”. Since the holotype was not clearly specified, one of them with the barcode of “K000725443” was chosen as the lectotype (Figure 6).

Dianthus striatellus Fenzl, Pug. Pl. Nov. Syr. 10 (1842)!

Protologue citation: “In Syria prope Svedie ad ostia Orontis et in regione inferiore Tauri occidentalis (Kotschy coll. n. 88)”.

Lectotype (designated here): “In monte Tauro, Aestate 1836, legit Th. Kotschy N° 88” (K [K000725398] Virtual image!; **isolectotypes.** K [K000725397] Virtual image!; [K000725399] Virtual image!; [K000725400] Virtual image!; [K000725401] Virtual image!; [K000725402] Virtual image!; GOET [GOET005966] Virtual image!), Figure 6.

Note: There were two different type localities of the species quoted in the protologue as “Asi river mouth, in Samandağ [Hatay]” and “Taurus” (Fenzl, 1842). The specimens were given the same number, although they were collected from two different localities (Kotschy coll. n. 88). The specimens numbered “Kotschy 88” were used later as a “syntype” in the definition of *Dianthus multipunctatus* var. *gracilior* (Boissier, 1867).

ADDITIONAL SPECIMENS SEEN

Dianthus engleri Hausskn. & Bornm. Turkey, Prov. Yozgat, Akdağmadeni, above Kızılcaova village, Karababa Mountain, 2020 m, 16.6.2006, *Hamzaoğlu 3947* (GAZI); *ibid.*, 2170 m, 24.7.2012, *Hamzaoğlu 6488* (GAZI); *ibid.*, Demirkaya Hill, c. 2000-2200 m, *Ekim 4132* (ANK). ***Dianthus setisquameus*** Hausskn. ex Bornm. Turkey, Prov. Yozgat, Akdağmadeni, near Kızılcaova village, Nalbant Pass, 2120 m, 13.7.2017, *Koç 3193* (GAZI).

ACKNOWLEDGEMENTS

I am indebted to the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) for financial support (Project No. KBAG-111T873). I also thank the curators of the herbaria in the BM, BR, E, GB, GOET, H, JE, K, KFTA, L, LECB, LD, P, PH, PRC, S, WAG, and WU for the virtual images of the type specimens.

Statement of Conflict of Interest

Author have declared no conflict of interest.



Figure 6. Lectotype of *Dianthus setisquameus* (A), *Dianthus siphonocalyx* (B) and *Dianthus striatellus* (C).
Şekil 6. *Dianthus setisquameus* (A), *Dianthus siphonocalyx* (B) ve *Dianthus striatellus* (C)'un lektotipi.

REFERENCES

- Ade A 1934. *Dianthus arpadianus* Ade et Bornmüller spec. nov. Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis, 36: 385-388.
- Blakelock RA 1948. The Rustam Herbaria, Iraq: Part 1. Systematic List. Kew Bulletin, 3(3): 375-444.
- Boissier E 1843. Diagnoses Plantarum Orientalium Novarum, vol 1(1). Typographia Ferd. Ramboz, Genevae, 20.
- Boissier E 1849. Diagnoses Plantarum Orientalium Novarum, vol 1(8). Typographia Ferd. Ramboz, Genevae, 64-69.
- Boissier E 1867. Flora Orientalis, vol 1. H. Georg, Geneva & Basel, 483-512.
- Clementi J 1857. Sertulum Orientale seu recensio plantarum in Olympo Bithynico, in agro Byzantino et Hellenico, nonnullisque aliis Orientis Regionibus annis 1849-1850. Memorie della Reale Accademia delle Scienze di Torino, 16: 239-337.
- Davis PH 1965. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol 1. Edinburgh University Press, Edinburgh, 10-11.
- Deniz İG, Aykurt C, Genç İ, Aksoy A 2016. A new species of *Dianthus* (Caryophyllaceae) from Antalya, South Anatolia, Turkey. PhytoKeys, 63: 1-12.
- Fenzl E 1842. Pugillus Plantarum Novarum Syria et Tauri Occidentalis Primus. F. Beck, Vindobonae, 10-11.
- Frey von J 1893. Plantae Novae Orientales, III. Oesterreichische Botanische Zeitschrift, 43: 372-377.
- Gemici Y, Leblebici E 1995. Seven new species for the Flora of Turkey. Candollea, 50: 41-50.
- Hamzaoğlu E, Koç M 2015. *Dianthus burdurensis* (Caryophyllaceae), a new species from South-western Turkey. Phytotaxa, 233: 196-200.
- Hamzaoğlu E, Koç M 2018a. Presence of *Dianthus glutinosus* in Turkey and new variety of this species. Biodicon, 11(3): 149-152.
- Hamzaoğlu E, Koç M 2018b. *Dianthus sancarii* (Caryophyllaceae), a new species from eastern Turkey. Biodicon, 11(1): 30-34.
- Hamzaoğlu E, Koç M 2019a. Bazı *Dianthus* (Caryophyllaceae) taksonlarının Türkiye'deki varlığı üzerine bir araştırma. Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9(4): 620-627.
- Hamzaoğlu E, Koç M 2019b. Türkiye florası için yeni *Dianthus* (Caryophyllaceae) kayıtları. KSÜ Tarım ve Doğa Derg, 22(3): 381-388.
- Hamzaoğlu E, Koç M 2019c. Taxonomic contributions to the genus *Dianthus* section *Carthusiani* of Turkey (Caryophyllaceae). Biodicon, 12(1): 66-88.
- Hamzaoğlu E, Koç M, Aksoy A 2014. A new pricking Carnation (Caryophyllaceae) grows on tuff from Turkey. Biodicon, 7: 159-162.
- Hamzaoğlu E, Koç M, Büyük İ, Aksoy A, Soydam Aydın S 2015a. Presence of *Dianthus roseoluteus* Velen. (Caryophyllaceae) in Turkey and a new species: *Dianthus macroflorus* Hamzaoğlu. Syst Bot, 40(1): 208-213.
- Hamzaoğlu E, Koç M, Büyük İ, Aksoy A, Soydam Aydın S 2015b. A new serpentine-adapted carnation (Caryophyllaceae) from Turkey: *Dianthus serpentinus* sp. nov. Nord J Bot 33: 57-63.
- Hamzaoğlu E, Koç M, Aksoy A 2015c. *Dianthus aticii*, a new species from Turkey (Caryophyllaceae). Phytokeys, 48: 21-28.
- Hamzaoğlu E, Koç M, Büyük İ 2017. *Dianthus ucarii* (Caryophyllaceae): a new species from the northwest of Turkey. Turk J Bot, 41(5): 486-492.
- Hamzaoğlu E, Koç M, Büyük İ 2018. Two new spiny species of *Dianthus* (Caryophyllaceae) from Turkey. KSÜ Tarım ve Doğa Derg, 21(4): 545-554.
- Hausknecht C 1890. Referat über die auf der Frühjahrshauptversammlung zu Rudolstadt 1890 vorgelegten und besprochenen Pflanzen. Mitteilungen der Geographischen Gesellschaft für Thüringen zu Jena, 9: 10-23.
- İlçim A, Behçet L, Mükemre M 2013. *Dianthus vanensis* (Caryophyllaceae), a new species from Turkey. Turk J Bot, 37: 219-224.
- IPNI 2019. The International Plant Names Index, *Dianthus acrochlonis*. <http://www.ipni.org/ipni/plantnamesearchpage.do> (Access date: 12.07.2019).
- Menemen Y, Hamzaoğlu E 2000. A new species of *Dianthus* (Caryophyllaceae) from Salt Lake (Central Anatolia), Turkey. Ann Bot Fenn, 37: 285-287.
- Nersesyan AA 2011. Genus *Dianthus* L. (Caryophyllaceae) in southern Transcaucasia. Takhtajania, 1: 44-51.
- Oskay D 2018. *Dianthus somanus* (Caryophyllaceae), a new species from Turkey. Phytotaxa, 347(4): 263-271.
- Özhatay N, Kültür Ş 2006. Check-list of additional taxa to the supplement Flora of Turkey III. Turk J Bot, 30: 281-316.
- Rechinger KH 1988. *Dianthus* L. (Flora Iranica, vol 163. Akademische Druck-u Verlagsanstalt, Graz) 128-188.
- Reeve H 1967. *Dianthus* L. (Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol 2. Edinburgh University Press, Edinburgh: Ed. Davis PH) 99-131.
- Stapf O 1886. Beitrage zur flora von Lycien, Carien und Mesopotamien. Aun. 1881, 1882, 1883. Plantae collectae a D^{re} Felix Luschan, II. Theil. Denkschriften der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften/Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe, 51: 347-384.
- Strid A 1986. *Dianthus* L. (Mountain Flora of Greece, vol 1. Cambridge University Press, Cambridge) 176-200.

- The Plant List 2019. *Dianthus acrochlonis*.
<http://www.theplantlist.org> (Access date:
12.07.2019).
- Turland NJ, Wiersema JH, Barrie FR, Greuter W,
Hawksworth DL, Herendeen PS, Knapp S, Kusber
W-H, Li D-Z, Marhold K, May TW, McNeill J,
Monro AM, Prado J, Price MJ, Smith GF 2018.
International Code of Nomenclature for algae,
fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the
Nineteenth International Botanical Congress
Shenzhen, China, July 2017. *Regnum Veg* 159.
Koeltz Botanical Books, Glashütten, 1-254.
- Valente LM, Savolainen V, Vargas P 2010.
Unparalleled rates of species diversification in
Europe. *Proc Biol Sci*, 277: 1489-1496.
- Vural C 2008. A new species of *Dianthus*
(Caryophyllaceae) from Mount Erciyes, central
Anatolia, Turkey. *Bot J Linn Soc*, 158: 55-61.
- Yılmaz Ö, Kaynak G, Daşkın R, Meriçlioğlu A 2011.
Dianthus goekayi (Caryophyllaceae), a new species
from Turkey. *Ann Bot Fenn*, 48: 74-78.

Orhaneli İlçesinin Vasküler Bitki Çeşitliliği (Bursa, Türkiye)

Gülşah BAĞÇIVAN^{1*}, Ruziye DAŞKIN²

¹Bursa Uludağ University, Büyükşehir Vocational High School, Department of Forestry, 16990, Büyükşehir, Bursa, ²Bursa Uludağ University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, 16059, Görükle, Bursa, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-6131-8811>, ²<https://orcid.org/0000-0003-3258-5595>

✉: glshbagcivan@uludag.edu.tr

ÖZET

Bu çalışma Bursa ilinin güneyinde bulunan Orhaneli ilçesindeki vasküler bitki çeşitliliğini kapsamaktadır. Çalışma alanından 47 farklı istasyondan 2100 bitki örneği toplanmış ve bu örneklerin teşhisi sonunda 82 familya 347 cinse ait 713 takson (485 tür, 157 alt tür, 70 varyete ve 1 melez) tespit edilmiştir. Bu taksonlardan 14'ü Pteridophyta bölümüne, 699'u Spermatophyta bölümüne ait olduğu belirlenmiştir. 699 taksondan 8'i Pinophytina, 691'i Magnoliophytina alt bölümündedir. 691 taksondan 583'ü Magnoliopsida, 108'i Liliopsida sınıfındadır. Bitkilerin fitocoğrafik bölgelere göre dağılımları ve oranları Akdeniz elementi 149 (% 20.9), Avrupa-Sibirya elementi 89 (% 12.5), İran-Turan elementi 50 (%7) ve çok bölgeyi yada bölgesi bilinmeyenler 425 (% 59.6) şeklindedir. Endemik taksonların tehlike kategorileri de değerlendirilmiştir. Taksonların Raunkier'in hayat formlarına göre dağılımları ve oranları 59 (% 8.3)'ü Fanerofit, 328 (% 46)'i Hemikriptofit, 78 (% 10.9)'i Kriptofit, 231 (% 32.4)'i Terofit, 13 (%1.8)'ü Kamefit ve 4 (% 0.6)'ü Epifit olarak bulunmuştur. En fazla takson içeren familyalar ve takson sayıları sırasıyla, Asteraceae (83), Fabaceae (64), Poaceae (50), Lamiaceae (45), Brassicaceae (42) ve Caryophyllaceae (41)'dir. En fazla takson içeren cinsler ve takson sayıları ise *Trifolium* L. (18), *Alyssum* L., *Galium* L., *Verbascum* L. (12), *Vicia* L., *Hypericum* L. (11), *Euphorbia* L. (9) olarak bulunmuştur.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 04.10.2019

Kabul Tarihi : 19.12.2019

Anahtar Kelimeler

Vasküler bitkiler

Flora

Orhaneli

Bursa

Türkiye

Vascular Plant Diversity of Orhaneli District (Bursa, Turkey)

ABSTRACT

This study consists of vascular plants of Orhaneli district that is located in the south of Bursa province. During the study, 2100 plant specimens were collected from 47 different stations in the research area. At the end of identification, 713 taxa (485 species, 157 subspecies, 70 varieties and 1 hybrid) belonging to 347 genera and 82 families were determined. The distribution of total taxa according to division, subdivisio and classis is as follows: 14 taxa in Pteridophyta division, 699 taxa in Spermatophyta division, 8 taxa in Pinophytina subdivision, 691 taxa in Magnoliophytina subdivision, 583 taxa in Magnoliopsida and 108 taxa in Liliopsida classis. The distribution of the taxa according to the phytogeographical regions and their rates are as follows: Mediterranean element 149 (20.9%), Euro-Siberian element 89 (12.5%), Irano-Turanian element 50(7 %) and multiregional or unknown originated 425 (59.6 %). The threat categories of 57 endemic taxa are presented. The threat categories of these endemic taxa are presented. The largest families are respectively, Asteraceae (83), Fabaceae (64), Poaceae (50), Lamiaceae (45), Brassicaceae (42) and Caryophyllaceae (41). The genera containing highest number of taxa are *Trifolium* L. (18), *Alyssum* L., *Galium* L., *Verbascum* L. (12), *Vicia* L., *Hypericum* L. (11), *Euphorbia* L. (9).

Research Article

Article History

Received : 04.10.2019

Accepted : 19.12.2019

Keywords

Vascular plants

Flora

Orhaneli

Bursa

Turkey

GİRİŞ

Türkiye, bitkisel çeşitlilik açısından kuzey yarımküredeki önemli alanlardan birisidir. Türkiye Florası 11.707 taksondan oluşmaktadır. Bu taksonlardan 3649'u Türkiye'ye özgü olup endemizm oranı yaklaşık %32'dir (Güner ve ark., 2012). Endemizm oranı diğer Avrupa ülkelerine kıyasla oldukça yüksektir ki bu oran İspanya'da %18.6, Yunanistan'da %14.9 ve Fransa'da %2.9'dur (Avcı, 2005). Endemizm oranının yüksek oluşunun sebepleri arasında, ülkemizin Asya ve Avrupa kıtalarının birleştiği yerde, Akdeniz, Avrupa-Sibirya ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerinin kesiştiği bir bölgede bulunması, topoğrafyasının kısa mesafelerde değişmesi, eşsiz jeolojik yapısı, çeşitli ana kaya ve toprak tiplerini birlikte bulundurması, farklı iklim tiplerinin etkisi altında oluşu ve jeolojik devirlerde geçirdiği iklimsel değişimleri sayabiliriz.

Bugüne kadar çalışma alanının yakın çevresinde ve Bursa ilinde birçok floristik çalışma yapılmıştır (Çırpıcı, 1989; Dirmenci, 2006; Günay Daşkın ve

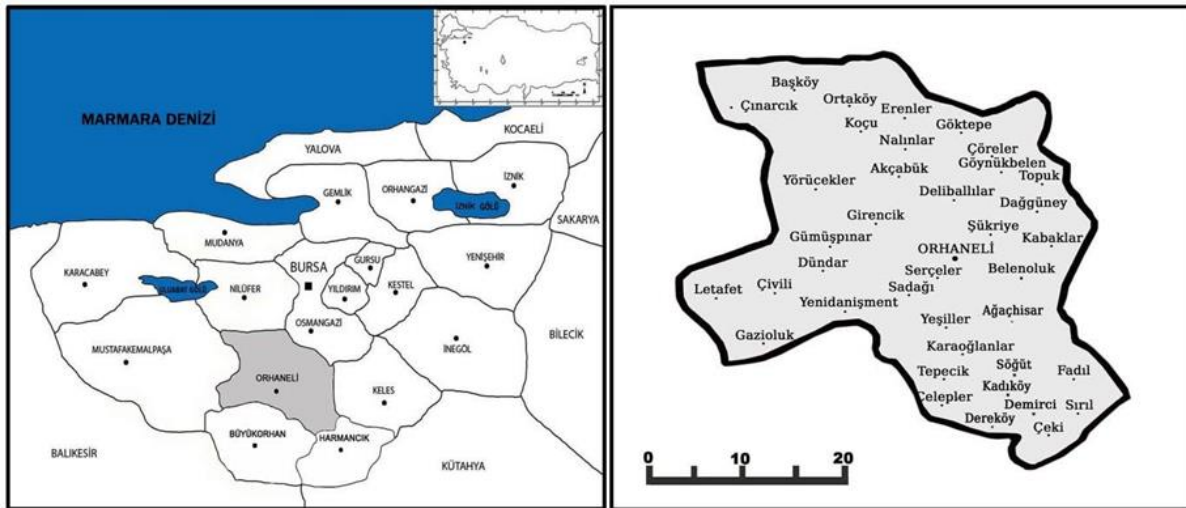
Kaynak, 2006; Daşkın ve Kaynak, 2010a,b; Erdoğan ve ark., 2011; Güner ve Akçiçek, 2013; Bağcıvan ve Daşkın, 2019)

Bu çalışma ile sahip olduğu farklı ana kaya yapısı, zengin yer altı kaynakları ve bitkisel çeşitliliği ile Bursa ilinin dikkat çeken ilçelerinden Orhaneli'de yetişen vasküler bitkilerin belirlenmesi bu sayede Bursa ili ve Türkiye Florasına katkı sağlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma Alanının Özellikleri

Bursa ilinin güneyinde Uludağ'ın eteklerinde yer alan Orhaneli ilçesi yaklaşık 764 km² olup yüksekliği 487 m'dir. Kuzeyinde Nilüfer ve Osmangazi, güneyinde Büyükşehir, Harmanlık, batısında Mustafakemalpaşa, doğusunda Keles ilçeleriyle çevrilidir. Türkiye Florası'nda kullanılan kareleme sistemine göre (Davis, 1965), alanın büyük kısmı B2 karesinde yer almaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Çalışma Alanının Haritası

Figure 1. Map of study area

T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı, Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü ve Bursa Meteoroloji İl Müdürlüğünden alınan meteorolojik verilere göre Bursa'da yıllık ortalama sıcaklık 14.5 °C, yıllık ortalama yağış 56.4 mm (1976-2006, 31 yıl) Orhaneli'de yıllık ortalama sıcaklık 13.6 °C, yıllık ortalama yağış 44.6 mm (2013-2016, 4 yıl) olarak ölçülmüştür (Anonim, 1976-2006; Anonim, 2013-2016). Alanın iklimi Akdeniz olup yarı kurak Akdeniz biyoiklim tipinin kışları soğuk alt tipine girmektedir. İklimsel veriler Emberger metoduna göre hesaplanmıştır (Akman, 1999).

Çalışma alanında *Pinus nigra* J. F. Arnold subsp. *nigra* var. *caramanica* (Loudon) Rehd., *P. brutia* Ten.'nin karışık halde bulunduğu kurak ormanlar hakimdir. Çam ormanlarının yangın, kesim gibi nedenlerle tahrip olduğu yerlerde *Juniperus oxycedrus* L. ssp. *oxycedrus*, *Phyllirea latifolia* L., *Paliurus spinachristii* Mill., *Quercus infectoria* Oliv. ssp. *infectoria*, *Rhus coriaria* L., *Pistacia palaestina* Boiss., *Cistus creticus* L., *C. salviifolius* L., *Arbutus andrachne* L. türlerinden oluşan çalı vejetasyonu görülmektedir. Nemli vadi tabanı ve içlerinde *Fagus orientalis* Lipsky, *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. subsp. *glutinosa*,

Platanus orientalis L., *Populus tremula* L. subsp. *tremula*, *Tilia tomentosa* Moench, *Corylus avellana* L. var. *avellana* yaygın olup akarsu ve su kanalı kenarlarında *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Vitex agnus-castus* L., *Mentha longifolia* L. subsp. *thyphoides* (Briq.) Harley, *M. pulegium* L., *Rumex crispus* L., *Polygonum persicaria* L., *Epilobium hirsutum* L., *Lythrum salicaria* L., *Urtica dioica* L., *Plantago major* L. subsp. *intermedia* (Gilib.) Lange ile *Salix* L., *Cyperus* L. ve *Juncus* L. türleri yetişmektedir. Alanda *Taxus baccata* L. sadece Sadağı Kanyonu içlerinde lokal olarak bulunmaktadır.

Çalışma alanı jeolojik olarak esasen magmatik kayalardan oluşmaktadır. Erenler mevki'nden başlayarak Harmancık ilçesine kadar anakaya olarak devam eden ofiyolit seri yer yer bazı yerlerde aşınma ile serpantin kayalar veya taşlık alanlar şeklinde görülmektedir. Alan linyit, mermer, granit, krom, nikel ve olivin madeni sıcak su, maden suyu gibi yeraltı kaynaklarına da sahiptir. Gümüşpınar ve Dünder çevresinden çıkarılan linyit kömürü, Orhaneli Termik Santralinde enerjiye dönüştürülmekte, krom, nikel ve olivin madeni ise ŞETAT Madencilik tesislerinde işlenmektedir. Ayrıca ilçede çeşitli şirketlere ait mermer ve granit ocakları da faaliyet göstermektedir (Anonim, 2010; 2012). Sadağı Köyü üstlerindeki Sadağı Kanyonundaki Kaya Hamamları ve Ağaçhisar Köyündeki kaplıcalar termal turizm açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Sadağı Kanyonundaki eski hamam kalıntılarının bulunduğu yerdeki kaynaktan çıkan sıcak su borularla vadi boyunca taşınarak Serçeler köyü civarındaki Aslanlı Jeotermal tesislerinde kullanılmaktadır.

Sadağı Kanyonu eşsiz doğal güzellikleri, sahip olduğu jeolojik yapısı, su kaynakları ve bitki çeşitliliği açısından alanın en dikkat çekici yerlerindedir. Bu özelliklerinden dolayı her yıl çok sayıda yerli ve yabancı turist tarafından ziyaret edilmekte olup Orman ve Su İşleri Bakanlığı tarafından 436 ha'lık alanı Tabiat Parkı olarak ilan edilmiştir.

Bitki Örneklerinin Toplanması, Teşhisi ve Listelenmesi

Bu çalışmanın materyalini oluşturan yaklaşık 2100 bitki örneği, 2011-2017 yılları arasında farklı vejetasyon periyotlarında alandaki 47 lokaliteden toplanmıştır. Çalışma sırasında toplanan örnekler herbaryum materyali haline getirilerek Bursa Uludağ Üniversitesi Herbaryumunda (BULU) saklanmaktadır. Bitki örneklerinin teşhisinde başta Türkiye Florası (Davis, 1965-1985; Davis ve ark., 1988; Güner ve ark., 2000) olmak üzere bazı resimli kitaplardan (Seçmen ve Leblebici, 2008; Malyer ve ark., 2016) yararlanılmıştır. Bitkilerin adları ve statü değişiklikleri Türkiye Bitkileri listesi (Damarlı Bitkiler) (Güner ve ark., 2012) isimli kitaptan kontrol edilmiştir. Hayat formları belirlenirken Raunkier (1934)'den yararlanılmıştır. Bitki listesinde sırasıyla eğreltiler, gymnospermler ve angiospermler verilmiştir. Bu bölüm ve alt bölümlerde yer alan aileler, cins ve tür isimleri kendi içlerinde alfabetik olarak listelenmiştir. Bitki listesi verilirken bitkinin latince ismi, yazarı, lokalitesi, toplanma tarihi, fitocoğrafik bölge, hayat formu, endemizm durumu ve tehlike kategorisi verilmiştir.

Simgeler ve Kısaltmalar: Akd.: Akdeniz Elementi, Avr.-Sib.: Avrupa-Sibirya Elementi, D. Akd.: Doğu Akdeniz Elementi, CR: Critically Endangered; EN:

Endangered, END.: ENDEMİK, Epi.: Epifit, Fan.: Fanerofit, GB: Gülşah BAĞÇIVAN, Hem.: Hemikriptofit, İr.-Tur.: İran-Turan Elementi, J.: *Juniperus*, KD: Kürşad DAŞKIN, Kam.: Kamefit, Kozm.: Kozmopolit, Kri.: Kriptofit, LC: Least Concern, NE: Not Evaluated, NT: Near Threatened, P.: *Pinus*, RD: Ruziye DAŞKIN, Q.: *Quercus*, subsp.: Alt tür, Ter.: Terofit, var.: Varyete, VU: Vulnerable, ZB: Ziya BAĞÇIVAN.

Araştırma Alanında Bitki Toplanan Lokaliteler

- 1. A2(A) Bursa:** Orhaneli: Başköy-Çınarcık arası, Çınarcık'a 2 km kala, RD, GB.
- 2. A2(A) Bursa:** Orhaneli: Başköy çıkışı, 35T 657369 D, 4435736 K, 700 m, RD.
- 3. A2(A) Bursa:** Orhaneli: Çınarcık Barajı üstleri ve çevresi, 35T 650977 D, 4432753 K, 446 m, RD, GB.
- 4. A2(A) Bursa:** Orhaneli: Çınarcık Korubaşı köyü arası, 35T 650183 D, 4438441 K, 430 m, RD.
- 5. A2(A) Bursa:** Orhaneli: Orhaneli yolu, Göktepe yol ayrımına 500 m kala, 35T 664493 D, 4437429 K, 626 m, RD, GB.
- 6. A2(A) Bursa:** Orhaneli: Erenler'e 2 km kala, 35T 662970 D, 4435035 K, 631 m, RD, GB.
- 7. B2 Bursa:** Orhaneli: Orhaneli Bursa, Erenler'e 1 kala, 35S 661822 D, 4433746 K, 543-630 m, RD, GB, ZB.
- 8. B2 Bursa:** Orhaneli: Nalınlar yol ayrımından 2 km önce, 495 m, RD, GB.
- 9. B2 Bursa:** Orhaneli: Yörücekler yol ayrımından 2 km sonra, 35S 6633228 D, 4424277 K, 392 m, RD, GB.
- 10. B2 Bursa:** Orhaneli: Akçabük köyü Fatih Sakin mesire alanı, 35S 6645090 D, 4424010 K, 385 m, GB.
- 11. B2 Bursa:** Orhaneli: Çörelere yol ayrımı çevresi, 35S 665742 D, 4423203 K, 355 m, RD, GB.
- 12. B2 Bursa:** Orhaneli: Orhaneli Deliballılar yol ayrımı arası, 35S 670235 D, 4414759 K, 688 m, RD, GB.
- 13. B2 Bursa:** Orhaneli: Topuk yol ayrımı Topuk arası, 4. km'si, 35S 671018 D, 4427911 K, 536 m, RD, GB.
- 14. B2 Bursa:** Orhaneli: Topuk Göynükbelen yolu, Göynükbelen'e 4 km kala, 35S 672598 D, 4426943 K, 705 m, RD, GB, ZB.
- 15. B2 Bursa:** Orhaneli: Şükriye-Belenoluk yolu üzeri, 35S 672735 D, 4418645 K, 672 m, RD, GB.
- 16. B2 Bursa:** Orhaneli: Kabaklar köyü çıkışı, 39° 53'30"K, 29° 05' 13" D, 578 m, RD, GB.
- 17. B2 Bursa:** Orhaneli: Ağaçhisar köyüne 5 km kala, RD, GB.
- 18. B2 Bursa:** Orhaneli: Ağaçhisar Fadıl arası, 3. km, RD, GB.
- 19. B2 Bursa:** Orhaneli: Fadıl Ağaçhisar arası, Ağaçhisar'a 5 km kala, 35S 679420 D, 4411608 K, 727 m, RD, GB, ZB.
- 20. B2 Bursa:** Orhaneli: Harmancık Orhaneli arası, Orhaneli'ye 4 km kala, RD, KD.
- 21. B2 Bursa:** Orhaneli: Orhaneli girişi, Gürgür Çeşmesi çevresi, 35S 669256 D, 4420645 K, 417 m, RD,

GB, ZB.

22. B2 Bursa: Orhaneli; Orhaneli çıkışı Büyükorhan yolu, 5 km, RD, GB, ZB.

23. B2 Bursa: Orhaneli; Serçeler Orhaneli yolu arası, 447 m, RD, GB, ZB.

24. B2 Bursa: Orhaneli; Sadağı köyü çevresi, 35S 663708 D, 4416341 K, 626 m, RD, KD.

25. B2 Bursa: Orhaneli; Serçeler girişi, Aslanlı Jeotermal Tesisleri çevresi, 35S 666137 D, 4417386 K, 441 m, RD, GB, ZB.

26. B2 Bursa: Orhaneli; Sadağı Kanyonu Tabiat Parkı, 35S 663124 D, 4415244 K, 553 m, RD, GB.

27. B2 Bursa: Orhaneli; Yeşiller köyü çıkışı, Sadağı kanyonu üstleri, 35S 662844 D, 4414697 K, 772 m, RD, GB, ZB.

28. B2 Bursa: Orhaneli; Çivili Bal üretim Ormanı çevresi, 35S 651910D, 4416289 K, 641 m, RD, GB.

29. B2 Bursa: Orhaneli; Çivili Letafet arası, 35S 650470 D, 4416179 K, 807 m, RD, GB.

30. B2 Bursa: Orhaneli; Yenidanişment Çivili arası, 1. km, 35S 665284 D, 4416545 K, 534 m, RD, GB.

31. B2 Bursa: Orhaneli; Gümüşpınar Dünder arası, 35S 658347 D, 4417988 K, 617 m, RD, GB.

32. B2 Bursa: Orhaneli; Dünder Gümüşpınar arası, Gümüşpınar yol ayrımı çevresi, 35S 659972 D, 4418592 K, 704 m, RD, GB, ZB.

33. B2 Bursa: Orhaneli; Girencik Gümüşpınar, Gümüşpınar'a 3 km kala, 35S 660442 D, 4422201 K, 493 m, RD, GB.

34. B2 Bursa: Orhaneli; Gazioluk Aktaş arası, 2. km, 35S 652657 D, 4412527 K, 777 m, RD, GB.

35. B2 Bursa: Orhaneli; M. Akalan köyü yol ayrımına 1 km kala, 35S 670300 D, 441644 K, 646 m, RD, GB, ZB.

36. B2 Bursa: Orhaneli; Tepecik Özlüce arası, Özlüce girişi, 35S 665453 D, 4408821 K, 744-877 m, RD, GB.

37. B2 Bursa: Orhaneli; Eskidanişment köyü çıkışı, 39° 49'23"K, 29° 44' 29" D, 962 m, RD, GB.

38. B2 Bursa: Orhaneli; Söğüt köyü üstleri, 35S 674484 D, 4410329 K, 1059 m, RD, GB.

39. B2 Bursa: Orhaneli; Söğüt Dinlenme Tesisleri çevresi, 35S 671582 D, 4408637 K, 856 m, RD, GB.

40. B2 Bursa: Orhaneli; Demirci köyü çevresi, 35S 672117 D, 4407808 K, 887 m, RD, GB, ZB.

41. B2 Bursa: Orhaneli; Kadı köyü girişi, 810 m, RD, KD.

42. B2 Bursa: Orhaneli; Kadıköy Dereköy yol ayrımı arası, 35S 6670519 D, 4407023 K, 811 m, RD, GB, ZB.

43. B2 Bursa: Orhaneli; Celaplar yol ayrımına 2 km kala, RD, GB.

44. B2 Bursa: Orhaneli; Harmancık'a 16 km kala, Çeki Sırlı yol ayrımı çevresi, 35S 675482 D, 4404612 K, 965 m, RD, GB.

45. B2 Bursa: Orhaneli; Harmancık yolu, Harmancık'a 14 km kala, 35S 676896 D, 4401689 K, 972 m, RD, GB.

46. B2 Bursa: Orhaneli; Dağgüney girişi, GB, ZB.

47. B2 Bursa: Orhaneli; Karaoğlanlar köyü içi, 760 m, RD, GB.

BULGULAR

Çalışma Alanının Floristik Listesi

Divisio: Pteridophyta (Eğreltiler)

1.ANTHYRIACEAE

Cystopteris fragilis (L.) Bernh., 26, 12.03.2015, BULU 38221, Kri.

2.ASPLENIACEAE

Asplenium adiantum-nigrum L., 8, 17.04.2015, BULU 35499, Kri.

Asplenium ceterach L., 29, 16.04.2014, BULU 35442, Kri.

Asplenium ruta-muraria L., 26, 12.03.2015, BULU 38082, Kri.

Asplenium onopteris L. 30, 16.04.2014, BULU 35411, Kri.

Asplenium trichomanes L. subsp. *trichomanes*, 35, 23.06.2017, BULU 41599, Kri.

3.DRYOPTERIDACEAE

Dryopteris filix mas (L.) Schott., 27, 12.03.2015, BULU 38260, Kri.

Dryopteris pallida (Bory) Fomin subsp. *pallida*, 26, 22.04.2014, BULU 35668, Kri.

4.EQUISETACEAE

Equisetum arvense L., 21, 30.07.2017, BULU 42040, Kri.

5.POLYPODIACEAE

Polypodium vulgare L. var. *vulgare*, 26, 22.04.2014, BULU 35666, Kri.

Polypodium interjectum Shivas, 26, 12.03.2015, BULU 38081, Kri.

6.PTERIDACEAE

Cheilanthes marantae (L.) R. Br., 6, 11.05.2016, BULU 39585, Kri.

Cheilanthes persica (Bory) Mett. ex Kuhn, 27, 07.04.2016, BULU 39526, Kri.

Pteridium aquilinum (L.) Kuhn, 37, 24.05.2014, BULU 36479, Kri.

Bölüm: Spermatophyta

Alt bölüm: Pinophytina (Açık Tohumlular)

7.CUPRESSACEAE

Juniperus excelsa M. Bieb. subsp. *excelsa*, 19, 30.07.2017, BULU 41968, Fan.

Juniperus foetidissima Willd., 26, 22.04.2014, BULU 35672, Fan.

Juniperus oxycedrus L. subsp. *oxycedrus*, 15, 30.07.2017, BULU 41989, Fan

8.EPHEDRACEAE

Ephedra major Host, 35, 23.06.2017, BULU 41562, Fan.

Ephedra campylopoda C. A. Mey., 26, 22.04.2014, BULU 35673, Fan.

9.PINACEAE

Pinus brutia Ten., 3, 10.06.2014, BULU 37083, Fan.

Pinus nigra J. F. Arnold subsp. *nigra* var. *caramanica* (Loudon) Rehd., 9, 17.04.2014, BULU 35535A, Fan.

10.TAXACEAE

Taxus baccata L., 26, 22.04.2014, BULU 35670, Fan.

Alt bölüm: Magnoliophytina (Tohumlu Bitkiler)

Sınıf: Liliopsida (Monokotiller)

11.ALISMACEAE

Alisma plantago-aquatica L. subsp. *plantago-aquatica*, 26, 13.07.2016, BULU 40230, Avr.-Sib., Hem.

12.AMARYLLIDACEAE

Allium ampeloprasum L., 26, 25.06.2015, BULU 38386, Akd., Kri.

Allium jubatum Macbride, 21, 16.05.2017, BULU 41231, İr.-Tur., Kri.

Allium lycaonicum Siehe ex Hayek, 44, 22.05.2015, BULU 38297, Kri.

Allium paniculatum L. subsp. *paniculatum*, 26, 25.06.2015, BULU 38379, Akd., Kri.

Allium scorodoprassum L. subsp. *rotundum* (L.) Stearn, 31, 11.06.2014, BULU 37110, Kri.

Allium sibthorpiatum Schult. & Schult. f., 11, 25.05.2016, BULU 39725, D. Akd., Kri., **END., LC.**

Galanthus elwesii Hook. f. var. *elwesii*, 26, 01.03.2016, BULU 39502, Kri.

13.ARACEAE

Dracunculus vulgaris Schott, 34, 16.04.2014, BULU 35448, D. Akd., Kri.

14.ASPARAGACEAE

Asparagus acutifolius L., 30, 16.04.2014, BULU 35421, Akd., Fan.

Hyacinthella lineata (Steud. ex Schult. & Schult f.) chouard, 11, 17.04.2015, BULU 38173, Kri., **END., LC.**

Muscari armeniacum Leichtlin ex Baker, 35, 23.06.2017, BULU 41582, Kri.

Muscari comosum (L.) Mill., 34, 30.05.2013, BULU 41341, Akd., Kri.

Muscari neglectum Guss. ex Ten., 9, 30.03.2013, BULU 40366, Kri.

Muscari tenuiflorum Tausch, 37, 24.05.2014, BULU 36448, Kri.

Ornithogalum armeniacum Baker, 12, 16.04.2014, BULU 35485, D. Akd., Kri.

Ornithogalum comosum L., 44, 22.05.2015, BULU 38275, Kri.

Ornithogalum nutans L., 6, 11.05.2016, BULU 39687, D. Akd., Kri.

Ornithogalum orthophyllum Ten., 13, 22.04.2014, BULU 35799, Kri.

Ornithogalum montanum Cirillo (Sin: *O. platyphyllum* Boiss.), 26, 22.04.2014, BULU 35743, D. Akd., Kri.

Ornithogalum sigmoideum Freyn & Sint., 24, 30.03.2013, BULU 40342, Avr.-Sib., Kri.

Ornithogalum wiedemannii Boiss. var. *wiedemannii*, 26, 01.03.2016, BULU 39500, Kri.

Prospero autumnale (L.) Speta (Sin: *Scilla autumnalis* L.), 29, 24.09.2014, BULU 38001, Akd., Kri.

Ruscus aculeatus L., 30, 16.04.2014, BULU 35422, Kri.

15.CYPERACEAE

Carex caryophyllea Latourr. var. *caryophyllea*, 13, 22.04.2014, BULU 35790, Avr.-Sib., Kri.

Carex divisa Huds., 26, 22.04.2014, BULU 35750, Kri.

Carex flacca Schreb. subsp. *erythrostachys* (Hoppe) Holub (Sin: *C. flacca* Schreb. subsp. *serrulata* (Biv.) Greuter), 9, 17.04.2014, BULU 35537, Akd., Kri.

Carex melanostachya M. Bieb. ex Willd., 9, 16.05.2017, BULU 41404, Kri.

Carex pendula Huds., 26, 13.07.2016, BULU 40211, Avr.-Sib., Kri.

Cyperus longus L. subsp. *longus*, 26, 13.07. 2016, BULU 40228, Kri.

16.DIOSCOREACEAE

Dioscorea communis (L.) Caddick & Wilkin (Sin: *Tamus communis* L.), 6, 11.05.2016, BULU 39683, Kri.

17.JUNCACEAE

Juncus conglomeratus L., 10, 14.08.2015, BULU 39082, Avr.-Sib., Hem.

Juncus fontanesii J. Gay ex Laharpe subsp. *fontanesii*, 26, 13.07. 2016, BULU 40237, Kri.

Juncus inflexus L. subsp. *inflexus*, 26, 13.07. 2016, BULU 40239, Hem.

Juncus subulatus Forssk., 35, 30.07.2017, BULU 42039, Akd., Hem.

Luzula forsteri (Sm.) DC. subsp. *caspica* Novikov, 30, 16.04.2014, BULU 35422, Avr.-Sib., Kri.

18.IRIDACEAE

Crocus chrysanthus (Herb.) Herb., 26, 01.03.2016, BULU 39501, Kri.

Crocus flavus Weston subsp. *dissectus* T. Baytop & B. Mathew, 24, 12.03.2015, BULU 38071, Kri., **END., VU.**

Crocus pallasi Goldb. subsp. *pallasi*, 26, 06.11.2015, BULU 39490, Kri.

Crocus pulchellus Herb., 26, 06.11.2015, BULU 39489, Kri.

Iris kerneriana Asch. & Sint. ex Baker, 8, 25.05.2016, BULU 39731, Avr.-Sib., Kri., **END., LC.**

Iris purpureobracteata B. Mathew & T. Baytop, 8, 25.05.2016, BULU 39733, Kri., **END., NT.**

Iris suaveolens Boiss. & Reut., 44, 17.04.2015, BULU 38115, Avr.-Sib., Kri.

Romulea linaresii Parl. subsp. *graeca* Beg., 26, 01.03.2016, BULU 39494, D. Akd., Kri.

19.LILIACEAE

Fritillaria pinardii Boiss., 45, 17.04.2015, BULU 38125, İr.-Tur., Kri.

Gagea chrysantha (Jan) Schult. & Schult. f., 24, 30.03.2013, BULU 40336, Akd., Kri.

Tulipa orphanidea Boiss. ex Heldr., 43, 10.05.2011, BULU 40400, D. Akd., Kri.

20.ORCHIDACEAE

Cephalanthera epipactoides Fisch. & C. A. Mey., 22, 22.05.2015, BULU 38332, D. Akd., Kri.

Dactylorhiza romana (Seb.) Soo subsp. *romana*, 18, 19.04.2016, BULU 39609, Akd., Kri.

Limodorum abortivum (L.) Sw. var. *rubrum* H. Sund. ex Kreutz, 13, 22.04.2014, BULU 35802, Kri.

Ophrys mammosa Desf. subsp. *mammosa*, 12, 22.04.2014, BULU 35786, Akd., Kri.

Ophrys oestrifera M. Bieb. subsp. *oestrifera*, 44, 24.05.2014, BULU 36418A, Kri.

Orchis palustris Jacq. subsp. *palustris*, 33, 16.04.2014, BULU 35382, Kri.

Orchis provincialis Balb. ex Lam. & DC., 29, 16.04.2014, BULU 35444, Akd., Kri.

Orchis purpurea Huds. subsp. *purpurea*, 26, 25.06.2015, BULU 38379, Avr.-Sib., Kri.

Orchis simia Lam., 5, 09.05.2017, BULU 41211, Akd., Kri.

21.POACEAE

Aegilops geniculata Roth, 15, 11.06.2014, BULU 37230, Akd., Ter.

Aegilops triuncialis L. subsp. *triuncialis*, 24, 25.05.2014, BULU 36658, Ter.

Aira caryophyllea L., 5, 17.04.2014, BULU 35503, Avr.-Sib., Ter.

Aira elegantissima Schur subsp. *elegantissima*, 43,

- 11.05.2016, BULU 39660, Akd., Hem.
Agrostis canina L., 36, 10.07.2014, BULU 37629, Avr.-Sib., Kri.
Agrostis capillaris L. var. **capillaris**, 30, 11.06.2014, BULU 37145, Hem.
Alopecurus myosuroides Huds. var. **myosuroides**, 9, 17.04.2014, BULU 35535B, Avr.-Sib., Hem.
Avena sativa L., 39, 10.07.2014, BULU 37622, Ter.
Brachypodium distachyon (L.) P. Beauv. (Sin: **Trachynia distachya** (L.) Link), 11, 25.05.2016, BULU 39702, Akd., Hem.
Brachypodium sylvaticum (Huds.) P. Beauv., 26, 25.06.2015, BULU 38437B, Avr.-Sib., Hem.
Briza maxima L., 27, 25.05.2014, BULU 36676, Ter.
Bromus hordeaceus L. subsp. **hordeaceus**, 37, 24.05.2014, BULU 36466, Ter.
Bromus japonicus Thunb. subsp. **japonicus**, 15, 11.06.2014, BULU 37229, Ter.
Bromus lanceolatus Roth, 24, 25.05.2014, BULU 36670B, Ter.
Bromus scoparius L., 26, 14.05.2015, BULU 38269, Ter.
Bromus sterilis L., 9, 25.05.2014, BULU 36517, BULU 37408, Ter.
Bromus tectorum L., 26, 22.04.2014, BULU 35746, Ter.
Calamagrostis pseudophragmites (Haller fil.) Koeler, 26, 25.06.2015, BULU 38437A, Avr.-Sib., Kri.
Catapodium rigidum (L.) C. E. Hubb. subsp. **rigidum** var. **rigidum**, 15, 11.06.2014, BULU 37232, Hem.
Cynosurus echinatus L., 29, 11.06.2014, BULU 37150, Akd., Ter.
Dactylis glomerata L. subsp. **glomerata**, 31, 11.06.2014, BULU 37124, Avr.-Sib., Hem.
Echinochloa colona (L.) Link, 21, 30.07.2017, 42066B, Hem.
Echinochloa crus-galli (L.) P. Beauv., 21, 30.07.2017, 42066A, Hem.
Eragrostis minor Host, 37, 24.05.2014, BULU 36465, Ter.
Festuca callieri (Hack.) Markgr. subsp. **callieri**, 11, 17.04.2015, BULU 38170, Hem.
Festuca valesiaca Schleich. ex Gaudin, 29, 11.06.2014, BULU 37158, Hem.
Helictotrichon pubescens (Huds.) Schult. & Schult. f. subsp. **pubescens**, 44, 14.05.2014, BULU 36053, Avr.-Sib., Hem.
Holcus lanatus L., 26, 23.06.2016, BULU 40201, Avr.-Sib., Hem.
Hordeum geniculatum All., 31, 11.06.2014, BULU 37123, Avr.-Sib., Hem.
Lolium perenne L., 21, 30.07.2017, BULU 42065, Avr.-Sib., Hem.
Lolium rigidum Gaudich var. **rigidum**, 8, 25.05.2016, BULU 39745, Ter.
Melica ciliata L. subsp. **ciliata**, 31, 11.06.2014, BULU 37107, Hem.
Melica uniflora Retz., 26, 25.06.2015, BULU 38404, Avr.-Sib., Ter.
Phleum exaratum Griseb. subsp. **exaratum**, 27, 23.06.2017, BULU 41648, Ter.
Phleum pratense L., 46, 25.05.2014, BULU 36636A, Avr.-Sib., Ter.
Phleum subulatum (Savi) Asch. & Graebn. subsp. **ciliatum** (Boiss.) Humphries, 35, 23.06.2017, BULU 41573B, D. Akd., Ter.
Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steud., 21, 30.07.2017, BULU 42063, Avr.-Sib., Kri.
Poa alpina L. subsp. **fallax** F. Herm., 34, 16.04.2014, BULU 35465, Hem.
Poa bulbosa L., 30, 16.04.2014, BULU 35420, Kri.
Poa nemoralis L., 26, 22.04.2014, BULU 35747, Hem.
Poa supina Schrad., 38, 17.04.2014, BULU 35640, Avr.-Sib., Kri.
Polygogon monspeliensis (L.) Desf., 21, 30.07.2017, BULU 42064, Hem.
Puccinellia festuciformis (Host) Parl., 26, 30.11.2012, BULU 40323, Ter.
Rostraria cristata (L.) Tzvelev var. **cristata** (Sin: **Koeleria cristata** (L.) Pers.), 8, 25.05.2016, BULU 39741, Hem.
Sorghum halepense (L.) Pers. var. **halepense**, 44, 09.07.2014, BULU 37551, Hem.
Taeniatherum caput-medusae (L.) Nevski subsp. **crinitum** (Schreb.) Melderis, 11, 25.05.2016, BULU 39701, İr.-Tur., Ter.
Tragus ramosus (L.) All., 40, 21.07.2017, BULU 41676, Ter.
Vulpia ciliata Dumort subsp. **ciliata**, 37, 24.05.2014, BULU 36467, Ter.
Vulpia persica (Boiss. & Buhse) Krecz & Bobrov, 11, 25.05.2014, BULU 36548, İr.-Tur., Ter.
Vulpia unilateralis (L.) Stace, 44, 14.05.2014, BULU 36074, Ter.
- 22.XANTHORRHOACEAE**
Asphodeline taurica (Pall.) Endl., 26, 22.04.2014, BULU 35742, D. Akd., Kri.
Asphodeline lutea (L.) Rchb., 6, 19.04.2016, BULU 39627, Akd., Kri.
- Sınıf: Magnoliopsida (Dikotiller)**
- 23.ANACARDIACEAE**
Pistacia palaestina Boiss. (Sin: **P. terebinthus** L. subsp. **palaestina** (Boiss.) Engler), 35, 23.06.2017, BULU 41615, D. Akd., Fan.
Rhus coriaria L., 8, 19.04.2016, BULU 39621, Fan.
- 24.APIACEAE**
Anthriscus nemorosa (M. Bieb.) Spreng., 30, 11.06.2014, BULU 37133, Hem.
Artemisia squamata L., 44, 24.05.2014, BULU 36442, Hem.
Bifora testiculata (L.) Spreng., 44, 22.05.2015, BULU 38276, Ter.
Buplerum sulphureum Boiss. & Balansa, 44, 09.07.2014, BULU 37544, İr.-Tur., Ter., **END., LC.**
Chaerophyllum byzantinum Boiss., 26, 25.06.2015, BULU 38414, İr.-Tur., Hem.
Conium maculatum L., 11, 25.05.2014, BULU 36541, Hem.
Coriandrum sativum L., 44, 14.05.2014, BULU 36072, Ter.
Daucus carota L., 10, 27.06.2014, BULU 37380, Hem.
Daucus guttatus Sibter. & Sm., 35, 23.06.2017, BULU 41536, Ter.
Elaeosticta aurea (Boiss.)Menemen (Sin: **Muretia aurea** Boiss.), 27, 23.06.2017, BULU 41657, Kri., **END., VU.**
Eryngium campestre L. var. **virens** Link, 20, 16.09.2012, BULU 40404, Hem.

- Ferulago macrosciadia** Boiss. & Balansa, 6, 11.05.2016, BULU 39674, D. Akd., Hem., **END., LC.**
- Ferulago silaifolia** (Boiss.) Boiss., 35, 30.07.2017, BULU 41999, İr.-Tur., Hem., **END., EN.**
- Foeniculum vulgare** Mill., 13, 24.05.2014, BULU 39699, Hem.
- Heracleum platytaenium** Boiss., 5, 11.05.2016, BULU 41244, İr.-Tur., Hem.
- Johrenia dichotoma** DC. (Sin: **J. tortuosa** (Fisch. & C.A. Mey.) D. F. chamb.), 5, 23.06.2017, BULU 41663, İr.-Tur., Hem.
- Laser trilobum** (L.) Borkh., 26, 14.05.2015, BULU 38205, Hem.
- Oenanthe silaifolia** M. Bieb., 32, 11.06.2014, BULU 37104, Hem.
- Orlaya daucoides** (L.), 37, 24.05.2014, BULU 36464, Akd., Ter.
- Scandix pecten-veneris** L., 30, 16.04.2014, BULU 35403, Ter.
- Scandix stellata** Banks. & Sol., 5, 16.05.2017, BULU 41230 A, Ter.
- Smyrniium connatum** Boiss. & Kotschy, 27, 23.06.2017, BULU 41609, Akd., Hem.
- Torilis arvensis** (Huds.) Link subsp. **elongata** (Hoffmans & Link) Cannon, 46, 09.07.2014, BULU 37433, D. Akd., Ter.
- Torilis arvensis** (Huds.) Link subsp. **neglecta** (Spreng.) Thell., 35, 23.06.2017, BULU 41583A, Ter.
- Torilis leptophylla** (L.) Rchb. f., 31, 11.06.2014, BULU 39099 B, Ter.
- Torilis ucranica** Spreng., 36, 10.07.2014, BULU 37633, Ter.
- Turgeniopsis foeniculacea** (Fenzl) Boiss., 36, 23.06.2017, BULU 41500, Ter.
- 25.APOCYNACEAE**
- Cionura erecta** (L.) Griseb., 26, 25.06.2015, BULU 38383, D. Akd., Hem.
- Cynanchum acutum** L. subsp. **acutum**, 20, 16.09.2012, BULU 40402, Hem.
- Periploca graeca** L. var. **graeca**, 26, 25.06.2015, BULU 38382, D. Akd., Fan.
- Vinca major** L. subsp. **major**, 45, 22.05.2015, BULU 38305, Akd., Hem.
- Vincetoxicum fuscatum** Rchb. f. subsp. **fuscatum**, 26, 25.06.2015, BULU 38418, Hem.
- Vincetoxicum tmoleum** Boiss., 26, 25.06.2015, BULU 38431, İr.-Tur., Hem.
- 26.ARALIACEAE**
- Hedera helix** L., 26, 14.05.2015, BULU 38207, Fan.
- 27.ARISTOLOCHIACEAE**
- Aristolochia bodamae** Dingler, 28, 11.06.2014, BULU 37149, Hem.
- Aristolochia pallida** Willd., 30, 16.04.2014, BULU 35413, Hem.
- 28.ASTERACEAE**
- Achillea coarctata** Poir., 3, 10.07.2014, BULU 37627, Hem.
- Achillea nobilis** L. subsp. **neilreichii** (A. Kern.) Velen., 27, 23.06.2017, BULU 41618A, Avr.-Sib., Hem.
- Achillea pannonica** Scheele (Sin: **A. millefolium** L. subsp. **pannonica** (Scheele) Oborny), 26, 16.06.2014, BULU 3624, Avr.-Sib., Hem.
- Anthemis aciphylla** Boiss. var. **discoidea** Boiss., 36, 10.07.2014, BULU 37628, D. Akd., Hem., **END., LC.**
- Anthemis cotula** L., 20, 23.06.2017, BULU 41546, Hem.
- Anthemis cretica** L. subsp. **anatolica** (Boiss.) Grierson, 45, 22.05.2015, BULU 38296, Hem.
- Anthemis macrotis** (Rech. f.) Oberpr. & Vogt (Sin: **Matricaria macrotis** Rech.), 1, 22.05.2015, BULU 38350, D. Akd., Ter.
- Anthemis pseudocotula** Boiss., 15, 11.06.2014, BULU 37219, Hem.
- Anthemis xylopoda** O. Schwarz, 27, 23.06.2017, BULU 41221A, D. Akd., Hem., **END., CR.**
- Arctium minus** (Hill) Bernh., 5, 21.07.2017, BULU 41854, Avr.-Sib., Hem.
- Asteriscus spinosus** (L.) Sch. Bip., 11, 30.07.2017, BULU 41071, Akd., Ter.
- Bellis perennis** L., 24, 30.03.2013, BULU 40333, Avr.-Sib., Hem.
- Carduus acicularis** Bertol., 31, 11.06.2014, BULU 37120, Akd., Ter.
- Carduus nutans** L. subsp. **nutans**, 11, 25.05.2016, BULU 39717, Hem.
- Carlina lanata** L., 11, 30.07.2017, BULU 42073, Akd., Hem.
- Carthamus dentatus** (Forssk.)Vahl, 19, 30.07.2017, BULU 41964, Ter.
- Centaurea diffusa** Lam., 40, 21.07.2017, BULU 41693, Akd., Hem., **END., NE.**
- Centaurea ertugruliana** Uysal, 5, 11.05.2016, BULU 39695, Hem., **END., CR.**
- Centaurea iberica** Trev. ex Spreng., 11, 30.07.2017, BULU 42072, Hem.
- Centaurea olympica** (DC.) K.Koch, 35, 23.06.2017, BULU 41550, Hem., **END., LC.**
- Centaurea solstitialis** L. subsp. **solstitialis**, 40, 21.07.2017, BULU 41692, Hem.
- Centaurea thracica** (Janka) Hayek, 9, 25.05.2016, BULU 39754, Hem.
- Centaurea urvillei** DC. subsp. **urvillei**, 44, 14.05.2014, BULU 36046, D. Akd., Hem.
- Centaurea wiedemanniana** Fisch. & C.A.Mey., 44, 09.07.2014, BULU 37552, Hem., **END., VU.**
- Cichorium intybus** L., 8, 25.05.2016, BULU 39768, Hem.
- Cirsium hypoleucum** DC., 5, 21.07.2017, BULU 41855, Avr.-Sib., Hem.
- Cnicus benedictus** L., 12, 22.04.2014, BULU 35785, Hem.
- Conyza canadensis** (L.) Cronquist, 26, 30.11.2012, BULU 40321, Hem.
- Cota altissima** (L.) J. Gay (Sin: **Anthemis altissima** L.), 46, 25.05.2014, BULU 36620 B, Ter.
- Cota tinctoria** (L.) J. Gay ex Guss. var. **pallida** (DC.) Özbek & Vural (Sin: **Anthemis tinctoria** L. var. **pallida** DC.), 13, 27.06.2014, BULU 37340, Hem.
- Cota tinctoria** (L.) J.Gay ex Guss. var. **tinctoria** (Sin: **Anthemis tinctoria** L. var. **tinctoria**), 28, 16.04.2014, BULU 35431, Hem.
- Cota triumfetti** (L.) J. Gay ex Guss. (Sin: **Anthemis triumfettii** (L.) All.), 37, 24.05.2014, BULU 36474, Hem.
- Crepis commutata** (Spreng.) Greuter (Sin: **C. foetida** L. subsp. **commuta** (Spreng.) Babç.), 37, 24.05.2014, BULU

- 36462, Hem.
Crepis macropus Boiss. & Heldr., 24, 25.05.2014, BULU 36669B, İr.-Tur., Hem., **END., LC.**
Crepis sancta (L.) Bornm., 35, 23.06.2017, BULU 41525, Ter.
Crepis setosa Haller f., 11, 25.05.2016, BULU 39700, Avr.-Sib., Ter.
Crepis zacintha (L.) Babc., 9, 17.04.2014, BULU 35520, Akd., Ter.
Crupina crupinastrum (Moris) Vis., 44, 14.05.2014, BULU 36075, Ter.
Cyanus depressus (M.Bieb.) Sojak (Sin: **Centaurea depressa** M. Bieb. var. **amasiana** Bormn.), 38, 17.04.2014, BULU 35646, Ter.
Cyanus segetum Hill (Sin: **Centaurea cyanus**), 36, 23.06.2017, BULU 41508, Ter.
Cyanus thirkei (Sch. Bip.) Holub (Sin: **Centaurea thirkei** Sch. Bip.), 9, 17.04.2014, BULU 35534, D. Akd., Hem.
Cyanus triumfettii Dostal ex A. Löve & D. Löve subsp. **triumfettii** (Sin: **Centaurea triumfettii** All.) , 45, 22.05.2015, BULU 38303, Hem.
Doronicum orientale Hoffm., 30, 16.04.2014, BULU 35397, Hem.
Echinops spinosissimus Turra subsp. **spinosissimus** (Sin: **E. viscosus** DC. subsp. **viscosus**), 35, 23.06.2017, BULU 41575, D. Akd., Hem.
Filago germanica (L.) L. (Sin: **F. vulgaris** Lam.), 44, 24.05.2014, BULU 36417, Hem.
Helichrysum luteo-album (L.) Rchb. (Sin: **Gnaphalium luteo-album** L.), 36, 23.06.2017, BULU 41490, Hem.
Hieracium pannosum Boiss., 19, 30.07.2017, BULU 41972, D. Akd., Hem.
Inula graveolens (L.) Desf., 35, 25.09.2017, BULU 42080, D.Akd., Ter.
Inula heterolepis Boiss., 27, 12.03.2015, BULU 38088, D. Akd., Hem.
Jurinea consanguinea DC., 1, 22.05.2015, BULU 38357, Hem.
Leontodon asperimus (Willd.) Endl., 27, 10.07.2014, BULU 37619, İr.-Tur., Hem.
Leontodon crispus Vill. subsp. **asper** (Waldst. & Kit.) Röhl. var. **asper**, 45, 22.05.2015, BULU 38310, Hem.
Leontodon hispidus L. var. **hispidus**, 29, 16.04.2014, BULU 35439, Hem.
Matricaria chamomilla L. var. **chamomilla**, 27, 23.06.2017, BULU 41621 B, Ter.
Matricaria chamomilla L. var. **recutita** (L.) Fiori, 37, 24.05.2014, BULU 36474, Ter.
Onopordum illyricum L., 40, 21.07.2017, BULU 41673, D. Akd., Hem.
Onopordum tauricum Willd., 27, 23.06.2017, BULU 41654, Avr.-Sib., Hem.
Picris pauciflora Willd., 31, 11.06.2014, BULU 37117B, Akd., Ter.
Pilosella hoppeana (Schult.) F.W. Schultz & Sch. Bip subsp. **testimonialis** (Naegli ex Peter) P. D. Sell & C. West (Sin: **P. hoppeana** subsp. **lydia** (Bornm. & Zahn) P. D. Sell & C. West), 36, 10.07.2014, BULU 37634, Hem.
Pilosella piloselloides (Vill.) Sojak subsp. **magyarica** (Peter) S. Braut. & Greuter (Sin: **P. piloselloides** subsp. **megalomastix** (Nageli & Peter) P. D. Sell & C. West), 45, 22.05.2015, BULU 38311, Hem.
Pilosella piloselloides (Vill.) Sojak subsp. **piloselloides**, 26, 16.06.2014, BULU 36249, Hem.
Pulicaria dysenterica (L.) Bernh. subsp. **dysenterica**, 35, 30.07.2017, BULU 42019, Hem.
Rhagadiolus stellatus (L.) Gaertn. (Sin: **R. stellatus** var. **edulis** (Gaertn.) DC.), 1, 22.05.2015, BULU 38367, Akd., Ter.
Scorzonera cana (C. A. Mey.) Griseb. var. **jacquiniana** (W. Koch) D. F. Chamb., 45, 22.05.2015, BULU 38319, Hem.
Scorzonera eriophora DC., 17, 19.04.2016, BULU 39591, Hem., **END., LC.**
Scorzonera mollis M.Bieb. subsp. **mollis**, 45, 22.05.2015, BULU 38319, Hem.
Senecio jacobaea L., 27, 12.03.2015, BULU 38086, Ter.
Senecio vernalis Waldst. & Kit., 12, 16.04.2014, BULU 35491, Ter.
Senecio vulgaris L., 36, 28.03.2017, BULU 41099, Ter.
Sonchus asper (L.) Hill. subsp. **glaucescens** (Jord.) Ball, 26, 25.06.2015, BULU 38427, Hem.
Tanacetum parthenium (L.) Sch. Bip., 26, 23.06.2016, BULU 40212, Hem.
Taraxacum hellenicum Dahlst., 18, 19.04.2016, BULU 39613, Hem.
Taraxacum pseudobrachyglossum Soest, 33, 16.04.2014, BULU 35387, Avr.-Sib., Hem., **END., NT.**
Taraxacum scaturiginosum G. E. Haglund, 44, 17.04.2015, BULU 38109B, Hem.
Taraxacum serotinum (Waldst. & Kit.) Poir., 26, 22.04.2014, BULU 35716, Hem.
Tragopogon bupthalmoides (DC.) Boiss. var. **bupthalmoides**, 44, 14.05.2014, BULU 36068, İr.-Tur., Hem.
Tragopogon dubius Scop., 24, 25.05.2014, BULU 36617 B, Hem.
Tripleurospermum tenuifolium (Kit.) Freyn, 26, 22.04.2014, BULU 35717, Avr.-Sib., Hem.
Tussilago farfara L., 26, 01.03.2016, BULU 39496, Hem.
Urospermum picroides (L.) Scop. ex F. W. Schmidt, 31, 11.06.2014, BULU 37117A, Akd., Ter.
Xanthium orientale L. subsp. **italicum** (Moretti) Greuter (Sin: **X. strumarium** L. subsp. **cavanillesii** (Schouw) D.Löve & P. Dansereau, 21, 30.07.2017, BULU 42047, Ter.
Xanthium spinosum L., 21, 30.07.2017, BULU 42049, Ter.
Xeranthemum annuum L., 39, 10.07.2014, BULU 37618, Ter.
29.BETULACEAE
Alnus glutinosa (L.) Gaertn. subsp. **glutinosa**, 26, 07.04.2016, BULU 39551, Avr.-Sib., Fan.
Carpinus betulus L., 4, 26.03.2014, BULU 35249, Fan.
30.BORAGINACEAE
Aegonychon purpurocaeruleum (L.) Holub (Sin: **Lithospermum purpurocaeruleum** L., 17, 19.04.2016, BULU 39595, Avr.-Sib., Hem.
Alkanna orientalis (L.) Boiss. var. **leucantha** (Born.) Hub-Mor., 12, 16.04.2014, BULU 35487, İr.-Tur., Hem., **END., NT.**
Anchusa hybrida Ten. (Sin: **A. undulata** subsp. **hybrida** (Ten.) Beg.), 14, 19.04.2017, BULU 41200, Akd., Hem.

- Anchusa leptophylla* Roem. & Schult. subsp. **leptophylla**, 39, 08.06.2017, BULU 41415, Hem.
- Anchusa officinalis* L., 26, 25.06.2015, BULU 38407, Avr.-Sib., Hem.
- Buglossoides arvensis* (L.) I. M. Johnst. subsp. **sibthorpiana** (Griseb.) R. Fern., 28, 16.04.2014, BULU 35430, Ter.
- Buglossoides incrassata* (Guss.) I. M. Johst. subsp. **incrassata**, 44, 24.05.2014, BULU 36420, Akd., Ter.
- Cerintho minor* L. subsp. **auriculata** (Ten.) Domac, 1, 22.05.2015, BULU 38372, Hem.
- Cynoglottis barrelieri* (All.) Vural & Kit Tan (Sin: *Anchusa barrelieri* (All.) Vitman var. **orientalis** Guşuleac), 15, 19.04.2016, BULU 39570, D. Akd., Hem.
- Echium italicum* L., 24, 25.05.2014, BULU 36657, Akd., Hem.
- Heliotropium hirsutissimum* Grauer, 10, 14.08.2015, BULU 39081, D. Akd., Ter.
- Heliotropium suaveolens* M. Bieb., 35, 23.06.2017, BULU 41614, D. Akd., Ter.
- Myosotis arvensis* (L.) Hill, 37, 24.05.2014, BULU 36454, Avr.-Sib., Hem.
- Myosotis incrassata* Guss., 44, 17.04.2015, BULU 381010, D. Akd., Ter.
- Myosotis ramosissima* Rochel., 25, 22.04.2014, BULU 35765, Ter.
- Neotostema apulum* (L.) I. M. Johnst., 11, 30.07.2017, BULU 42077, Akd., Ter.
- Onosma taurica* Willd. var. **taurica**, 8, 19.04.2016, BULU 39622, Hem.
- Onosma thracica* Velen., 44, 22.05.2015, BULU 38287, Avr.-Sib., Hem.
- Paracaryum calycinum* Boiss. & Balansa, 45, 22.05.2015, BULU 38301, İr.-Tur., Hem., **END., LC.**
- Symphytum orientale* L., 26, 14.05.2015, BULU 38231, Avr.-Sib., Hem.
- Trachystemon orientalis* (L.) G. Don, 26, 14.05.2015, BULU 38204, İr.-Tur., Kri.
- 31. BRASSICACEAE**
- Aethionema arabicum* (L.) Adrz. ex DC., 8, 19.04.2016, BULU 39619, Ter.
- Aethionema cordatum* (Desf.) Boiss., 45, 22.05.2015, BULU 38315, Hem.
- Alliaria petiolata* (M. Bieb.) Cavara & Grande, 26, 22.04.2014, BULU 35649, Ter.
- Alyssum alyssoides* (L.) L., 38, 17.04.2014, BULU 35632, Ter.
- Alyssum cassium* Boiss., 46, 25.05.2014, BULU 36601, D. Akd., Hem.
- Alyssum corsicum* Duby, 11, 25.05.2016, BULU 39698, Hem.
- Alyssum dudleyi* Adıgüzel & R. D. Reeves, 45, 22.05.2015, BULU 38320, Hem., **END., VU.**
- Alyssum hirsutum* M. Bieb. subsp. **hirsutum**, 33, 16.04.2014, BULU 35385, Ter.
- Alyssum minutum* Schlecht. ex DC., 30, 16.04.2014, BULU 35407, Ter.
- Alyssum murale* Waldst. & Kit. subsp. **murale** var. **murale**, 31, 11.06.2014, BULU 37108, Hem.
- Alyssum sibiricum* Willd., 26, 14.05.2015, BULU 38200, Hem.
- Alyssum simplex* Rudolph (Sin: **A. minus** Rothm.), 9, 17.04.2014, BULU 35538, Ter.
- Alyssum strigosum* Banks & Sol. subsp. **strigosum**, 12, 16.04.2014, BULU 35490, Ter.
- Alyssum strictum* Willd., 25, 25.05.2014, BULU 36666, İr.-Tur., Ter.
- Alyssum umbellatum* Desv., 29, 16.04.2014, BULU 35441, D. Akd., Hem.
- Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., 37, 24.05.2014, BULU 36451, Ter.
- Arabis alpina* L. subsp. **alpina** (Sin: **A. caucasica** Willd. subsp. **caucasica**), 26, 07.04.2016, BULU 39531, Hem.
- Aubrieta olympica* Boiss., 27, 12.03.2015, BULU 38093, Hem., **END., VU.**
- Aurinia saxatilis* (L.) Desv. subsp. **orientalis** (Ard.) T. R. Dudley, 26, 22.04.2014, BULU 35677, Hem.
- Brassica nigra* (L.) W. D. J. Koch, 36, 23.06.2017, BULU 41499, Ter.
- Calepina irregularis* (Asso) Thell., 23, 30.03.2013, BULU 40351, Ter.
- Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., 23, 30.03.2013, BULU 40357, Kozm., Ter.
- Cardamine graeca* L., 26, 22.04.2014, BULU 35661, Ter.
- Cardamine hirsuta* L., 30, 16.04.2014, BULU 35418, Ter.
- Clypeola jonthlaspi* L., 33, 16.04.2014, BULU 35384, Ter.
- Descurania sophia* (L.) Webb ex Prantl subsp. **sophia**, 11, 25.05.2016, BULU 39718, Ter.
- Draba muralis* L., 12, 16.04.2014, BULU 35489, Ter.
- Draba verna* L. (Sin: **Erophila verna** L.), 41, 28.04.2013, BULU 35398, Ter.
- Erysimum crassipes* Fisch. & C. A. Mey., 44, 22.05.2015, BULU 38293, Hem.
- Erysimum graecum* Boiss. & Heldr., 37, 24.05.2014, BULU 36476, Hem.
- Hesperis bicuspidata* (Willd.) Poir., 6, 19.04.2016, BULU 39629, İr.-Tur., Hem., **END., NE.**
- Isatis tinctoria* L. subsp. **tinctoria**, 26, 25.06.2015, BULU 38428, Hem.
- Isatis tinctoria* subsp. **tomentella** (Boiss.) P. H. Davis, 1, 22.05.2015, BULU 38342, Hem.
- Lepidium draba* L. (Sin: **Cardaria draba** (L.) Desv.), 39, 08.06.2017, BULU 41414, Hem.
- Microthlaspi perfoliatum* (L.) F. K. Mey. (Sin: **Thlaspi perfoliatum** L.), 29, 16.04.2014, BULU 35435, Ter.
- Raphanus raphanistrum* L. subsp. **raphanistrum**, 36, 23.06.2017, BULU 41498, Ter.
- Rapistrum rugosum* (L.) All., 11, 25.05.2016, BULU 39722, Ter.
- Sisymbrium altissimum* L., 39, 08.06.2017, BULU 41412, Ter.
- Sisymbrium officinale* (L.) Scop., 37, 24.05.2014, BULU 36171, Ter.
- Rorippa sylvestris* (L.) Besser subsp. **sylvestris**, 26, 13.07.2016, BULU 40240, Hem.
- Teesdalia coronopifolia* (Berg.) Thellung, 28, 16.04.2014, BULU 35429, D. Akd., Ter.
- Thlaspi arvense* L., 33, 16.04.2014, BULU 35380, Ter.
- 32. CAMPANULACEAE**
- Asyneuma linifolium* (Boiss. & Heldr.) Bornm. subsp. **linifolium**, 13, 27.06.2014, BULU 37343, D. Akd., Hem., **END., LC.**

Asyneuma virgatum (Labill.) Bornm. subsp. **cichoriiforme** (Boiss.) Damboldt, 31, 11.06.2014, BULU 37099A, D. Akd., Hem.

Campanula betonicifolia Sm. & Sm. subsp. **betonicifolia**, 6, 11.05.2016, BULU 39677, Hem., **END., NT.**

Campanula cymbalaria Sibter. & Sm., 26, 14.05.2015, BULU 38230, Hem.

Campanula lyrata Lam. subsp. **lyrata**, 8, 25.05.2016, BULU 39760, Hem.

Campanula persicifolia L. subsp. **persicifolia**, 35, 23.06.2017, BULU 41528, Hem.

Legousia pentagonia (L.) Thell., 25, 25.05.2014, BULU 36644, D. Akd., Ter.

Legousia speculum-veneris (L.) Durande ex Vill., 5, 16.05.2017, BULU 41227, Ter.

33.CANNABACEAE

Celtis australis L. subsp. **australis**, 19, 30.07.2017, BULU 41981, Akd., Fan.

34.CAPRIFOLIACEAE

Cephalaria transsylvanica (L.) Schrad., 7, 21.07.2017, BULU 41827, Hem.

Dipsacus laciniatus L., 19, 30.07.2017, BULU 41982, Hem.

Knautia degenii Borbas ex Formanek, 9, 25.05.2014, BULU 36501, Akd., Hem.

Knautia integrifolia (L.) Bert. var. **bidens** (Sm.) Borbas, 1, 22.05.2015, BULU 38373, D. Akd., Ter.

Knautia orientalis L., 10, 27.06.2014, BULU 37372, D. Akd., Ter.

Scabiosa argentea L., 36, 02.09.2014, BULU 37985B, Hem.

Scabiosa atropurpurea L. (Sin: **S. atropurpurea** L. subsp. **maritima** (L.) Are.), 21, 30.07.2017, BULU 42048, Hem.

Scabiosa columbaria L. subsp. **columbaria** var. **columbaria**, 9, 25.05.2014, BULU 36508, Hem.

Scabiosa reuteriana Boiss., 15, 11.06.2014, BULU 37240, D. Akd., Ter., **END., LC.**

Scabiosa triniifolia Friv., 5, 25.07.2016, BULU 40039B, Hem.

Pteroccephalus plumosus (L.) Coulter, 31, 11.06.2014, BULU 37106, Ter.

Valeriana dioscoridis Sm., 17, 19.04.2016, BULU 39593, D. Akd., Kri.

Valerianella carinata Loisel., 27, 07.04.2016, BULU 39532, Ter.

Valerianella glomerata Boiss. & Balansa, 35, 23.06.2017, BULU 41542, İr.-Tur., Ter., **END., LC.**

Valerianella lasiocarpa Steven ex Betcke, 30, 16.04.2014, BULU 35412, İr.-Tur., Ter.

Valerianella pumila (L.) DC., 11, 17.04.2015, BULU 39603, Ter.

Lonicera etrusca Santi var. **etrusca**, 46, 25.04.2014, BULU 36622, Akd., Fan.

35.CARYOPHYLLACEAE

Agrostemma githago L., 36, 23.06.2017, BULU 41504, Ter.

Arenaria filicaulis Fenzl subsp. **filicaulis**, 26, 25.06.2015, BULU 38395, Hem.

Arenaria serpyllifolia L. subsp. **leptoclados** (Rchb.) Nyman (Sin: **A. leptoclados** (Reichb.) Guss., 37, 24.05.2014, BULU 36453, Ter.

Cerastium banaticum (Rochel) Steud. subsp. **banaticum**, 30, 16.04.2014, BULU 35417, Kam.

Cerastium brachypetalum Pers. subsp. **roeseri** (Boiss. & Heldr.) Nyman, 17, 19.04.2016, BULU 39602, Ter.

Cerastium comatum Desv. (Sin: **C. illyricum** Ard. subsp. **comatum** (Desv.) P. D. Sell & Whitehead, 34, 16.04.2014, BULU 35452, Akd., Ter.

Cerastium glomeratum Thuill., 23, 30.03.2013, BULU 40352, Ter.

Cerastium gracile Dufour, 45, 17.04.2015, BULU 38118, Ter.

Dianthus anatolicus Boiss., 17, 30.07.2017, BULU 41973, Hem.

Dianthus carmelitarum Reut. ex Boiss. (Sin. **D. artwinensis** Grossh.), 36, 02.09.2014, BULU 37980, Avr.-Sib., Hem., **END., LC.**

Dianthus calocephalus Boiss., 15, 11.06.2014, BULU 37236, Hem.

Dianthus cibrarius Clementi, 35, 23.06.2017, BULU 41557, Hem., **END., NT.**

Dianthus leptopetalus Willd., 45, 23.06.2017, BULU 41611, Hem.

Dianthus giganteus d'Urv., 30, 11.06.2014, BULU 37127, Avr.-Sib., Hem.

Dianthus goekayi Kaynak, Yılmaz & Daşkın, 10, 14.08.2015, BULU 39083, Hem., **END., CR.**

Herniaria glabra L., 26, 16.06.2014, BULU 36253, Hem.

Herniaria micrantha A.K. Jacks. & Turrill, 35, 23.06.2017, BULU 41523, D. Akd., Hem.

Holosteum umbellatum L. var. **umbellatum**, 34, 16.05.2017, BULU 41331, Ter.

Minuartia hirsuta (M. Bieb.) Hand.-Mazz. subsp. **falcata** (Gris.) Mattf., 11, 17.04.2015, BULU 38163, Hem.

Minuartia hybrida (Vill.) Schischk. subsp. **hybrida**, 26, 14.05.2015, BULU 38198, Ter.

Minuartia leucocephaloides (Bornm.) Bornm., 26, 22.04.2014, BULU 35703, Hem., **END., LC.**

Moenchia mantica (L.) Bartl., 46, 16.05.2017, BULU 41297, Ter.

Paronychia chionaea Boiss. subsp. **chionaea** var. **chionaea**, 45, 22.05.2015, BULU 38321, Hem.

Petrorrhagia cretica (L.) P. W. Ball & Heywood, 44, 09.07.2014, BULU 37547, Ter.

Petrorrhagia dubia (Raf.) G. Lopez & Romo (Sin: **P. velutina** (Guss.) P. W. Ball & Heywood), 34, 11.06.2014, BULU 37178, Ter.

Petrorrhagia prolifera (L.) P. W. Ball & Heywood, 39, 10.07.2014, BULU 37611, Ter.

Saponaria glutinosa M. Bieb., 5, 11.05.2016, BULU 39690, Hem.

Saponaria officinalis L., 26, 23.06.2016, BULU 40223, Hem.

Scleranthus annuus L. subsp. **annuus**, 47, 11.06.2014, BULU 41336, Ter.

Scleranthus annuus L. subsp. **verticillatus** (Tausch) Arcang., 37, 24.05.2014, BULU 36461, Ter.

Silene argentea Ledeb. (Sin: **S. cappadocica** Boiss. & Heldr.), 13, 27.06.2014, BULU 37347, İr.-Tur., Hem.

Silene compacta Fisch. ex Hornem., 35, 23.06.2017, BULU 41608, Hem.

Silene conoidea L., 37, 24.05.2014, BULU 36475, Ter.

Silene dichotoma Ehrh. subsp. *dichotoma*, 39, 08.06.2017, BULU 41400, Hem.

Silene italica (L.) Pers. subsp. *italica*, 34, 16.05.2017, BULU 41344, Akd., Hem.

Silene latifolia Poir. subsp. *ericalycaea* (Boiss.) Greuter & Burdet (Sin: *S. alba* subsp. *ericalycaea* (Boiss.) Walters), 5, 16.05.2017, BULU 41235, Hem.

Silene supina M.Bieb. subsp. *pruinosa* (Boiss.) Chowdhuri, 25, 22.04.2014, BULU 35764, Hem.

Spergula pentandra L., 27, 07.04.2016, BULU 39522, Ter.
Stellaria media (L.) Vill., 24, 30.03.2013, BULU 40332, Ter.

Vaccaria hispanica (Mill.) Rauschert (Sin: *V. pyramidata* Medik.), 11, 25.05.2016, BULU 39721, Ter.

Velezia rigida L., 36, 10.07.2014, BULU 37637, Ter.

36. CHENOPODIACEAE

Chepodium album L. subsp. *album* var. *microphyllum* Boenn. (Sin: *C. album* L. subsp. *microphyllum* (Boenn.) Sterner), 40, 21.07.2017, BULU 41688, Ter.

Chenopodium murale L., 27, 23.06.2017, BULU 41644 A, Ter.

Chenopodium vulvaria L., 27, 23.06.2017, BULU 41644B, Ter.

37. CISTACEAE

Cistus creticus L., 9, 25.05.2014, BULU 36501, Kam.

Cistus salviifolius L., 13, 22.04.2014, BULU 35789, Kam.

Helianthemum nummularium (L.) Mill. subsp. *nummularium*, 22, 19.04.2016, BULU 39607, Kam.

Helianthemum salicifolium (L.) Mill., 44, 14.05.2014, BULU 36131A, Ter.

Fumana aciphylla Boiss., 45, 22.05.2015, BULU 38294, İr.-Tur., Kam.

Fumana thymifolia (L.) Spach, 44, 24.05.2014, BULU 36424, Kam.

38. CLEOMEACEAE

Cleome ornithopodioides L., 36, 02.09.2014, BULU 37994, D. Akd., Ter.

39. CONVULVACEAE

Convolvulus arvensis L., 40, 21.07.2017, BULU 41681, Kozm., Ter.

Convolvulus cantabrica L., 44, 22.05.2015, BULU 38271, Akd., Hem.

Convolvulus compactus Boiss., 8, 25.05.2016, BULU 39771, İr.-Tur., Hem.

Convolvulus holosericeus M.Bieb. subsp. *holosericeus*, 44, 24.05.2014, BULU 36441, İr.-Tur., Hem.

40. CORNACEAE

Cornus mas L., 4, 26.03.2014, BULU 35251, Avr.-Sib., Fan.

41. CORYLACEAE

Corylus avellana L. var. *avellana*, 26, 25.06.2015, BULU 38377, Avr.-Sib., Fan.

42. CRASSULACEAE

Umbilicus luteus (Huds.) Webb. & Berthel. (Sin: *U. erectus* DC.), 12, 16.04.2014, BULU 35484, Hem.

Sedum acre L. subsp. *acre*, 31, 11.06.2014, BULU 37115, Hem.

Sedum album L., 13, 27.06.2014, BULU 37346, Hem.

Sedum hispanicum L., 27, 16.06.2014, BULU 36245, İr.-Tur., Hem.

Phedimus obtusifolius (C.A. Mey.) t Hart (Sin. *Sedum*

obtusifolium C.A.Mey.), 35, 23.06.2017, BULU 41616, Hem.

Sedum pallidum M.Bieb. (Sin: *S. pallidum* M. Bieb. var. *bithynicum* (Boiss.) D. F. Chamb.), 12, 16.04.2014, BULU 35495, İr.-Tur., Hem.

43. ERICACEAE

Arbutus andrachne L., 3, 26.03.2014, BULU 35248, Fan.

Arbutus unedo L., 9, 25.05.2014, BULU 36520, Fan.

Erica arborea L., 3, 26.03.2014, BULU 35244, Fan.

44. EUPHORBIACEAE

Euphorbia aleppica L., 21, 30.07.2017, BULU 42061, Ter.

Euphorbia anacamperos Boiss. var. *anacamperos*, 38, 17.04.2014, BULU 35636, Hem., END., LC.

Euphorbia apios L., 33, 16.04.2014, BULU 35379, D. Akd., Hem.

Euphorbia falcata L. subsp. *falcata* var. *galilaea* (Boiss.) Boiss., 8, 19.04.2016, BULU 39615, Ter.

Euphorbia falcata L. subsp. *macrostegia* (Bornm.) O. Schwartz, 35, 30.07.2017, BULU 42006, D. Akd., Ter.

Euphorbia helioscopia L. subsp. *helioscopia*, 43, 10.05.2011, BULU 40401, Ter.

Euphorbia herniariifolia Willd. var. *glaberrima* Halacsy, 5, 11.05.2016, BULU 39694, Hem.

Euphorbia prostrata Aiton, 7, 21.07.2017, BULU 41833, Ter.

Euphorbia taurinensis All., 11, 17.04.2015, BULU 38168, Ter.

Mercurialis annua L., 23, 30.03.2013, BULU 40362B, Ter.

Mercurialis perennis L., 26, 22.04.2014, BULU 35691, Avr.-Sib., Hem.

45. FABACEAE

Astragalus gaeobotrys Boiss. & Balansa, 34, 16.04.2014, BULU 35458; 15, 19.04.2016, BULU 39569, Hem., END., EN.

Astragalus coodei D. F. Chamb. & V. A. Mathews, 17, 19.04.2016, BULU 39583, İr.-Tur., Hem., END., LC.

Astragalus hamosus L., 15, 11.06.2014, BULU 37224, Ter.

Astragalus glycyphyllos L., 46, 25.05.2014, BULU 36615, Avr.-Sib., Hem.

Astragalus vulnerariae DC., 45, 22.05.2015, BULU 38300, Hem., END., LC.

Biserrula pelecinus L., 37, 24.05.2014, BULU 36450, Akd., Ter.

Bituminaria butiminosa (L.) C.H.Stirt (Sin: *Psoralea butiminosa* L.), 35, 10.06.2016, BULU 39963, Akd., Hem.

Cercis siliquastrum L. subsp. *siliquastrum*, 18, 19.04.2016, BULU 39611, Akd., Fan.

Colutea cilicica Boiss. & Balansa, 15, 11.06.2014, BULU 36228, Fan.

Coronilla scorpioides (L.) W. D. J. Koch, 12, 22.04.2014, BULU 35777 B, Ter.

Cytisus hirsutus L. (Sin: *Chamaecytisus hirsutus* (L.) Link), 30, 16.04.2014, BULU 35415, Kam.

Cytisus pygmaeus Willd. (Sin: *Chamaecytisus pygmaeus* (Willd.) Rothm.), 13, 22.04.2014, BULU 35798, Avr.-Sib., Kam.

Cytisopsis dorycniifolia Jaub. & Spach, 15, 19.04.2016, BULU 39568, Kam.

Dorycnium graecum (L.) Ser., 30, 11.06.2014, BULU 37169A, İr.-Tur., Hem.

- Dorycnium pentaphyllum** Scop. subsp. **herbaceum** (Vill.) Rouy, 8, 25.05.2016, BULU 39752, Hem.
- Hymenocarpus circinnatus** (L.) Savi, 1, 22.05.2015, BULU 38371, Ter.
- Lathyrus digitatus** (M. Bieb.) Fiori, 38, 17.04.2014, BULU 35644, D. Akd., Hem.
- Lathyrus laxiflorus** (Desf.) O. Kuntze subsp. **laxiflorus**, 34, 16.04.2014, BULU 35456, Hem.
- Lathyrus sativus** L., 34, 16.04.2014, BULU 35457, Akd., Hem.
- Lathyrus undulatus** Boiss., 30, 16.04.2014, BULU 35396, İr.-Tur., Hem., **END., VU.**
- Lotus angustissimus** L., 29, 24.09.2014, BULU 37999, Ter.
- Lotus corniculatus** L. var. **corniculatus**, 10, 27.06.2014, BULU 37375, Hem.
- Medicago coronata** (L.) Bart., 44, 09.07.2014, BULU 37545, Akd., Ter.
- Medicago lupulina** L., 12, 22.04.2014, BULU 35782, Ter.
- Medicago minima** (L.) Bartal. var. **minima**, 12, 22.04.2014, BULU 35782, Ter.
- Medicago orbicularis** (L.) Bartal., 1, 22.05.2015, BULU 38354, Ter.
- Medicago sativa** L. subsp. **sativa**, 12, 16.04.2014, BULU 36716, Hem.
- Melilotus officinalis** (L.) Desr., 7, 21.07.2017, BULU 41839, Ter.
- Onobrychis aequidentata** (Sibth & Sm.) d'Urv, 9, 25.05.2014, BULU 39762, Akd., Ter.
- Onobrychis caput-galli** (L.) Lam., 5, 25.05.2014, BULU 36712, Akd., Ter.
- Ononis pusilla** L., 1, 22.05.2015, BULU 38369, Akd., Hem.
- Ornithopus compressus** L., 37, 24.05.2014, BULU 36455, Akd., Ter.
- Scorpiurus subvillosus** L. var. **subvillosus** (Sin: **S. muricatus** L. var. **subvillosus** (L.) Fiori), 1, 22.05.2015, BULU 38370, Ter.
- Securigera cretica** (L.) Lassen, 12, 22.04.2014, BULU 35776, Akd., Ter.
- Securigera varia** (L.) Lassen (Sin: **Coronilla varia** L. var. **varia**), 30, 11.06.2014, BULU 37166A, D. Akd., Hem.
- Trifolium alpestre** L. var. **alpestre**, 6, 11.05.2016, BULU 39672, Avr.-Sib., Hem.
- Trifolium angustifolium** L., 29, 11.06.2014, BULU 37157, Hem.
- Trifolium arvense** L. var. **arvense**, 9, 25.05.2014, BULU 36520, Avr.-Sib., Ter.
- Trifolium campestre** Schreb. subsp. **campestre** var. **campestre**, 29, 11.06.2014, BULU 37153, Ter.
- Trifolium diffusum** Ehrh., 9, 25.05.2014, BULU 36507, Ter.
- Trifolium echinatum** M. Bieb., 24, 25.05.2014, BULU 36651; 34, 11.06.2014, BULU 37121, Ter.
- Trifolium grandiflorum** Schreb. (Sin: **T. speciosum** Willd.), 6, 11.05.2016, BULU 39673, D. Akd., Ter.
- Trifolium hirtum** All., 9, 25.05.2014, BULU 36514, Akd., Ter.
- Trifolium lappaceum** L., 28, 11.06.2014, BULU 37156, Akd., Ter.
- Trifolium nigrescens** Viv. subsp. **nigrescens**, 5, 11.05.2016, BULU 39678, Ter.
- Trifolium nigrescens** subsp. **petrisavii** (Clementi) Holmboe, 25, 25.05.2014, BULU 36665, Ter.
- Trifolium pallidum** Waldst. & Kit., 36, 10.07.2014, BULU 37638, Ter.
- Trifolium patens** Schreb., 36, 22.05.2015, BULU 38325, Ter.
- Trifolium purpureum** Lois. var. **purpureum**, 11, 25.05.2016, BULU 39706, D. Akd., Ter.
- Trifolium repens** L. var. **repens**, 29, 11.06.2014, BULU 37148, Hem.
- Trifolium resupinatum** L. var. **resupinatum**, 28, 11.06.2014, BULU 37148, Ter.
- Trifolium scabrum** L., 31, 11.06.2014, BULU 37121, Akd., Ter.
- Trifolium stellatum** L. var. **stellatum**, 24, 25.05.2014, BULU 36672A, Ter.
- Vicia cracca** L. subsp. **cracca**, 1, 22.05.2015, BULU 38345, Avr.-Sib., Hem.
- Vicia cretica** Boiss. & Heldr., 8, 19.04.2016, BULU 39618, Ter.
- Vicia grandiflora** Scop., 6, 17.04.2014, BULU 35504, Ter.
- Vicia hirsuta** (L.) Gray, 43, 11.05.2016, BULU 39658, Ter.
- Vicia hybrida** L., 12, 22.04.2014, BULU 35779, Ter.
- Vicia lathyroides** L., 30, 16.04.2014, BULU 35392, Ter.
- Vicia meyeri** Boiss., 34, 16.04.2014, BULU 35459, İr.-Tur., Ter.
- Vicia sativa** L. subsp. **sativa**, 13, 22.04.2014, BULU 35794, Ter.
- Vicia villosa** Roth subsp. **dasycarpa** (Ten.) Cav., 46, 25.05.2014, BULU 36640A, Ter.
- Vicia villosa** Roth subsp. **ericarpa** (Hausskn.) P. W. Ball, 37, 24.05.2014, BULU 36481, Ter.
- Vicia villosa** Roth subsp. **villosa**, 44, 14.05.2014, BULU 36071, Ter.
- 46.FAGACEAE**
- Fagus orientalis** Lipsky, 26, 14.05.2015, BULU 38237, Avr.-Sib., Fan.
- Quercus cerris** L., 68, 14.08.2015, BULU 39068A, Akd., Fan.
- Quercus frainetto** Ten., 5, 11.05.2016, BULU 39688, Avr.-Sib., Fan.
- Quercus infectoria** Oliv. subsp. **infectoria**, 25, 22.04.2014, BULU 35767, Avr.-Sib., Fan.
- Quercus ithaburensis** Decne subsp. **macrolepis** (Kotschy) Hedge & Yalt., 32, 16.05.2017, BULU 41349, Fan.
- Quercus petraea** (Matt.) Liebl. subsp. **iberica** (Steven ex M. Bieb.) Krassiln., 6, 17.04.2014, BULU 35512, Fan.
- Quercus pubescens** Willd. subsp. **pubescens**, 19, 30.07.2017, BULU 41961, Fan.
- Quercus robur** L. subsp. **robur**, 26, 25.06.2015, BULU 38409, Avr.-Sib., Fan.
- Quercus trojana** Webb subsp. **trojana**, 6, 17.04.2014, BULU 35511, D. Akd., Fan.
- 47.GENTIANACEAE**
- Centaureum erythraea** subsp. **turcicum** (Velen.) Melderis, 10, 27.06.2014, BULU 37368, Hem.
- 48.GERANIACEAE**
- Erodium ciconium** (L.) L' Her., 39, 16.05.2017, BULU 41247, Ter.

Erodium cicutarium (L.) L' Her. subsp. **cutarium**, 27, 14.05.2015, BULU 38245, Kozm., Ter.

Geranium lucidum L., 26, 22.04.2014, BULU 35706, Ter.

Geranium purpureum Vill., 26, 14.05.2015, BULU 38206, Ter.

Geranium pusillum Burm.f., 25, 22.04.2014, BULU 35762, Ter.

Geranium pyrenaicum Burm.f., 33, 16.04.2014, BULU 35390, Hem.

Geranium rotundifolium L., 34, 16.04.2014, BULU 35453, Ter.

49. HYPERICACEAE

Hypericum adenotrichum Spach, 29, 11.06.2014, BULU 37154, Hem., **END., LC.**

Hypericum aviculariifolium Jaub. & Spach, 13, 27.06.2014, BULU 37351, D. Akd. Hem., **END., LC.**

Hypericum bourgaei (Sin: *H. aviculariifolium* subsp. **depilatum** var. **bourgaei** (Boiss.) N. Robson), 46, 25.05.2014, BULU 36630, D. Akd., Hem., **END., LC.**

Hypericum calycinum L., 5, 21.07.2017, BULU 41848, İr.-Tur., Hem.

Hypericum confertum choisy subsp. **confertum**, 29, 16.04.2014, BULU 35437, Hem., **END., LC.**

Hypericum montbretii Spach, 35, 23.06.2017, BULU 41540, Hem.

Hypericum olympicum L., 39, 10.07.2014, BULU 37613, D. Akd., Hem.

Hypericum orientale L., 34, 11.06.2014, BULU 37182, Hem.

Hypericum organifolium Willd. var. **organifolium**, 44, 22.05.2015, BULU 38284, Hem.

Hypericum perforiatum L., 29, 24.09.2014, BULU 37997, Akd., Hem.

Hypericum perforatum L. subsp. **perforatum**, 9, 25.05.2014, BULU 36502, Hem.

50. JUGLANDACEAE

Juglans regia L., 5, 21.07.2017, BULU 41862, Fan.

51. LAMIACEAE

Ajuga chamaepitys (L.) Schreb subsp. **chia** (Schreb.) Arcang., 1, 22.05.2015, BULU 38346, Hem.

Ballota nigra L. subsp. **anatolica** P. H. Davis, 26, 25.06.2015, BULU 38397, İr.-Tur., Hem.

Clinopodium alpinum (L.) Kuntze (Sin: *Acinos alpinum* (L.) Moench), 9, 17.04.2014, BULU 35525, Hem.

Clinopodium suaveolens (Sm.) Kuntze (Sin: *Acinos rotundifolius* Pers.), 15, 11.06.2014, BULU 37235, Hem.

Clinopodium vulgare L. subsp. **vulgare**, 26, 16.06.2014, BULU 36266A, Avr.-Sib., Hem.

Lamium amplexicaule L. var. **amplexicaule**, 12, 16.04.2014, BULU 35488, Ter.

Lamium garganicum L. subsp. **garganicum** var. **striatum** (Sin: *L. garganicum* L. subsp. **reniforme** (Montbret & Aucher ex Benter.) R.R. Mill.), 14, 19.04.2017, BULU 41189, Akd., Hem.

Lamium purpureum L. var. **aznavourii** Gand. ex Aznav., 23, 30.03.2013, BULU 40354, İr.-Tur., Ter., **END., CR.**

Lamium purpureum L. var. **purpureum**, 13, 19.04.2017, BULU 41193, Avr.-Sib., Ter.

Marrubium peregrinum L., 35, 23.06.2017, BULU 41607, Hem.

Marrubium vulgare L., 26, 22.04.2014, BULU 35698,

Akd., Hem.

Mentha longifolia (L.) L. subsp. **thyphoides** (Briq.) Harley (Sin: *M. longifolia* (L.) L. subsp. **thyphoides** (Briq.) Harley var. **thyphoides** (Briq.) Briq.), 39, 08.06.2017, BULU 41416, Hem.

Mentha pulegium L., 26, 13.07.2016, BULU 40224, Hem.

Melissa officinalis L. subsp. **officinalis**, 21, 30.07.2017, BULU 42058, Avr.-Sib., Ter.

Micromeria myrtifolia Boiss. & Hohen., 15, 11.06.2014, BULU 37238, Hem.

Nepeta italica L., 30, 11.06.2014, BULU 37167A, Akd., Hem.

Origanum vulgare L. subsp. **gracile** (K. Koch) Ietsw., 27, 23.06.2017, BULU 41640, İr.-Tur., Hem.

Origanum vulgare L. subsp. **hirtum** (Link) Ietsw., 26, 25.06.2015, BULU 38440, D. Akd., Hem.

Origanum vulgare L. subsp. **viridulum** (Martrin-Donos) Nyman (Sin: *O. vulgare* L. subsp. **viride** (Boiss.) Hayek), 10, 27.06.2014, BULU 37363, Hem.

Origanum sipyleum L., 19, 30.07.2017, BULU 41978, D. Akd., Hem., **END., LC.**

Prunella laciniata (L.) L., 34, 11.06.2014, BULU 37176, Avr.-Sib., Hem.

Prunella vulgaris L., 26, 23.06.2016, BULU 40216, Avr.-Sib., Hem.

Salvia forskahlei L., 10, 27.06.2014, BULU 37364, Avr.-Sib., Hem.

Salvia sclarea L., 26, 23.06.2016, BULU 40214, Hem.

Salvia tomentosa Mill., 29, 11.06.2014, BULU 37151, Akd., Hem.

Salvia verbanaca L., 27, 14.05.2015, BULU 38256, Akd., Hem.

Salvia virgata Jacq., 21, 30.07.2017, BULU 42056, İr.-Tur., Hem.

Salvia viridis L., 30, 11.06.2014, BULU 37168A, Akd., Ter.

Sideritis lanata L., 37, 24.05.2014, BULU 36477, D. Akd., Ter.

Sideritis montana L. subsp. **montana**, 31, 11.06.2014, BULU 37102, D. Akd., Ter.

Sideritis sipylea Boiss., 19, 30.07.2017, BULU 41977, D. Akd., Hem., **END., EN.**

Sideritis pisidica Boiss. & Heldr., 27, 16.06.2014, BULU 36627, D. Akd., Hem., **END., LC.**

Stachys annua (L.) L. var. **lycaonica** R. Bhattacharjee, 1, 22.05.2015, BULU 38356, İr.-Tur., Ter.

Stachys byzantina K. Koch, 44, 24.05.2014, BULU 36433, Avr.-Sib., Hem.

Stachys cretica L. subsp. **bulgarica** Rech. f., 35, 23.06.2017, BULU 41581, D. Akd., Hem.

Stachys thirkei K. Koch, 13, 27.06.2014, BULU 37338, Hem.

Teucrium chamaedrys L. subsp. **chamaedrys**, 44, 09.07.2014, BULU 37540, Kam.

Teucrium orientale L. var. **glabrescens** Hausskn. ex Bornm., 35, 23.06.2017, BULU 41532, İr.-Tur., Hem.

Teucrium polium L. subsp. **polium**, 11, 25.05.2016, BULU 39705, Hem.

Thymus atticus Celak, 11, 25.05.2016, BULU 39714, Akd., Kam.

Thymus longicaulis C. Presl. subsp. **chaubardii** (Rchb.f.)

Jalas, 1, 22.05.2015, BULU 38366, Akd., Kam.
Thymus longicaulis C. Presl subsp. **longicaulis** (Sin: **T. longicaulis** C. Presl subsp. **longicaulis** var. **subisophyllus** (Borbas) Jalas), 29, 11.06.2014, BULU 37147, Avr.-Sib., Kam.
Vitex agnus-castus L., 24, 25.05.2014, BULU 36673 B, Akd., Fan.
Ziziphora capitata L., 15, 11.06.2014, BULU 37237, Ter.
Ziziphora taurica M. Bieb. subsp. **taurica**, 13, 27.06.2014, BULU 37264, Ter.
52.LINACEAE
Linum bienne Mill., 9, 16.05.2017, BULU 41405, Hem.
Linum corymbulosum Rechb., 31, 11.06.2014, BULU 37113, Akd., Ter.
Linum hirsutum L. subsp. **anatolicum** (Boiss.) Hayek var. **platyphyllum** P. H. Davis, 1, 22.05.2015, BULU 38344, Hem., **END., EN.**
Linum nodiflorum L., 1, 22.05.2015, BULU 38355, Akd., Ter.
Linum pamphylicum Boiss. & Heldr. ex Planch subsp. **olympicum** G. Kaynak & Ö. Yılmaz, 8, 25.05.2016, BULU 39763, Hem., **END., CR.**
53.LYTHRACEAE
Lythrum salicaria L., 26, 25.06.2015, BULU 38406, Avr.-Sib., Hem.
54.MALVACEAE
Alcea biennis Winterl (Sin. **A. pallida** Waldst. & Kit.), 36, 10.07.2014, BULU 37630, Hem.
Malva sylvestris L., 35, 10.06.2016, BULU 39962, Hem.
Tilia tomentosa Moench (Sin: **T. argentea** DC.), 26, 22.04.2014, BULU 35702, Fan.
55.MORACEAE
Ficus carica L. subsp. **carica**, 21, 30.07.2017, BULU 42067, Akd., Fan.
56.OLEACEAE
Fraxinus ornus L. subsp. **ornus**, 6, 19.04.2016, BULU 39626, Avr.-Sib., Fan.
Jasminum fruticans L., 44, 14.05.2014, BULU 36073, Akd., Fan.
Ligustrum vulgare L., 26, 22.04.2014, BULU 35737, Avr.-Sib., Fan.
Phillyrea latifolia L., 32, 16.05.2017, BULU 41347, Akd., Fan.
57.ONAGRACEAE
Circaea lutetiana L., 26, 23.06.2016, BULU 40219, Hem.
Epilobium hirsutum L., 26, 23.06.2016, BULU 40222, Hem.
Epilobium montanum L., 34, 11.06.2014, BULU 37175, Avr.-Sib., Hem.
Epilobium palustre L., 26, 25.06.2015, BULU 38384, Hem.
58.ROBANCHACEAE
Bellardia trixago L., 31, 11.06.2014, BULU 37111, Ter.
Orobanche alba Stephan ex Willd. subsp. **alba**, 8, 25.05.2016, BULU 39727, Epi.
Orobanche fluginosa Reut. ex Jard., 8, 16.05.2017, BULU 41372, Akd., Epi.
Orobanche lavandulacea Rechb., 26, 14.05.2015, BULU 38236, Akd., Epi.
Orobanche minor Sm., 37, 24.05.2014, BULU 36447, Epi.
Parentucellia latifolia (L.) Caruel subsp. **latifolia**, 33,

16.04.2014, BULU 35388, Akd., Ter.
59.PAPAVERACEAE
Chelidonium majus L., 26, 22.04.2014, BULU 35676, Avr.-Sib., Hem.
Corydalis solida (L.) Clairv. subsp. **solida**, 26, 12.03.2015, BULU 38076, Kri.
Fumaria densiflora DC., 14, 19.04.2017, BULU 41198, Ter.
Fumaria officinalis L. subsp. **officinalis**, 34, 16.05.2017, BULU 41340A, Ter.
Fumaria vaillantii Loisel., 36, 23.06.2017, BULU 41441, Ter.
Papaver argemone L. subsp. **argemone**, 22, 16.05.2017, BULU 41263, Ter.
Papaver pilosum Sibter. & Sm. subsp. **strictum** (Boiss. & Balansa) N. Wendt ex Kadereit, 26, 16.06.2014, BULU 36251, Hem., **END., VU.**
Papaver rhoeas L., 11, 25.05.2016, BULU 39726, Ter.
60.PHYLLANTHACEAE
Andrachne telephioides L., 35, 30.07.2017, BULU 42032, Hem.
61.PLANTAGINACEAE
Linaria corifolia Desf., 8, 19.04.2016, BULU 39620, İr.-Tur., Hem., **END., LC.**
Linaria pelisseriana (L) Mill., 35, 23.06.2017, BULU 41538, Akd., Ter.
Linaria simplex DC., 36, 23.06.2017, BULU 41492, Akd., Ter.
Globularia trichosantha Fisch. & C. A. Mey. subsp. **trichosantha**, 12, 22.04.2014, BULU 35783, İr.-Tur., Hem.
Gratiola officinalis L., 26, 23.06.2016, BULU 40217, Avr.-Sib., Hem.
Plantago lanceolata L., 36, 23.06.2017, BULU 41510, Hem.
Plantago lagopus L., 35, 23.06.2017, BULU 41524, Akd., Ter.
Plantago scabra Moench, 40, 21.07.2017, BULU 41670, Ter.
Veronica arvensis L., 26, 14.05.2015, BULU 38213, Avr.-Sib., Ter.
Veronica chamaedrys L., 30, 16.04.2014, BULU 35414, Avr.-Sib., Hem.
Veronica cymbalaria Bodard, 26, 22.04.2014, BULU 35731, Akd., Ter.
Veronica pectinata L. var. **pectinata**, 4, 26.03.2014, BULU 36055, Hem.
Veronica pectinata L. var. **schzocalyx** (Freyn & Sint.) Bornm., 27, 14.05.2015, BULU 38238, Hem.
Veronica persica Poir., 23, 30.03.2013, BULU 40358, Ter.
Veronica praecox All., 26, 14.05.2015, BULU 38182, Ter.
62. PLATANACEAE
Platanus orientalis L., 21, 30.07.2017, BULU 42062, Fan.
63. PLUMBAGINACEAE
Armeria cariensis Boiss. var. **cariensis**, 27, 14.05.2015, BULU 38258, D. Akd., Hem.
64.POLYGALACEAE
Polygala anatolica Boiss. & Heldr., 11, 25.05.2016, BULU 39710, Hem.
Polygala pruinosa Boiss. subsp. **pruinosa**, 46, 25.05.2014, BULU 36607, Hem.

Polygala supina Schreb. subsp. **supina**, 8, 25.05.2016, BULU 39729, Hem.

65.POLYGONACEAE

Polygonum arenastrum Boreau, 27, 23.06.2017, BULU 41646, Ter.

Polygonum lapathifolium L., 21, 30.07.2017, BULU 42044, Ter.

Polygonum persicaria L., 21, 30.07.2017, BULU 42050, Ter.

Rumex acetosella L., 37, 24.05.2014, BULU 36478, Hem.

Rumex crispus L., 21, 30.07.2017, BULU 42045, Hem.

Rumex obtusifolius L. subsp. **subalpinus** (Schur) Celak, 27, 23.06.2017, BULU 41632, Hem.

Rumex tuberosus L. subsp. **horizontalis** (K. Koch) Rech. f., 27, 25.05.2014, BULU 36685, Hem.

Rumex tuberosus L. subsp. **tuberosus**, 39, 08.06.2017, BULU 41407, Hem.

66.PRIMULACEAE

Anagallis arvensis L. var. **arvensis**, 1, 22.05.2015, BULU 38347, Ter.

Anagallis arvensis L. var. **caeurulea** (L.) Gouan, 36, 23.06.2017, BULU 41507, Ter.

Lysimachia atropurpurea L., 9, 25.05.2014, BULU 36511, D. Akd., Hem.

Lysimachia verticillaris Spreng., 26, 23.06.2016, BULU 40218, İr.-Tur., Hem.

Primula acaulis (L.) L. subsp. **acaulis** (Sin: **P. vulgaris** Huds. subsp. **sibthorpii** (Hoffmanns.) N.W. Sm & Forrest), 29, 16.04.2014, BULU 35445, Avr.-Sib., Kri.

67.RANUNCULACEAE

Anemone blanda Schott & Kotschy, 11, 17.04.2015, BULU 38161, Kri.

Clematis vitalba L., 7, 21.07.2017, BULU 41846, Hem.

Clematis viticella L., 11, 17.04.2015, BULU 38362, Hem.

Nigella arvensis L. var. **glauca** Boiss., 36, 02.09.2014, BULU 37991, Ter.

Nigella sativa L., 44, 09.07.2014, BULU 37546, Ter.

Ranunculus constantinopolitanus (DC.) d'Urv., 29, 16.04.2014, BULU 35443, Hem.

Ranunculus damascenus Boiss. & Gaill., 47, 11.06.2014, BULU 41333, İr.-Tur., Hem.

Ranunculus ficaria L. subsp. **ficariiformis** Rouy & Foucaud, 24, 30.03.2013, BULU 40331, Hem.

Ranunculus gracilis E.D.Clarke, 46, 16.05.2017, BULU 41274, Hem.

Ranunculus neapolitanus Ten., 8, 17.04.2015, BULU 38179, Hem.

68.RESEDACEAE

Reseda lutea L. var. **lutea**, 35, 30.07.2017, BULU 41994, Hem.

69.RHAMNACEAE

Paliurus spina-christii P. Mill., 11, 30.07.2017, BULU 42075, Fan.

70.ROSACEAE

Agrimonia eupatoria L. subsp. **eupatoria**, 35, 23.06.2017, BULU 41572, Hem.

Crataegus monogyna Jacq. var. **monogyna**, 26, 22.04.2014, BULU 35729, Fan.

Filipendula vulgaris Moench, 8, 25.05.2016, BULU 39753, Avr.-Sib., Hem.

Fragaria vesca L., 30, 16.04.2014, BULU 35405, Avr.-

Sib., Hem.

Geum urbanum L., 6, 19.04.2016, BULU 39628, Avr.-Sib., Hem.

Potentilla astranica Jacq. subsp. **astranica**, 45, 22.05.2015, BULU 38309, Avr.-Sib., Hem.

Potentilla buccoana Clem., 18, 19.04.2016, BULU 38681 A, İr.-Tur., Hem., **END., VU.**

Potentilla detommasii Ten., 26, 25.06.2015, BULU 38421, Hem.

Potentilla inclinata Vill., 6, 11.05.2016, BULU 38681B, Hem.

Prunus divaricata Ledeb. var. **divaricata**, 8, 17.04.2015, BULU 38181, Fan.

Pyracantha coccinea M.Roem., 35, 25.09.2017, BULU 42079, Avr.-Sib., Fan.

Pyrus eleagnifolia Pall. subsp. **eleagnifolia**, 26, 22.04.2014, BULU 35704, Fan.

Rosa canina L., 36, 23.06.2017, BULU 41435, Fan.

Rubus canescens DC. var. **glabratus** (Godr.) Davis & Meikle, 9, 25.05.2014, BULU 36505, Avr.-Sib., Fan.

Sanguisorba minor L. subsp. **lasiocarpa** (Boiss. & Hausskn.) Nordborg, 26, 22.04.2014, BULU 35727, Hem.

71.RUBIACEAE

Asperula arvensis L., 36, 23.06.2017, BULU 41513, Ter.

Asperula involucrata Wahlenb., 6, 17.04.2014, BULU 35515, Avr.-Sib., Hem.

Asperula lilaciflora Boiss. subsp. **phrygia** (Bornm.) Schönb.-Tem., 13, 27.06.2014, BULU 37348, D. Akd., Hem., **END., LC.**

Crucianella angustifolia L., 35, 23.06.2017, BULU 41565, Akd., Ter.

Crucianella bithynica Boiss., 27, 11.06.2014, BULU 37251, D. Akd., Ter.

Crucianella latifolia L., 31, 11.06.2014, BULU 37119, Akd., Ter.

Cruciata pedemontana (Bellardi) Ehrend., 34, 16.05.2017, BULU 41332B, Ter.

Cruciata taurica (Pall. ex Willd.) Ehrend., 34, 17.04.2014, BULU 35647, İr.-Tur., Hem.

Galium album Mill. subsp. **prusense** (K. Koch.) Ehrend. & Krendl, 16, 24.05.2014, BULU 36415, Hem.

Galium aparine L., 30, 16.04.2014, BULU 35399, Ter.

Galium divaricatum Pourr. ex Lam., 26, 23.06.2016, BULU 40198, Ter.

Galium fissurense Ehrend. & Schönb.-Tem., 3, 10.06.2014, BULU 37087, İr.-Tur., Hem., **END., LC.**

Galium floribundum Sm. subsp. **floribundum**, 35, 23.06.2017, BULU 41534, Ter.

Galium murale (L.) All., 44, 22.05.2015, BULU 38292, Akd., Ter.

Galium paschale Forssk., 35, 30.07.2017, BULU 42009, D. Akd., Hem.

Galium peplidifolium Boiss., 44, 14.05.2014, BULU 36083, D. Akd., Ter.

Galium setaceum Lam., 27, 16.06.2014, BULU 36265B, Ter.

Galium spurium L. subsp. **spurium**, 26, 22.04.2014, BULU 35688, Avr.-Sib., Ter.

Galium tricornutum Dandy, 8, 17.04.2014, BULU 38180, İr.-Tur., Ter.

Galium verticillatum Danthoine ex Lam., 44, 22.05.2015,

BULU 38291, Akd., Ter.

Sherardia arvensis L., 30, 16.04.2014, BULU 35409, Akd., Ter.

72.RUTACEAE

Ruta buxbaumii Poir. (Sin: *Haplophyllum buxbaumii* (Poir.) G. Don), 7, 25.05.2014, BULU 36624, Hem.

73.SALICACEAE

Populus alba L. var. *alba*, 16, 30.07.2017, BULU 41988, Avr.-Sib., Fan.

Populus nigra L. subsp. *nigra*, 11, 25.05.2014, BULU 36538, Avr.-Sib., Fan.

Populus tremula L. subsp. *tremula*, 26, 16.06.2014, BULU 36263, Fan.

Salix alba L. subsp. *alba*, 13, 19.04.2017, BULU 41201, Avr.-Sib., Fan.

Salix caprea L., 7, 17.04.2014, BULU 35510, Avr.-Sib., Fan.

Salix × fragilis L., 23, 30.03.2013, BULU 40360, Avr.-Sib., Fan.

Salix viminalis L., 26, 23.06.2016, BULU 40204, Avr.-Sib., Fan.

74.SANTALACEAE

Comandra umbellata (L.) Nutt. subsp. *elegans* (Roch. ex Sprengel) Piehl, 13, 22.04.2014, BULU 35796, Avr.-Sib., Hem.

Osyris alba L., 5, 23.06.2017, BULU 41660, Akd., Fan.

Thesium bergeri Zucc., 44, 24.05.2014, BULU 36434, D. Akd., Hem.

Thesium billardieri Boiss., 44, 09.07.2014, BULU 37542, İr.-Tur., Hem.

75.SAPINDACEAE

Acer campestre L. subsp. *campestre*, 26, 14.05.2015, BULU 38209, Avr.-Sib., Fan.

76.SAXIFRAGACEAE

Saxifraga adscendens L. subsp. *adscendens*, 26, 22.04.2014, BULU 35726, Hem.

Saxifraga sibirica L., 27, 07.04.2016, BULU 39516, Hem.

Saxifraga tridactylites L., 23, 30.03.2013, BULU 40345, Akd., Ter.

77.SCROPHULARIACEAE

Scrophularia canina L. subsp. *bicolor* (Sm.) Greuter, 38, 10.07.2014, BULU 37614, D. Akd., Hem.

Verbascum basivelatum Hub.-Mor., 3, 10.06.2014, BULU 37090, İr.-Tur., Hem., END., NT.

Verbascum cheiranthifolium Boiss. var. *asperulum* (Boiss.) Murb., 35, 23.06.2017, BULU 41601, Hem.

Verbascum cheiranthifolium Boiss. var. *cheiranthifolium*, 28, 11.06.2014, BULU 37162A, Hem.

Verbascum flavidum (Boiss.) Freyn & Bornm., 47, 11.06.2014, BULU 41334, Avr.-Sib., Hem.

Verbascum glomeratum Boiss., 15, 11.06.2014, BULU 37241, İr.-Tur., Hem.

Verbascum gnaphalodes M. Bieb., 2, 10.06.2014, BULU 37093, İr.-Tur., Hem.

Verbascum kastanicum Murb., 45, 22.05.2015, BULU 38298, İr.-Tur., Hem., END., LC.

Verbascum luciliae (Boiss.) Kuntze, 27, 16.06.2014, BULU 36272, Hem., END., EN.

Verbascum lyidium Boiss. var. *lyidium*, 26, 25.06.2015, BULU 38388, Akd., Hem., END., LC.

Verbascum ovalifolium Donn ex Simas subsp. *thracicum*

(Velen.) Murb., 13, 27.06.2014, BULU 37337, Avr.-Sib., Hem.

Verbascum parviflorum Lam., 26, 16.06.2014, BULU 36271, D. Akd., Hem., END., LC.

Verbascum prusianum Boiss., 7, 21.07.2017, BULU 41847, Avr.-Sib., Hem., END., EN.

78.SOLANACEAE

Datura stramonium L., 27, 23.06.2017, BULU 41643, Hem.

Hyoscyamus niger L., 11, 25.05.2016, BULU 38171, Hem.

Physalis alkekengi L., 21, 30.07.2017, BULU 42054, Ter.

Solanum americanum Mill. (Sin: *S. nigrum* L.), 26, 30.11.2012, BULU 40322, Hem.

79.TAMARICACEAE

Tamarix parviflora DC., 9, 16.05.2017, BULU 41364, Akd., Fan.

80.URTICACEAE

Parietaria judaica L., 26, 22.04.2014, BULU 35678, Hem.

Urtica dioica L. subsp. *dioica*, 47, 23.06.2017, BULU 41571A, Avr.-Sib., Hem.

81. VERBANACEAE

Phyla canescens (Kunth) Greene, 17, 19.04.2016, BULU 39608, Hem.

Verbana officinalis L. var. *officinalis*, 7, 21.07.2017, BULU 41826, Hem.

82.VIOLACEAE

Viola arvensis Murray, 47, 11.06.2014, BULU 41335, Ter.

Viola canina L., 17, 19.04.2016, BULU 39600, Hem.

Viola odorata L., 27, 01.03.2016, BULU 39492, Hem.

TARTIŞMA

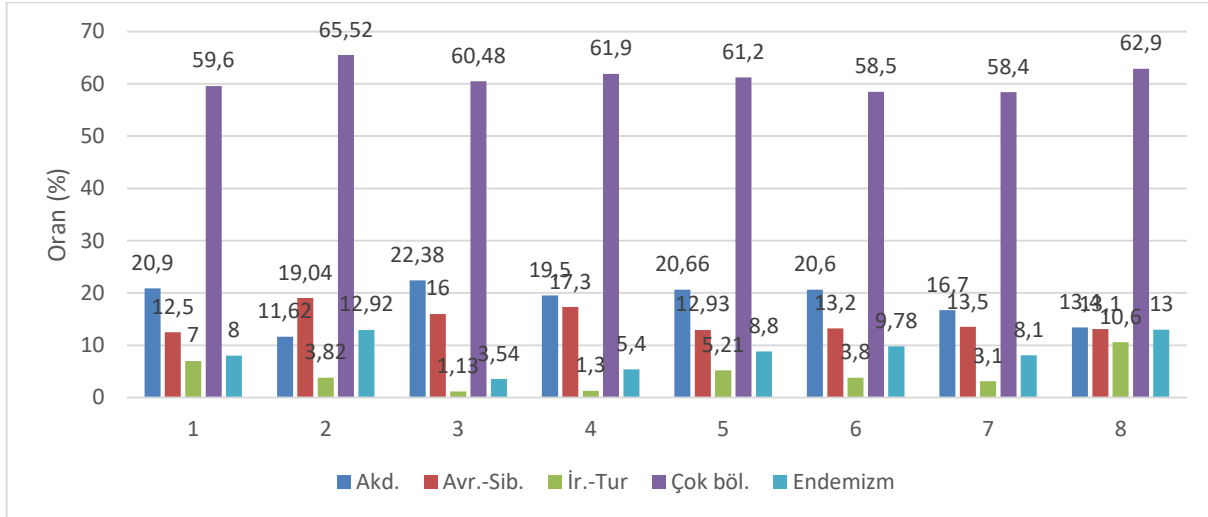
Çalışmanın sonucunda alandan 2011-2017 yılları arasında 47 farklı istasyondan yaklaşık 2100 bitki örneği toplanmıştır. Teşhisleri yapılan bitki örneklerinin 82 familyaya ait, 347 cins, 485 tür, 157 alt tür, 70 varyete ve 1 melez (*Salix × fragilis*) olmak üzere toplam 713 takson olduğu tespit edilmiştir. Taksonlardan 14'ü Pteridophyta, 699'u Spermatophyta bölümüne aittir. 8'i Pinophytina, 691'i Magnoliophytina alt bölümünde, 583'ü Magnoliopsida, 108'i Liliopsida sınıfında yer almaktadır.

Taksonların Raunkier'in hayat formlarına göre dağılımları ve oranları 59 (% 8.3)'ü Fanerofit, 328 (% 46)'i Hemikriptofit, 78 (% 10.9)'i Kriptofit, 231 (% 32.4)'i Terofit, 13 (%1.8)'ü Kamefit ve 4 (% 0.6)'ü Epifit olarak bulunmuştur. Hemikriptofitlerin birinci sırada çıkmasının temel nedeni, dünyanın ılıman bölgelerinde yaygın olmaları, Akdeniz iklimine karakteristik olan Terofitlerin ikinci sırada bulunması alanının iklim yapısının uygun olmasından kaynaklanmaktadır.

Bitkilerin fitocoğrafik bölgelere göre dağılımları ve oranları Akdeniz elementi 149 (%20.9), Avrupa-Sibirya elementi 89 (%12.5), İran-Turan elementi 50 (%7) ve çok bölgesi yada bölgesi bilinmeyenler 425 (%59.6) şeklinde belirlenmiştir (Şekil 2). Çalışma alanı ve yakın çevrede yapılmış diğer çalışmalarda (Uludağ florası hariç) Akdeniz elementleri ilk sırada yer almaktadır. İkinci sırada Avr.-Sib., üçüncü sırada İr.-

Tur. Elementleri bulunmaktadır. Akdeniz elementlerinin ilk sırada yer alması, alanın Akdeniz fitocoğrafik bölgesinde ve yarı kurak Akdeniz ikliminin görüldüğü bölgede bulunmasından kaynaklanmaktadır. Akdeniz elementleri *P. brutia* ormanı altları, maki çalılıkları ve meşelik içlerinde oldukça yaygındır. Avrupa-Sibirya elementlerine gölgelik ve nemli orman altlarında, yaygın olarak su kenarlarında ve vadi iç kısımlarında rastlanmaktadır. İran-Turan elementleri çoğunlukla taşlık kayalık açık alanlar, çalılık içleri, yol ve tarla kenarlarında yetişmektedir. Alandan tespit edilen 713 taksondan

57'si endemik olup endemizm oranı %8.0'dir. Alanlar endemizm oranları bakımından karşılaştırıldığında Uludağ (Daşkın ve Kaynak, 2010a, b) ve Murat Dağı (Çırpıcı, 1989)'nda en yüksek olduğu, Büyükorhan, Harmancık (Bursa) ilçelerinde (Bağcıvan ve Daşkın, 2019), Gölcük (Dursunbey)'de (Dirmenci, 2006), Ulus Dağında (Güner ve Akççek, 2013) çalışma alanındakine yakın olduğu, Bursa Şehir florası (Günay Daşkın ve Kaynak, 2006) ve Katırlı Dağında (Erdoğan ve ark., 2011) ise daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil 2).



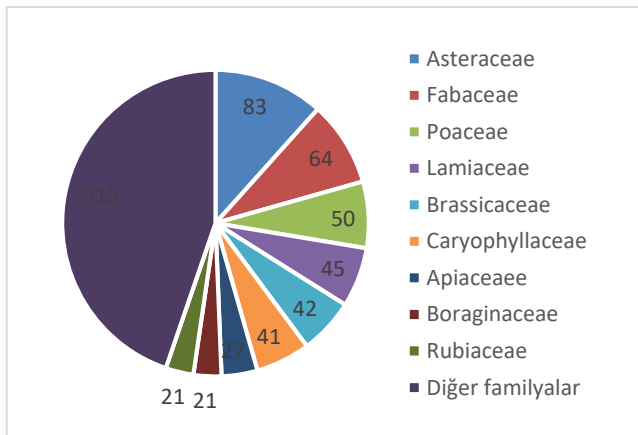
Şekil 2. Fitocoğrafik Bölge Elementleri ve Endemizm Oranlarının Yakın Bölgelerde Yapılmış Floristik Çalışmalar ile Karşılaştırılması

Figure 2. Comparison of Study Area and its Neighbour Areas in terms of Phytogeographical Region Elements and Endemism Rates

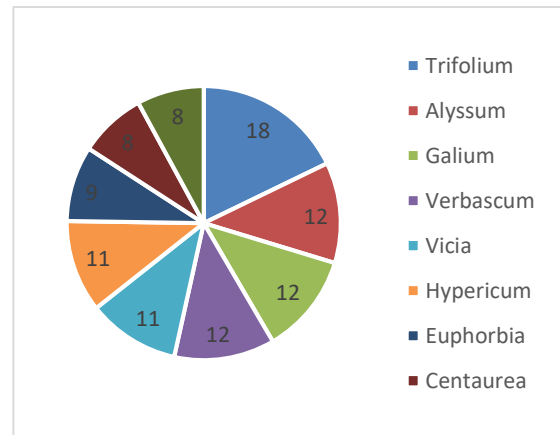
(1) Orhaneli (Bursa) florası; (2) Uludağ (Bursa) florası; (3) Bursa şehir florası; (4) Katırlı Dağı (Bursa florası); (5) Büyükorhan, Harmancık (Bursa) florası; (6) Gölcük (Dursunbey, Balıkesir) florası; (7) Ulus Dağı (Balıkesir) florası; (8) Murat Dağı (Kütahya) florası

Araştırma alanında en fazla takson içeren familyalar ve içerdikleri takson sayıları Asteraceae (83), Fabaceae (64), Poaceae (50), Lamiaceae (45), Brassicaceae (42), Caryophyllaceae (41), Apiaceae (27), Boraginaceae (21), Rubiaceae (21), Diğer familyalar (21)

Boraginaceae ve Rubiaceae (21) şeklindedir (Şekil 3). En zengin cinsler *Trifolium* (18), *Alyssum*, *Galium*, *Verbascum* (12), *Vicia*, *Hypericum* (11), *Euphorbia* (9), *Centaurea* (8), *Quercus* (8) olarak bulunmuştur (Şekil 4).



Şekil 3. Taksonların familyalara göre dağılımı
Figure 3. Distribution of taxa according to the families



Şekil 4. En zengin cinsler ve içerdikleri takson sayıları
Figure 4. The richest genera and the number of taxa they contain

Çalışma alanında bitki çeşitliliğinin yüksek olduğu alanlar; yörede yetişen birçok bitki türü için sığınak oluşturan Sadağı Kanyonu içleri ve üstleri, Çeki-Sırlı yol ayrımı çevresi ve Nalınlar Çörelere arasındır. Bu alanlarda bitki çeşitliliğini tehdit eden faktörler özellikle kanyondaki günü birlik ziyaretçi baskısı, kanyonun üst kısımlarında ise kısmen otlatma baskısı sayılabilir. Çeki-Sırlı yol ayrımı çevresi ve Nalınlar Çörelere arasında yol genişletme çalışmaları çeşitliliği tehdit eden en önemli faktör olarak gözlenmiştir. Bitki çeşitliliğinin korunması amacı ile alınabilecek önlemler arasında Sadağı Kanyonundaki günü birlik ziyaretçilerin sayısının ve alan içindeki faaliyetlerinin denetlenmesi, otlatmaya ya hiç izin verilmemesi yada kontrollü bir şekilde yapılmasının sağlanması sayılabilir.

Alanda tespit edilen endemik taksonlardan 5'i Çok Tehlikede (CR), 6'sı Tehlikede (EN), 8'i Zarar Görebilir (VU), 6'sı Yakın zamanda tehlike altına Girebilir (NT), 30'u Az endişe verici (LC) ve 2'si NE (Değerlendirilemedi) kategorisindedir (Ekim ve ark., 2000; Adıgüzel ve Reeves, 2002; Daşkın ve Kaynak, 2011; Çeçen, 2014). Sadağı Kanyonu içleri ve üst kesimleri, Çeki-Sırlı yol ayrımı çevresi, Harmancık yolu üzerindeki taşlık kayalık alanlar, Ağaçhisar Fadıl arası, Nalınlar, Deliballılar, Çörelere, Akçabük çevresi, Çınarcık Barajı üstleri endemik taksonların yetiştiği alanlardır. Bu alanların çoğunda ana kayanın serpantin olması ve son zamanlarda bölgeden yeni tür olarak tanımlanan taksonların da söz konusu alanlarda yayılış göstermesi dikkat çekicidir. Alanında yetişen endemiklerden *Papaver pilosum* ssp. *strictum*, *Elaeosticta aurea*, *Centaurea wiedemanniana*, *Anthemis xylopoda*, *Centaurea ertugruliana*, *Verbascum luciliae*, *V. kastamunicum*'un yayılışları oldukça lokal olup populasyonları azdır. Diğer yandan *Crocus flavus* ssp. *dissectus*, *Alyssum dudleyi*, *Aubrieta olympica*, *Dianthus goekayi*, *Linum pamphylicum* ssp. *olympicum*'un alandaki populasyonları nispeten daha iyi durumdadır.

Bu çalışma ile Bursa ili Orhaneli ilçesinde 713 vasküler bitki taksonunun yayılış gösterdiği saptanmış olup çalışmamızın ileride yörede yetişen bitkiler üzerinde araştırmalar yapacak bilim insanlarına katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma ilk yazarın doktora tezinin bir kısmını oluşturmakta olup çalışmayı maddi olarak destekleyen Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (Proje no: UAP (F) 2011/73) teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Adıgüzel N, Reeves R D 2002. A new nickel-accumulating species of *Alyssum* (*Cruciferae*) from Western Turkey, *Edinburgh Journal of Botany* 59 (2): 215–219.
- Akman Y 1999. İklim ve Biyoiklim. Kariyer Matbaacılık, Ankara, 350 sy.
- Anonim 1976-2006. Bursa Merkez istasyonuna Ait İklimsel Veriler, TC. Çevre ve Orman Bakanlığı, Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Anonim 2010. Bursa İli Maden ve Enerji Kaynakları. T.C. Maden Tetkik Arama ve Genel Müdürlüğü Raporu, Ankara.
- Anonim 2012. Orhaneli, Büyükorhan, Harmancık İlçeleri Genel Bilgiler. Bursa Eskişehir Bilecik Kalkınma Ajansı (BEBKA) Raporu, Bursa.
- Anonim 2013-2016. Bursa ili Orhaneli İlçesine Ait İklimsel Veriler. TC. Çevre ve Orman Bakanlığı, Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, Bursa Meteoroloji İl Müdürlüğü, Bursa.
- Avcı M 2005. Çeşitlilik ve Endemizm Açısından Türkiye'nin Bitki Örtüsü. *Coğrafya Derg* 13: 27–55.
- Bağcıvan G, Daşkın R 2019. Büyükorhan ve Harmancık İlçelerinin (Bursa/Türkiye) Florası. *Biological Diversity and Conservation* 12(2):126–140.
- Çeçen Ö 2014. Çakırdağ'ının (Karaman) Florası. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, 153 sy.
- Çırpıcı A 1989. Murat Dağı (Kütahya-Uşak)'ın Florası. *DOĞA TU Botanik Derg* 13 (2): 157–222.
- Daşkın R, Kaynak G 2010 a. Vascular flora of the Uludag Mt (Bursa, Turkey)I. *Phytologia Balcanica* 16(3): 369–384.
- Daşkın R, Kaynak G 2010 b. Vascular flora of the Uludag Mt (Bursa, Turkey)II. *Phytologia Balcanica* 16(3): 385–411.
- Daşkın R, Kaynak G 2011. Conservation status of five endemic species distributed in Northwest Turkey. *Phytologia Balcanica* 17(2): 213–219.
- Davis PH 1965-1985. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Volume 1-9, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- Davis, PH, Mill RR, Tan K 1988. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Volume 10, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- Dirmenci T 2006. Gölcük (Dursunbey, Balıkesir) Florası Üzerine Bir Çalışma, *Ot Sistematik Botanik Dergisi* 13(1): 97–124.
- Ekim T, Koyuncu M, Vural M, Duman H, Aytaç Z, Adıgüzel N 2000. *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Eğreltiler ve Tohumlu Bitkiler)*, Türkiye Doğa

- Koruma Birliği, Barışcan Ofset, Ankara.
- Erdoğan E, Kaynak G, Daşkın R, Yılmaz Ö 2011. The Vascular Flora of Katırlı Mountain (Bursa, Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 4(1):148–170.
- Günay Daşkın R, Kaynak G 2006. Bursa Şehir Florası. *Ot Sistematik Botanik Derg* 13(1): 125–158.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC 2000. Flora of Turkey and the East Agean Islands, Volume 11 (Supplement 2), Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler), Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları Flora Dizisi 1, İstanbul, 1290 s.
- Güner Ö, Akçiçek E 2013. Ulus Dağı'nın Florası (Balıkesir/Türkiye). *Biological Diversity and Conservation* 6(1): 101–113.
- Malyer H, Daşkın R, Bağcıvan G 2016. Sadağı Kanyonu Tabiat Parkı Biyolojik Çeşitlilik Kitabı, Flora ve Vejetasyon, Orman ve Su İşleri Bakanlığı, II. Bölge Müdürlüğü Bursa Şube Müdürlüğü, Seçil Ofset, Bursa, s. 31–201.
- Raunkiaer C 1934. *The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography*. Oxford University Press, London.
- Seçmen Ö, Leblebici E 2008. Türkiye Sulak Alan Bitkileri ve Bitki Örtüsü. Ege Üniversitesi Yayınları, Fen Fakültesi, Yayın No: 158 (2.Baskı), İzmir.

The Anatomical Characteristics of Endemic *Aethionema dumanii* Vural & Adıgüzel (Brassicaceae)

Hüseyin DURAL¹, Burcu Yılmaz ÇITAK^{2*}

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya

¹<https://orcid.org/0000-0002-5579-5037>, ²<https://orcid.org/0000-0003-3703-7731>

✉: burcuylmaz@selcuk.edu.tr

ABSTRACT

The present study deals with the anatomical properties of *Aethionema dumanii*, which is an endemic species growing in Salt Lake (Konya). The stem cross-sections have a single-layered epidermis, parenchymatous cortex, vascular bundles, and pith cells. An equifacial mesophyll type was observed in the leaves with multiple-layered palisade tissue, but the spongy parenchyma was reduced. Vascular bundles were smaller. The cross-sections of fruit had single exocarp, 3- or 4-layered mesocarp, and single-layered endocarp. Transverse sections of the seed showed an epidermis, palisade tissue, endosperm, and embryo. The anatomical characteristics of *A. dumanii* has been found to have valuable taxonomic importance.

Research Article

Article History

Received : 05.11.2019

Accepted : 27.12.2019

Keywords

Aethionema dumanii

Anatomy

Cruciferae

Fruit

Seed

Endemik *Aethionema dumanii* Vural & Adıgüzel'in (Brassicaceae) Anatomik Özellikleri

ÖZET

Bu çalışma, Tuz Gölü'nde yayılış gösteren endemik tür *Aethionema dumanii*'nin anatomik özelliklerini ele almaktadır. Gövde enine kesitleri, tek tabakalı epidermis, parankimatik korteks, iletim demetleri ve öz hücrelerine sahiptir. Yapraklarda, çok tabakalı palizat parankimasına karşın sünger parankiması indirgenmiş ekvifasiyal tip mezofil gözlemlenmiştir. İletim demetleri küçüktür. Meyve enine kesitleri tek bir ekzokarp, 3 ya da 4 tabakalı mezokarp ve tek tabakalı endokarpa sahiptir. Tohum enine kesitleri bir epidermis, palizat dokusu, endosperm ve embriyodan oluşmaktadır. *A. dumanii*'nin anatomik karakterlerinin taksonomik önemi olduğu belirlenmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 05.11.2019

Kabul Tarihi : 27.12.2019

Anahtar Kelimeler

Aethionema dumanii

Anatomi

Cruciferae

Meyve

Tohum

To Cite : Dural H, Çitak BY 2020. The Anatomical Characteristics of Endemic *Aethionema dumanii* Vural & Adıgüzel (Brassicaceae). KSU J. Agric Nat 23 (2): 435-440. DOI: 10.18016/ksutarimdog.v23i51816.643079.

INTRODUCTION

The family Brassicaceae is represented by 321 genera and about 3660 species worldwide, and at such high numbers, it is known as a significant dicot family (Al-Shehbaz, 2012). In Turkey, the list of this family is composed of 91 genera and 686 taxa (Güner et al. 2012). The major distribution centres of the family are the Mediterranean, Irano-Turanian, and Saharo-Sindian regions (Hedge, 1976). Turkey is one of the richest countries in this respect, with 653 native species belonging to 61 genera in the family Brassicaceae (Al-Shehbaz et al. 2007).

The genus *Aethionema* W.T. Aiton is represented by about 43 taxa in Turkey, including 20 endemic species (Ertuğrul, 2012). Hence, the endemism rate for this genus is approximately 47%.

Turkish *Aethionema* species have been the subject of different research areas such as palynology, seed

micromorphology, and molecular studies (Pınar et al., 2007; Sunar et al., 2016; Karaismailoğlu, 2017; Çeter et al., 2018). Little known about the vegetative organs and anatomical traits of the genus *Aethionema* (Atçeken et al., 2016; Karaismailoğlu, 2019). *Aethionema dumanii* is a perennial, dwarf, and endemic plant that only grows in salty areas. There have been no anatomical studies about this halophytic species.

In this study, *A. dumanii* endemic plant, which is only known from Salt Lake, were evaluated using their anatomical characteristics, both vegetative organs, fruit, and seeds.

MATERIAL and METHODS

The plant materials were collected from Salt Lake in the province of Konya. Some were prepared according to standard herbarium techniques, while others were placed into 70% ethyl alcohol. The paraffin method was

used for the vegetative organs, fruit and seed of the studied taxa for cross-sections (Johansen, 1940). 5 plant samples were used and the experiments were done at least 3 times. The vegetative and generative organs of the species were cut into small pieces. Next, they were treated through an increasing alcohol series to remove the water from the tissues. As the next step, a portion of paraffin was added to small glass flasks. The paraffin blocks were made and 12–16-µm-thick transverse sections were cut using a Leica microtome with disposable blades. The safranin-fast green were used for dying anatomical sections. Under a light microscope (Leica DM 1000), the best sections were chosen and photographed at magnifications of 10x, 20x, and 40x. The measurements, which were made with the Kameram 21 software programme, were based on at least 30 or more cells per specimen. The mean values of the measurements of all of the investigated taxa were given (Table 1). If the paraffin method was unsuccessful, cross-sections were taken by hand using a razor blade. Permanent slides were observed under a Leica DM 1000 light microscope (LM). Measurements were made using the Kameram 21 programme and photos were taken with a Canon EOS 450D camera that was attached to the LM. The stomata were classified based on the criteria of Metcalfe and Chalk (1954).

RESULTS

Stem anatomy

Four main anatomical regions were determined in the cross-sections of the stems. These layers could be counted from the peripheral to the centre, as the epidermis, cortex, vascular bundles, and pith regions (Figure 1-A). The outermost surface of the stems was limited to rectangular-shaped epidermis cells with

8.47-12.08 × 12.03-25.05 µm (Table 1). Ten or 11 rows of cortex cells, which were parenchymatous, followed the epidermis towards the centre and their shape is defined as oval. The single-lined vascular bundles were composed of the xylem and phloem with sclerenchyma above them and they are well-developed. The pith region was fully filled with oval-shaped parenchymatous cells and their size were measured as 35.7×70.8 µm (Figure 1-B).

Leaf anatomy

The cross-sections of the leaves of the studied species had 2 epidermis with mesophyll tissue and their shapes were determined as rectangular-oval (Figure 2). The mesophyll was equifacial and composed of 4 or 5 rows of palisade and reduced spongy parenchyma cells. The vascular bundles of the leaf were arranged in a single line and the median one is the biggest. The other vascular bundles were smaller than the median one.

The leaves of *A.dumanii* are amphistomatic and the stomata was observed as anizocytic type according to with the level of epidermis (Figure 3). The shapes of epidermis cells are irregular or polygonal. The cell walls of epidermis cells are smooth (Figure 3-A,B). The stomatal index in upper surface was calculated as 33.3 and, 29.3 in lower surface and the ratio of stomata index 1.13.

Fruit anatomy

The transverse sections of the fruit were triangular-shaped and the pericarp was composed of a lined exocarp, 3 or 4 rows of mesocarp, and a single-layered endocarp (Figure 4-A). The vascular bundle was located in the endocarp layer (Figure 4-B).

Table 1. The anatomical cell measurements of *Aethionema dumanii* (µm)

Tablo 1. *Aethionema dumanii*'nin anatomik hücre ölçümleri (µm)

		Width			Length		
		Min	Max	Mean±SD	Min	Max	Mean±SD
Stem	Cuticle	8.16	9.79	8.92±0.82			
	Epidermis	12.03	25.05	18.02±4.8	8.47	12.08	9.83±1.36
	Collenchyma	4.45	17.11	10.67±3.04	-	-	-
	Cortex	32.41	44.99	37.16±3.3			
	Trachea	16.29	31.87	24.79±5.6	-	-	-
	Pith cells	35.7	70.8	59.02±10.12	-	-	-
Leaf	Upper cuticle	3.63	5.52	4.3±0.62	-	-	-
	Lower cuticle	2.3	6.3	3.87±1.32	-	-	-
	Palisade cells	18.36	41.4	25.7±5.7	40.82	112.7	76.6±19.5
	Spongy cells	41.22	84.94	57.0±14.4	-	-	-
	Thickness of mesophyll	457.1	901.8	675.7±155.1	-	-	-
	Upper epidermis	22.3	62.8	44.3±14.4	18.9	27.1	21.9±2.87
	Lower epidermis	21.8	63.2	37.82±10.4	14.78	27.76	22.5±4.1
Fruit	Pericarp thickness	132.1	188.5	157.8±24.1			
Seed	Testa thickness	86.34	130.4	103.2±16.4			

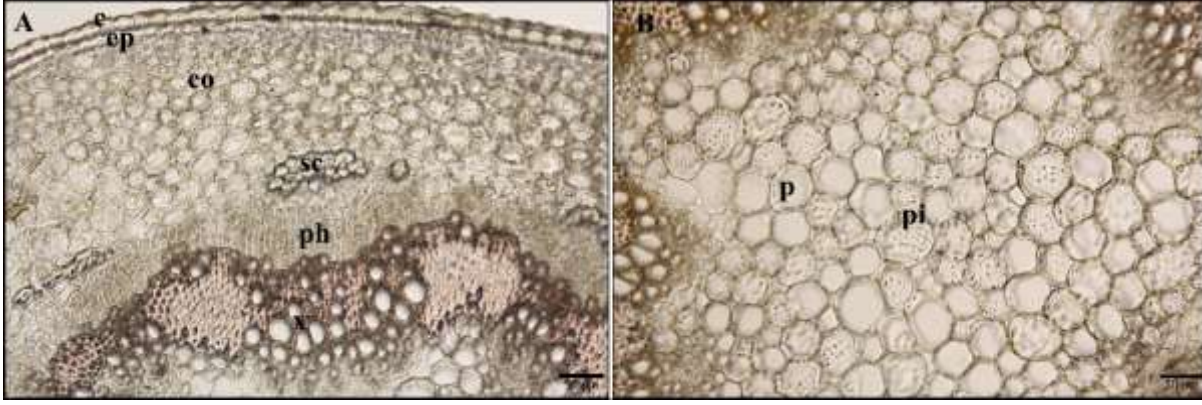


Figure 1. The cross sections of stem of *Aethionema dumanii*. **A**. **c**: cuticle, **ep**: epidermis, **co**: cortex parenchyma, **sc**: sclerenchyma, **ph**: phloem, **x**: xylem **B**. **p**: pith cell, **pi**: pith region

Şekil 1. *Aethionema dumanii* gövde enine kesitleri. **A**. **c**: kutikula, **ep**: epidermis, **co**: korteks parenkiması, **sc**: sklerenkima, **ph**: floem, **x**: ksilem **B**. **p**: öz hücresi, **pi**: öz bölgesi

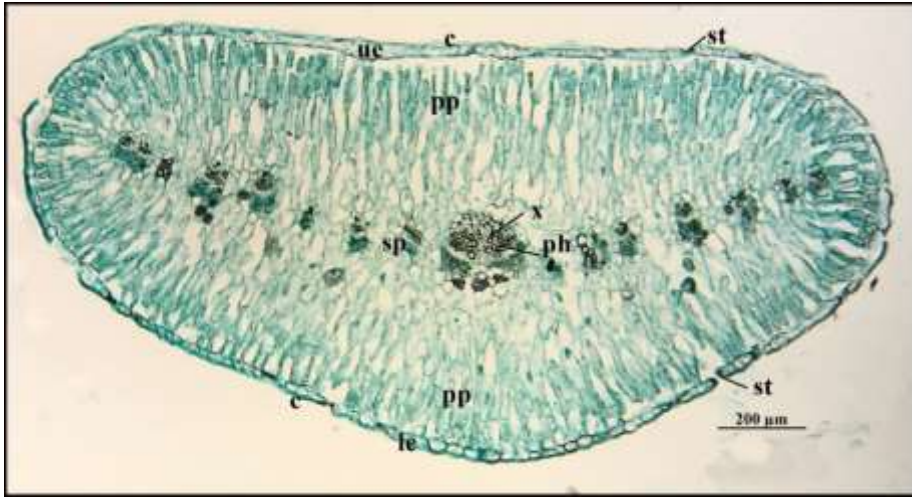


Figure 2. The cross section of leaf of *Aethionema dumanii*, **c**: cuticle, **ue**: upper epidermis, **le**: lower epidermis, **pp**: palisade parenchyma, **sp**: spongy parenchyma, **x**: xylem, **ph**: phloem, **st**: stomata.

Şekil 2. *Aethionema dumanii* yaprak enine kesitleri **c**: kutikula, **ue**: üst epidermis, **le**: alt epidermis, **pp**: palizat parenkiması, **sp**: sünger parenkiması, **x**: ksilem, **ph**: floem, **st**: stoma

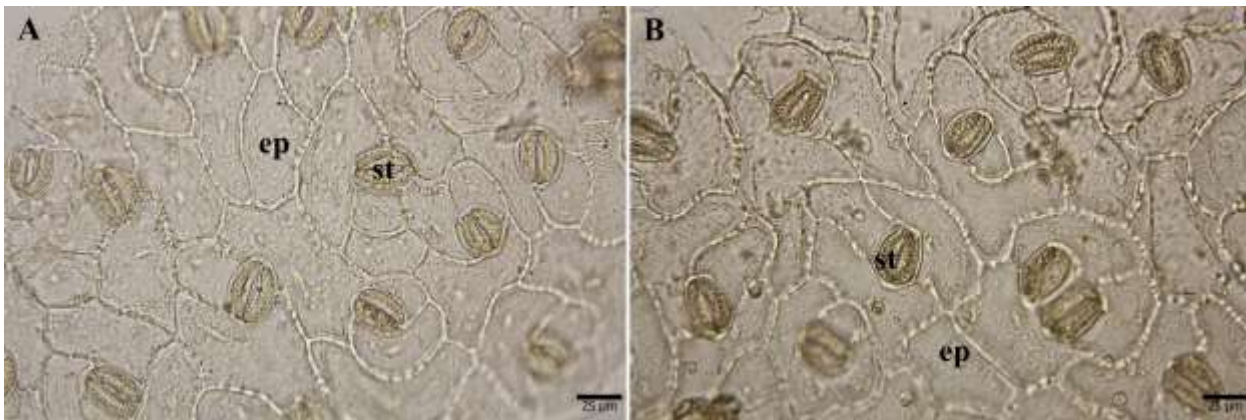


Figure 3. The surface sections of leaf of *Aethionema dumanii*. **a**. Upper surface, **b**. Lower surface. **ep**: epidermis, **st**: stomata

Şekil 3. *Aethionema dumanii* yaprak yüzeysel kesitleri. **a**. Üst yüzey, **b**. Alt yüzey. **ep**: epidermis, **st**: stoma

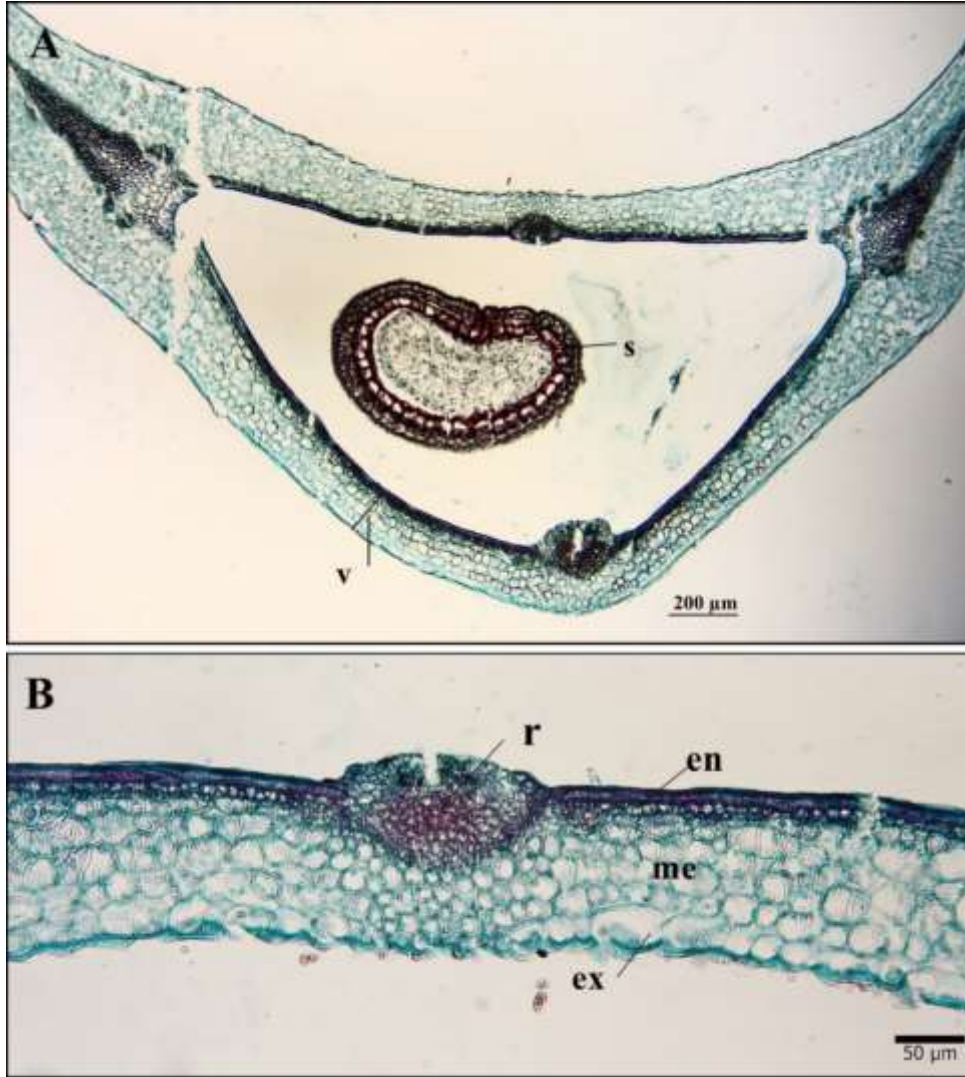


Figure 4. The cross sections of fruit of *Aethionema dumanii*. A. v: fruit valve, s: seed B. en: endocarp layer, me: mesocarp layer, ex: exocarp layer, r: replum.

Şekil 4. *Aethionema dumanii* meyve enine kesitleri. A. v: meyve valfi, s: tohum B. en: endokarp tabakası, me: mezokarp tabakası, ex: ekzokarp tabakası, r: replum

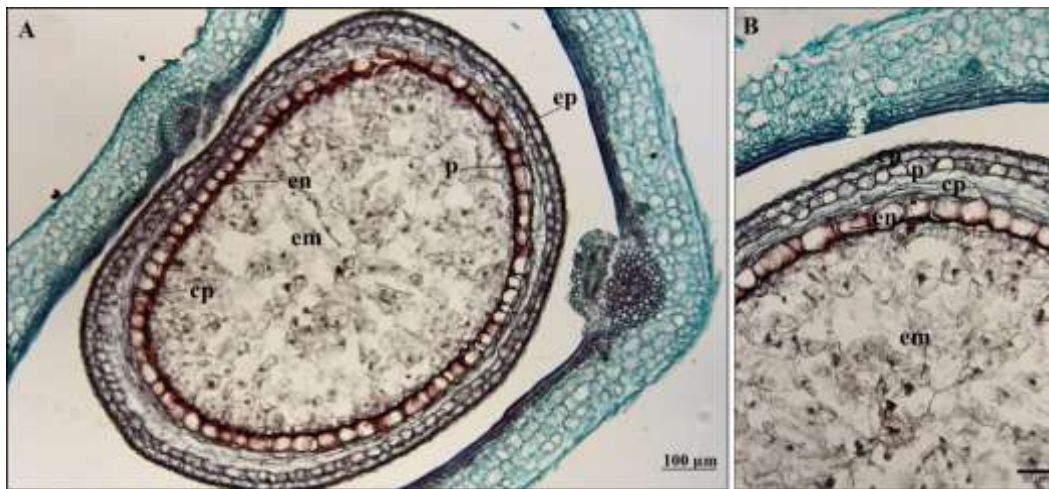


Figure 5. A. The general view of seed transverse sections ep: epidermis, cp: crushed palisade cells, p: single layered palisade tissue, en: endosperm layer, em: embryo. B. close view of seed layers.

Şekil 5. A. Tohum enine kesitlerinin genel görünümü ep: epidermis, cp: parçalanmış palizat hücreleri, p: tek tabakalı palizat dokusu, en: endosperm tabakası, em: embriyo. B. Tohum katmanlarının yakın görünümü

Seed anatomy

The cross-sections of the seed determined the integuments, endosperm, and embryo (Figure 5-A). The seed cross-sections showed that there was a single-layered epidermis. Single-layered palisade tissue was under the epidermis, as well as crushed palisade tissue. The endosperm layer was composed of rectangular-oval-shaped cells (Figure 5-B). The embryo was present in the seeds.

DISCUSSION and CONCLUSION

The present work is the first report about the anatomical traits of the vegetative organs, fruit, and seeds of *A. dumanii* in the family Brassicaceae. Investigations conducted regarding the anatomical traits of the genus *Aethionema* are little-known (Atçeken et al., 2016, Karaismailoğlu, 2019). The epidermis in the stem was similarly shaped, but they were different with regards to the number of layers. *A. dumanii* had a single-lined epidermis, similar to *A. arabicum* and *A. karamanicum* (Atçeken et al., 2016). However, some *Aethionema* taxa (*A. cordatum* and *A. armenum*) have a 2- or 3-rowed epidermis in their stem anatomy (Atçeken et al., 2016). The cortex was parenchymatous, and sclerenchymatic groups were placed above the vascular bundles in *A. dumanii*. Atçeken et al. (2016) declared that *A. karamanicum* and *A. armenum* had sclerenchyma above the vascular bundles, but that was not present in *A. arabicum* and *A. cordatum*. Unifacial and equifacial mesophyll in the genus *Aethionema* were reported by Atçeken et al. (2016). According, in our study, *A. dumanii* had equifacial mesophyll in its leaf anatomy. Moreover, the palisade parenchyma was well-developed in the leaves of *A. dumanii* and increasing palisade tissue occurred in the habitat (salty soils) of *A. dumanii*.

The fruit and seed anatomical properties contained essential information about the taxonomy of the family Brassicaceae (Mummenhoff et al., 2008; Mühlhausen et al., 2010; Lenser et al., 2016). In many Brassicaceae species, a living endosperm layer around the embryo plays an essential role in the regulation of the germination and dormancy of the seeds (Müller et al. 2006; Graeber et al. 2012). *A. dumanii* had a single-lined endosperm layer around the embryo, as Lenser et al. (2016) reported with *A. arabicum*.

Although the epidermis of testa in *A. dumanii* is single layered Karaismailoğlu (2019) had declared that testal epidermis in the examined *Aethionema* taxa is sclerenchymatic and consists of two layers including outer and inner epidermis. The outer epidermis indicated markedly variations among the examined taxa. The same researcher indicated that the testa thickness could be change in great variation for *Aethionema* genus. *A. dumanii* has 103.2 µm testa thickness in seed congruent with Karaismailoğlu

(2019)'s study. Anatomical characteristics might be useful in the definition of *A. dumanii*. Nevertheless, these characteristics will be more valuable if other species of *Aethionema* are also examined. In conclusion, *A. dumanii* was studied in the present work and the anatomical characteristics of stem, leaf, fruit and seed were determined for the first time.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Selçuk University Financial Unit (Project number: 18701219).

REFERENCES

- Al-Shehbaz IA 2012. A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae). *Taxon*, 61: 931-954.
- Al-Shehbaz IA, Mutlu B, Dönmez AA 2007. The Brassicaceae (Cruciferae) of Turkey, updated. *Turkish Journal of Botany*, 31: 327-336.
- Atçeken MM, Dural H, Çıtak BY 2016. The morphological, anatomical and palynological investigations on some taxa of genus *Aethionema* AT Waiton (Brassicaceae). *Biodicon*, 9: 55-68.
- Çeter T, Geven F, Şahin AA, Çeter S 2018. Examination of Pollen Morphology Of Some *Aethionema* (Brassicaceae), From Turkey. *Commun. Fac. Sci. Univ. Ank. Series C*, 27: 11-24.
- Ertuğrul K 2012. *Aethionema* Aiton. (Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler), Nezahet Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul) 246-248.
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT 2012. Türkiye Bitkileri Listesi: (Damarlı bitkiler). Nezahet Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Graeber K, Nakabayashi K, Miatton E, Leubner-Metzger G, Soppe WJJ 2012. Molecular mechanisms of seed dormancy. *Plant Cell Environ*, 35: 1769-1786.
- Hedge IC 1976. A systematic and geographical survey of the Old World Cruciferae. In: MacLeod AJ, Jones BMG, editors. *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*. London, New York & San Francisco: Academic Press, pp. 1-45.
- Johansen DA 1940. *Plant microtechnique*, London: McGraw-Hill Book Company.
- Karaismailoğlu C 2017. Palynological features of eleven *Aethionema* taxa from Turkey and their systematic implications. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*, 25: 123-133.
- Karaismailoğlu C 2019. Comparative morphology and anatomy of seeds of some *Aethionema* W.T. Aiton (Brassicaceae) taxa from Turkey. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*, 26: 1-12.
- Lenner T, Graeber K, Çevik ÖS, Adıgüzel N, Dönmez AA, Grosche C, Kettermann M, Mayland-Quellhorst S, Mérai Z, Mohammadin S, Nguyen T, Rümpler F, Schulze C, Sperber K, Steinbrecher T,

- Wiegand N, Strnad M, Scheid OM, Rensing SA, Schranz ME, Theißen G, Mummenhoff K, Leubner-Metzger G. 2016. Developmental control and plasticity of fruit and seed dimorphism in *Aethionema arabicum*. *Plant Physiology*, 172: 1697-1707.
- Mummenhoff K, Polster A, Mühlhausen A, Theißen G. 2008. *Lepidium* as a model system for studying the evolution of fruit development in Brassicaceae. *J Exp Bot.*, 60: 1503-1513.
- Mühlhausen A, Polster A, Theissen G, Mummenhoff K. 2010. Evolution of fruit dehiscence in Brassicaceae: examples from *Aethionema* and *Lepidium*. VI International Symposium on Brassicas and Xviii Crucifer Genetics Workshop. 867: 207-219.
- Müller K, Tintelnot S, Leubner-Metzger G. 2006. Endosperm-limited Brassicaceae seed germination: abscisic acid inhibits embryo-induced endosperm weakening of *Lepidium sativum* (cress) and endosperm rupture of cress and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, 47: 864-877.
- Pınar NM, Bayrak N, Geven F. 2007. Seed coat macrosculpturing in some Turkish *Aethionema* R. Br. (Brassicaceae). *Pak. J. Bot.*, 39: 1025-1036.
- Sunar S, Yıldırım N, Şengül M, Agar G. 2016. Genetic diversity and relationships detected by ISSR and RAPD analysis among *Aethionema* species growing in Eastern Anatolia (Turkey). *C.R. Biol.*, 339: 147-151.

Türkiye’de Biber Üretimi, Dış Ticareti ve Rekabet Gücü

İsmail GÜVENÇ

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitkileri Bölümü, Kahramanmaraş
https://orcid.org/0000-0002-4686-9487

✉: guvencis46@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada Türkiye sebzeçiliğinde önemli bir yere sahip olan biber üretimi, dış ticareti ve rekabet gücü incelenmiştir. Türkiye’de 2.7 milyon ton civarında biber (taze ve kuru) üretilmektedir. 2017 verilerine göre Dünya taze biber üretiminin % 7.23’ü Türkiye’de üretilmiştir. Son yıllarda Türkiye’nin toplam biber ihracatı 97.31 bin ton; ithalatı ise 251 ton kadardır. Türkiye’nin biberde rekabet gücü (karşılaştırmalı üstünlüğü) 2012-2015 döneminde zayıf iken, 2016 döneminde ise orta derecede (2.039) bir rekabet gücünün olduğu tespit edilmiştir. Türkiye’nin biber üretiminde alacağı önlemlerle üretim, yeterlilik, ihracatta rekabet gücünü artırması mümkündür.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 23.07.2019

Kabul Tarihi : 27.09.2019

Anahtar Kelimeler

Biber

Üretim

İhracat

Rekabet gücü

The Production, Foreign Trade and Comparative Advantages of Peppers in Turkey

ABSTRACT

In this study, the production, foreign trade and comparative advantages of peppers, which has a significant value in Turkey, was evaluated. Pepper is produced about 2.7 million tons (dry or green) in Turkey. According to 2017 data, Turkey has 7.23 % of total pepper world production. In recent years, peppers exports and imports in Turkey were respectively 97.31 thousand tons and 251 tons. While Turkey's comparative advantages in peppers were weak during the period of 2012-2015, levels of competitiveness was medium (2,039) in 2016. Therefore, it is possible to increase production, qualification, and comparative advantages in export by means of the measures taken in peppers.

Research Article

Article History

Received : 23.07.2019

Accepted : 27.09.2019

Keywords

Peppers

Production

Export

Comparative advantages

To Cite : Güvenç İ 2019. Türkiye’de Biber Üretimi, Dış Ticareti ve Rekabet Gücü. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 23 (2): 441-445. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.595512.

GİRİŞ

Biber (*Capsicum annuum L.*) Türkiye’de yaygın olarak üretilen sebzelerde biri olup farklı varyeteleri bulunmaktadır. Biberin olgunlaşmamış veya olgun meyveleri taze veya işlenmiş (biber salçası, baharat veya turşu) olarak tüketilmektedir. 2018 yılı verilerine göre Türkiye’de 2.782.354 ton biber üretimi vardır. Bu üretimin % 8,17’ini kuru biber; % 91.83’ünü ise taze biber üretimi meydana getirmektedir. (Anonim, 2018). Bu veriler Türkiye’de biberin taze tüketimi yanında işlenerek mamul ürün olarak değerlendirilmesinin de önemli olduğunu göstermektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde toplam biber üretiminin % 48.61’lik kısmının sanayiye işlenen (kuru ve taze salçalık) biberlerin oluşturduğunu söylemek mümkündür. Biber Ege, Marmara ve güney illerimizde biber salçası, kurutmalık veya toz/pul kırmızıbiber (baharat) üretiminde yetiştiricilik ve işleme aşamalarında yoğun insan emeğine ihtiyaç duyulması nedeniyle önemli bir istihdam kaynağıdır (Güvenç 2017). Önemli biber üretici illerimiz arasında,

Bursa, Samsun, İzmir, Hatay, Gaziantep, Kilis ve Kahramanmaraş yer almaktadır.

Türkiye’de sebze üretimi ve iç ve dış pazarlarda değerlendirme durumu önceki çalışmalarda da incelenmiştir (Alan ve Güvenç 1992; Güvenç ve Alan, 1994a ve b; Kaymak vd., 2005; Güvenç ve Kaymak, 2008). Bu incelemelerde ortaya konan ve günümüzde de geçerli olan durum üretilen sebzenin tamamının iç pazarlarda değerlendiril(e)memesidir. Bu nedenle sebzelerin üretiminin yanı sıra pazarlanmasında da özellikle dış ticaret imkânları önemlidir.

Türkiye’nin, geleneksel ihraç tarım ürünlerinin çoğunda (incir, kuru üzüm, fındık, fıstık ve kuru kayısı) karşılaştırmalı üstünlüğünün var olduğu bildirilmiştir (Erkan, 2012). Ancak Türkiye’de üretilen sebze türlerinin Türkiye’nin sebze ihracatındaki uluslararası rekabet gücünü ifade eden karşılaştırmalı üstünlüklerini (uluslararası rekabet gücünü) ortaya koyan araştırma sayısı oldukça sınırlıdır. Türkiye’nin üretim ve ihracatına ağırlık verme(me)si önerilen bazı

sebze ürünleri; 1993-2012 dönemini kapsayan bir araştırma ile karşılaştırmalı üstünlükler teorisi ve en uygun kaynak tahsisi yöntemleri doğrultusunda belirlenmiştir (Erkan ve ark., 2015). Farklı ülkelerin sebze ihracatında durumunu ortaya koymak için yapılan çalışmalarda Macaristan'ın karşılaştırmalı üstünlüğe sahip olduğu (Fertő ve Hubbard 2001); Slovenya'nın ise karşılaştırmalı üstünlüğünün olmadığı (Bojnec ve Fertő 2006) belirlenmiştir.

Biberde ihracat ve rekabet gücünü inceleyen çalışmaların oldukça sınırlı olması konunun ayrıntılı incelenmesini zorunlu kılmaktadır. Bu nedenlerle bu incelemede Türkiye'de işlenmiş ve taze olarak değerlendirilen önemli bir sebze olan biberin üretimi, dış ticareti ve rekabet gücü değerlendirilmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Türkiye'nin biber üretimi, rekabet gücü ve dış ticaret durumunu tespit edilmesi amacıyla Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO/FAOSTAT: Anonymous 2019) istatistikleri kullanılmıştır. Çalışmada Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK: Anon., 2018) ile Tarım ve Orman Bakanlığı Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü'nün (BÜGEM)/(Anon., 2019) ilgili verilerinden de yararlanılmıştır.

TÜİK veri tabanında üretim ile ilgili kullanılan biber istatistikleri şu isim ve kodlar ile yer almaktadır: Biber-kuru, işlenmemiş (01.28.12.00.00.); biber-salçalık, kapyra (01.13.31.00.01.); biber-dolmalık (01.13.31.00.02.); biber-sivri (01.13.31.00.03.); biber-çarliston (01.13.31.00.04.). TÜİK veri tabanında bu kodlu verilerin toplamı FAOSTAT istatistiklerinde taze biber (Chillies and peppers, green) verileri ile uyumludur.

Çalışmada Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) 401 ürün kodlu (Item Code) taze biber (Chillies and peppers, green) istatistikleri de kullanılmıştır. Taze bibere ait bu koddaki Dünya (Area Code 5000) ve Türkiye'nin (Area Code 223); ihracat (Element Code 5910) ve ithalatı miktarı (Element Code 5610) ve rekabet katsayısını hesaplamak için ihracat değerlerine (Element Code 5922) ait veriler kullanılmıştır.

Karşılaştırmalı Üstünlük Katsayısı: Balassa'nın Açıklanmış Karşılaştırmalı Üstünlük (AKÜ) katsayısı (Balassa Endeksi), karşılaştırmalı üstünlükleri ticaret sonrası verilere dayalı olarak ölçmektedir. Ülkenin belli mallarda (sektörlerde) karşılaştırmalı üstünlüğe sahip olup olmadığını ortaya koymaya çalışan Balassa Endeksi; herhangi bir malın (sektörün) ülkenin toplam ihracatındaki payının, söz konusu malın (sektörün) dünyanın (ya da bölgenin) toplam ihracatındaki payına oranını ifade eder. Diğer bir ifadeyle Balassa Endeksi; ülkenin bir maldaki (sektördeki) yurtiçi uzmanlaşmasını (AKÜ endeksinin payı), dünyanın (ya

da bölgenin) uzmanlaşmasıyla karşılaştırır (Bashimov, 2016). Daha açık bir anlatımla açıklanmış karşılaştırmalı üstünlükler katsayısının (AKÜ endeksi) pay kısmı, malın (sektörün) ulusal ihracattaki payını (%); payda kısmı ise, söz konusu malın (sektörün) dünya toplam ihracatındaki payını temsil etmektedir (Mykhnenko, 2005; Erkan ve ark., 2015; Bashimov, 2016).

Rekabet gücünü göstermek amacıyla Balassa'nın AKÜ katsayısını 4 aşamada sınıflandırmaktadır (Hinloopen, ve Marrewijk, 2001): (1)- Rekabet gücü yoktur: $0 < AKÜ \leq 1$; (2)- Zayıf bir rekabet gücü vardır: $1 < AKÜ \leq 2$; (3)- Orta derecede rekabet gücü vardır: $-2 < AKÜ \leq 4$; (4)- Güçlü bir rekabet gücü vardır: $4 < AKÜ$. Herhangi bir tarımsal ürünün açıklanmış karşılaştırmalı üstünlük katsayısının 1'den büyük olması, incelenen ülkenin belirli bir dönemde incelenen ürünün ihracat payının, aynı dönemde toplam dünya ihracatındaki payından büyük olduğunu ifade etmektedir (Bashimov, 2016). Diğer bir ifadeyle, ülke söz konusu tarımsal ürün ihracatında rekabet gücüne sahiptir ve uzmanlaşmıştır.

Söz konusu endekse göre; $\ln AKÜ_{jkt} > 0$ ise Ülke tarım ürünü ihracatında uzmanlaşmıştır ve ülkenin söz konusu üründe ticaret performansı yüksektir (Erkan ark., 2015).

Çalışmada kurumların veri tabanlarından elde edilen veriler EXCEL programından yararlanarak ihtiyaç duyulan yüzde (%) ve toplama gibi hesaplamalar yapılmıştır. AKÜ katsayısının belirlenmesinde önceki araştırmacıların hesaplama tekniklerinden yararlanılmıştır (Erkan ve ark., 2015; Bashimov, 2016).

BULGULAR

Üretim

2004-2017 döneminde Dünya ve Türkiye'deki taze biber üretimindeki değişim Çizelge 1'de verilmiştir. Dünya biber üretimi 2004'de 24.6 milyon ton iken % 46.56 oranında artarak 2017'de 36.09 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Türkiye dünya taze biber üretiminde % 7.23'lük bir paya sahiptir. Türkiye biber üretimi 2004'de 1.7 milyon ton iken 2017'de 2.60 milyon tona yükselmiştir. Türkiye'nin biber üretimi incelenen 2004-2017 döneminde toplamda düzenli olarak artmıştır. Nitekim 2004 üretimine göre 2017'de artış oranı % 53.42'dir. Bu artış nüfus artışının da üzerindedir. Şöyle ki Türkiye nüfusunun 2005 yılına göre (67.7 milyon) % 19.09 artışla 2018 yılında 82.0 milyon olduğu belirlenmiştir. Türkiye'nin nüfus artış hızı dikkate alındığında fert başına düşen biber üretimindeki artış toplam biber üretimindeki artıştan daha azdır. Nitekim taze biber üretimi 2005 yılında fert başına 26-27 kg kadar iken 2018 yılında % 27.74 artışla 33-34 kg'a yükseldiği belirlenmiştir (Çizelge 2 ve 3).

Çizelge 1. 2004- 2017 döneminde Dünya ve Türkiye’de biber üretimi.

Table 1. Production of peppers for the World and Turkey in 2004- 2017.

Yıl Years	Dünya (Ton) The World (Tone)	Değişim (%) Changing (%)	Türkiye (Ton) Turkey (tone)	Değişim (%) Changing (%)	Pay (%) Ratio %
2004	24.626.357	100.00	1.700.000	100.00	6.90
2005	25.353.715	102.95	1.829000	107.59	7.21
2006	26.700.847	108.42	1.842.175	108.36	6.90
2007	27.427.243	111.37	1.757.226	103.37	6.41
2008	28.114.953	114.17	1.796.177	105.66	6.39
2009	28.760.193	116.79	1.837.003	108.06	6.39
2010	29.680.830	120.52	1.986.700	116.86	6.69
2011	30.255.631	122.86	1.975.269	116.19	6.53
2012	30.961.594	125.73	2.042.360	120.14	6.60
2013	31.268.030	126.97	2.159.348	127.02	6.91
2014	32.126.171	130.45	2.127.944	125.17	6.62
2015	33.177.009	134.72	2.191.888	128,93	6.61
2016	34.592.680	140,47	2.457.822	144.58	7.11
2017	36.092.631	146.56	2.608.172	153.42	7.23

Kaynak: FAOSTAT Veri tabanından yararlanılarak hazırlanmıştır (Anonymous 2019).

Çizelge 2. Türkiye’de 2004-2018 döneminde biber üretim miktarı (Ton/Yıl).

Table 2. Quantity of production of peppers for Turkey in 2004- 2018.

Yıl Years	Biber, Kuru Peppers, dry	Salçalık, Kapya Capia peppers	Biber Dolmalık Peppers, bell	Biber, Sivri Long green peppers	Biber Çarliston Sweet peppers
2004	30.000	615.000	375.000	710.000	-
2005	45.000	685.000	400.000	744.000	-
2006	45.861	673.981	392.617	775.577	-
2007	67.213	674.788	357.246	725.192	-
2008	60.000	690.531	371.050	734.596	-
2009	196.900	700.038	384.273	752.692	-
2010	186.272	782.173	387.626	816.901	-
2011	162.125	730.493	364.930	879.846	-
2012	165.527	748.422	383.213	910.725	-
2013	198.636	814.372	398.470	946.506	-
2014	186.291	829.809	391.009	907.126	104.364
2015	204.131	879.775	393.109	919.004	115.568
2016	228.531	957.030	418.435	967.466	114.891
2017	179.264	1.107.713	420.904	945.361	134.194
2018	227.380	1.128.060	397.175	930.349	99.390
Pay-2018 (%)	8,17	40,54	14,27	33,44	3,57

Kaynak: TÜİK veri tabanından yararlanılarak hazırlanmıştır (Anon., 2018).

Türkiye’nin biber üretiminin kuru ve taze üretim olarak dağılımı Çizelge 2’de sunulmuştur. Taze biber üretimi salçalık, dolmalık, sivri ve çarliston olarak ayrılmaktadır. Türkiye’de 2018 yılı verilerine göre toplam 2.782.354 ton biber üretimi vardır. Bu yılın verilere göre miktar olarak üretimin % 8.17’ini kuru biber üretimin oluştururken taze biber üretimi % 91.83’lük bir paya sahiptir. Başka bir açıdan ise sanayiye işlenen (kuru ve salçalık) biber üretimi ise % 48.61’lik bir paya sahiptir. Bu veriler biberin taze tüketimi yanında işlenerek mamul ürün olarak önemini de göstermektedir.

Dış Ticaret

Dünya taze biber dış ticaretinde 3.0-3.0 milyon ton kadar bir ürün ihracatı veya ithalatı söz konusudur (Çizelge 4). Türkiye’nin biber ithalatı yıllara göre dalgalı bir durum göstermekle birlikte oldukça düşüktür. Dünya biber ihracatında Türkiye’nin payı 2012’de % 2.39’i iken 2016 yılında % 2.94’dır. Türkiye’nin biber ihracatı incelenen 2012-2016 döneminde artmıştır. Bu verilerde Türkiye’nin biber ihracatında olumlu yönde bir gelişmenin olduğunu göstermektedir. Türkiye ihracatı/ithalatı dengesi bakımında biberde azda olsa ihracat fazlası olan bir ülke konumundadır.

Çizelge 3. Türkiye’de 2004-2018 döneminde nüfus ve biber üretimindeki değişim.

Table 3. Changing of population and peppers production in Turkey in 2004-2018.

Yıl Years	Nüfus Population	Değişim (%) Changing (%)	Biber Üretimi (Kg/Fert) Peppers production (kg/Person)	Değişim (%) Changing (%)
2005	68.860.539	100.00	26.56	100.00
2006	69.729.967	101.26	26.42	99.46
2007	70.586 256	102.51	24.89	93.73
2008	71.517 100	103.86	25.12	94.56
2009	72.561 312	105.37	25.32	95.32
2010	73.722 988	107.06	26.95	101.46
2011	74.724 269	108.52	26.43	99.52
2012	75.627 384	109.83	27.01	101.67
2013	76.667 864	111.34	28.16	106.04
2014	77.695 904	112.83	27.39	103.11
2015	78.741 053	114.35	27.84	104.80
2016	79.814 871	115.91	30.79	115.94
2017	80.810.525	117.35	32.28	121.51
2018	82.003.882	119.09	33.93	127.74

Kaynak: TÜİK veri tabanından yararlanarak hazırlanmıştır (Anon., 2018)

Türkiye’nin biber ihracatı 2012’de 74.9 milyon dolar iken 2016’da 90.0 milyon dolara yükselmiştir (Çizelge 5). Aynı yıllarda Türkiye’nin değer olarak dünya ihracatındaki payı ise sırasıyla % 1.69 ve % 1.82 olarak belirlenmiştir. Türkiye’nin değer olarak dünya ihracatındaki payı miktar olarak ihracatından daha düşüktür. Bu durum dış pazar fiyatlarının irdelenmesini gerektirmektedir.

Rekabet Gücü

Türkiye’nin biberde dış ticaretinde rekabet gücü 2012-2016 döneminde incelenmiştir. Bu dönemde

Türkiye’nin ihracatta rekabet gücü var olup, 2012-2015 döneminde zayıf; 2016’da ise orta derecede rekabet gücünün var olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5). Bu katsayının 1-2 arasında olması zayıf; 2 ile 4 arasında olması ise bir ülkenin orta derecede ihracatında karşılaştırmalı üstünlüğe yani rekabet gücüne sahip olduğunu göstermektedir (Hinloopen, ve Marrewijk 2001). Bu çalışmadan elde edilen bulgular Türkiye’nin rekabet gücünün 2012-2016 döneminde zayıf/orta derecede olsa da var olduğunu ancak 2016 yılında ise orta derecede avantajının olduğunu göstermektedir (Çizelge 5).

Çizelge 4. Dünya ve Türkiye’nin biberde dış ticareti miktarı (Ton/yıl).

Table 4. Quantity of foreign trade of peppers for the World and Turkey (Tones/Year).

Yıl Years	Dünya (The World)		Türkiye (Turkey)		Dünya İhracatında Türkiye’nin Payı (%) Percentage of Turkey in the World export (%)
	İhracatı Export	İthalat Import	İhracatı Export	İthalat Import	
2012	2.918.541	2.880.246	69.727	7	2.39
2013	3.002.741	2.927.073	68.122	1712	2.27
2014	3.369.674	3.097.021	81.568	197	2.42
2015	3.194.784	3.087.808	88.022	67	2.76
2016	3.314.149	3.243.207	97.314	251	2.94

Kaynak: FAOSTAT veri tabanından yararlanarak hazırlanmıştır (Anonymous 2018) .

Çizelge 5. Türkiye’de biberde toplam ihracat değeri ve rekabet katsayısı.

Table 5. Export values and comparative advantages of peppers in Turkey.

Yıl Years	Dünya (1000 dolar) The World (1000 US\$)	Türkiye (1000 dolar) Turkey (1000 US\$)	Türkiye’nin Payı (%) Percentage of Turkey (%)	Rekabet katsayısı Comparative advantages	Üstünlük Derecesi Degree of superiority
2012	4.444.460	74.921	1.69	1.980	Zayıf
2013	4.959.269	82.234	1.66	1.999	Zayıf
2014	4.803.120	79.979	1.67	1.947	Zayıf
2015	4.525.720	77.863	1.72	1.972	Zayıf
2016	4.940.931	90.019	1.82	2.039	Orta

Kaynak: Anonymous 2018 ve Anon., 2018 ve 2019 verilerinden yararlanarak hazırlanmıştır.

SONUÇ

Bu çalışmada Türkiye'nin hem toplamda hem de fert başına düşen biber üretim miktarında düzenli bir artışın olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber biber ihracatında miktar ve değer olarak bir artma vardır. Bu gelişmeler biberde ihracatta rekabet gücünü de etkilemiştir. Nitekim 2012-2015 döneminde ihracatta rekabet gücünün zayıf; 2016 yılında ise rekabet gücünün orta derecede olduğu (avantajının var olduğu) tespit edilmiştir.

Sahip olduğu ekolojik şartlar biber üretimine oldukça uygun olan (Güvenç 2017) Türkiye; bu potansiyelini iç ve dış pazar ihtiyaçlarını karşılamak için daha etkin değerlendirmesi mümkündür. Bu amaçla üretim ve pazarlama aşamalarında girdi maliyetlerinin azaltılması, ambalajlama ve standardizasyon gibi gerekli tedbirler alınmalıdır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarı herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Alan R, Güvenç İ 1992. Türkiye'nin Sebze İhracatına Genel Bir Bakış. Tarımda Kaynak Dergisi, 1 (19-2): 15-17.
- Anonymous 2019. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAOSTAT, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim Tarihi: 11.06.2019).
- Anonim 2018. Bitkisel Üretim İstatistikleri. TÜİK, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001. (Erişim Tarihi: 01.06.2019).
- Anonim 2019. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Tarım ve Ormanlık Bakanlığı Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü (BUGEM), <https://www.tarim.gov.tr/BUGEM/Menu/9/Veriler>. (Erişim Tarihi: 03.04.2019).
- Bashimov G. 2016. Türkiye'nin Domates İhracat Performansı ve Rekabet Gücü. Alinteri Journal of Agriculture Sciences . 31(2): 1-8.
- Bojnec S, Fertó I 2006. Does Comparative Advantages in Agro-Food Trade Matter for Multifunctional Rural Development: The Case of Hungary and Slovenia. Journal of Central European Agriculture, 7 (3): 583-586.
- Erkan B 2012. BRIC Ülkeleri ve Türkiye'nin İhracat Uzmanlaşma ve Rekabet Düzeylerinin Karşılaştırmalı Analizi. Ekonomik ve Sosyal Araştırmalar Dergisi, 8 (1):101-131.
- Erkan B, Arpacı BB, Yaralı F, Güvenç İ 2015. Türkiye'nin Sebze İhracatında Karşılaştırmalı Üstünlükleri. KSÜ Doğa Bil. Dergisi, 18(4): 70-76.
- Fertó I, Hubbardn LJ 2001. Regional Comparative Advantage and Competitiveness in Hungarian AgriFood Sectors. 77th EAAE Seminar / NJF Seminar No. 325, August 17-
- Güvenç I, Kaymak HC 2008. Türkiye'de Sebze Üretimi ve Tüketimindeki Değişme, Gereksinim ve Projeksiyon. Alinteri, 15 (B): 40-45.
- Güvenç İ, 2017. Sebzeçilik: Temel Bilgiler, Muhafaza ve Yetiştiricilik. Nobel Yayınları, S: 288.
- Güvenç İ, Alan R 1994a. Türkiye'nin Avrupa Topluluğu Ülkelerine Sebze İhracatı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25, (1) :94-99.
- Güvenç İ, Alan, R 1994b. Türkiye'nin Orta Doğu Ülkelerine Sebze İhracatı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25 (2): 269-274.
- Hinloopen, J., Marrewijk, C.V. 2001. On the empirical distribution of the Balassa Index. Review of World Economics, Vol: 137, No:1, March 2001, P: 13.
- Kaymak HC, Güvenç İ, Dursun A, 2005. Türkiye'de Sebze Tarımının Mevcut Durumu, Önemli Bazı Gelişmeler ve Çözüm Önerileri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 36, (2): 221-228.
- Mykhnenko, V. 2005. What Type of Capitalism in Eastern Europe? Institutional Structures, Revealed Comparative Advantages and Performance of Poland and Ukraine. Centre for Public Policy for Regions (CPPR) Discussion Paper, No:6, September 2005, p:27.



An Econometric Analysis of Factors Affecting Fish Consumption: The Case of Tekirdag, Turkey

Derya İlkey ABDİKOĞLU¹, Mecit Ömer AZABAĞAOĞLU², Gökhan UNAKITAN³

Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, Agricultural Economics Department, Tekirdağ, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-0273-3323>, ²<https://orcid.org/0000-0002-7745-0574>, ³<https://orcid.org/0000-0002-9824-5975>

✉: deryailkay@nku.edu.tr

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the factors affecting the fish consumption in Tekirdag province. The data were obtained from 270 consumers selected by using random sampling method from 48000 households living in Tekirdag province. Consumers' demographic characteristics were analyzed and responses for preferences about fish consumption habits were discussed. In this study, Factor Analysis was performed to analyze the purchasing behavior of consumers about fish consumption. Factor groups were named as "attitude towards processed and canned products", "conscious purchasing", "opinion about aquaculture", "health benefits", "impact on consumption amount". Factors affecting the amount of fish consumption per capita were explained with Tobit model. Consumer's income, education level and factor groups derived from factor analysis were used as explanatory variables in the model. According to the results conscious purchasing factor, health benefits factor, consumer income and education level have positive effect on fish consumption. As a result of the study, it was observed that the increases in income level and conscious level would increase fish consumption. Based on the result of the Tobit model, in order to increase fish consumption, consumers should be informed about the health benefits of fish.

Research Article

Article History

Received : 23.09.2019

Accepted : 08.11.2019

Keywords

Marketing research

Consumer preferences

Tobit model

Factor analysis

Balık Tüketimini Etkileyen Faktörlerin Ekonometrik Analizi: Tekirdağ İli Örneği

ÖZET

Bu çalışmanın amacı Tekirdağ ilindeki tüketicilerin balık tüketim miktarlarına etki eden faktörlerin belirlenmesidir. Tekirdağ ilinde yaşayan 48000 haneden tesadüfi örnekleme yöntemi kullanılarak seçilen 270 tüketici ile anket uygulaması yapılarak tüketicilerin demografik özellikleri ve balık tüketim alışkanlıkları ile ilgili yargılara verdikleri cevaplar ele alınmıştır. Çalışmada tüketicilerin balık tüketimi ile ilgili satın alma davranışlarını analiz etmek üzere faktör analizi kullanılmıştır. Faktör analizi sonunda elde edilen faktör grupları "işlenmiş ve konserve ürünlere karşı tutum", "bilinçli satın alma", "yetiştiriciliğe bakış", "sağlığa fayda" ve "tüketim miktarına etki" olarak belirlenmiştir. Kişi başı balık tüketim miktarını etkileyen faktörler Tobit model yardımı ile açıklanmıştır. Modelde açıklayıcı değişken olarak tüketici geliri, eğitim durumu ve faktör analizinden elde edilen faktör grupları kullanılmıştır. Analiz sonucuna göre bilinçli satın alma faktörü, sağlığa fayda faktörü, tüketici geliri ve eğitim düzeyi anlamlı bulunmuştur. Çalışma sonucunda, gelir seviyesi ve bilinç düzeyindeki artışın balık tüketimini artıracığı tespit edilmiştir. Tobit modelinin sonuçlarına göre, balık tüketimini artırmak için tüketicilere balıkların sağlığa faydaları hakkında bilgi verilmelidir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 23.09.2019

Kabul Tarihi : 08.11.2019

Anahtar Kelimeler

Pazarlama araştırması

Tüketici tercihleri

Tobit modeli

Faktör analizi

To Cite : Abdikoglu Dİ, Azabağaoğlu MÖ, Unakitan G 2020. An Econometric Analysis of Factors Affecting Fish Consumption: The Case of Tekirdag, Turkey. KSU J. Agric Nat 23 (2): 446-452. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.623343

INTRODUCTION

Since seafood is a healthy protein source, it has an

important place in human nutrition. Fish meat contains high protein and minerals, less oil than other

meats. Because of this, its importance and consumption have been increasing (Sayılı et al., 1999). Worldwide, there is a growing trend from the consumption of red meat to white meat, especially to the fish. Although rapidly increasing population and lack of a balanced diet, seafood, especially fish is not consumed enough in Turkey. This situation about fish consumption should be reviewed and possible solutions should be discussed.

Fish consumption in many countries is seen more important as compared to Turkey. The average fish consumption per capita is 16.89 kg/year in European Union countries and 14.19 kg/year in the world. Despite the known benefits of fish consumption on human health, fish consumption is still not at the desired sufficient level in Turkey. The average fish consumption per capita is 5.58 kg/year in Turkey (FAO, 2018). Referring to the current situation in Turkey, fish consumption is not sufficiently widespread and it is lower than the world average. This situation highlights the fact that the generalization of fish consumption will be very important in terms of healthy and balanced nutrition.

There are numerous studies in the literature related consumers' fish preference according to the characteristics of fish (Sarı et al., 2000; Jaffry et al., 2004; Çolakhoğlu et al., 2006; Şen et al., 2008; Adıgüzel et al., 2009; Brécard et al., 2009; Oğuzhan et al., 2009; Claret et al., 2012; Yeşilsu et al., 2019) and the effects of socioeconomic factors on the fish consumption (Şenol and Saygı, 2001; Olsen, 2003; Arvanitoyannis et al., 2004; Erdal and Esengün, 2008; Burger and Gochfeld, 2009; Aydın et al., 2011; Cosmina et al., 2012; Iton and Hutchinson, 2017; Uzundumlu, 2017; Korir et al., 2018; Terin, 2019). There are also plenty of studies about the factors that are effective on fish consumption preferences by using factor analysis (Honkanen et al., 2005; Verbeke and Vackier, 2005; Pieniak et al., 2010; Altintzoglou et al., 2011; Hall and Amberg, 2013; Birch and Lawley, 2014; Temel and Uzundumlu, 2015; Tomic et al., 2016). Koç and Şahin (2018) discussed the Tobit model in detail and applied the model to fish consumption in Kahramanmaraş, Turkey.

This study is important in terms of determining fish consumption behaviors of consumers living in Tekirdag and determining the reasons affecting fish consumption.

MATERIAL AND METHODS

Material

In this study, data was obtained from consumers living in Tekirdag province. Also, macro data was obtained from Turkish Statistical Institute, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Ministry of Agriculture and Forestry, local and international studies, projects and reports.

$$n = \frac{Npq}{(N-1)\sigma_p^2 + pq}$$

According to the sampling calculated from limited population formula (90% confidence interval, 5% margin of error and p=q=0.5 to achieve maximum sample size), face to face surveys were applied to the randomly selected consumers representing 270 different households. The number of households included in the sample were proportional to the number of households in the neighborhoods.

In this study, preferences about fish consumption of the consumers in Tekirdag were grouped by factor analysis and the effects of the factor groups and socioeconomic characteristics of households were determined with the Tobit model.

Method

Factor analysis

Factor analysis is a technique that is used to reduce a large number of variables into fewer numbers of factors. This technique extracts maximum common variance from all variables and puts them into a common score. In factor analysis, since the observed number of variables is tried to be explained by a smaller number of factors, firstly, correlations between variables are taken into account. While factor analysis aims to reduce dimension and to eliminate dependence structure, it aims to find a few number of new (common) unrelated variables by bringing related variables together in an event with p variables (Tatlıdil, 2002).

Factor analysis is performed in four basic steps. The first step is to examine the suitability of the data for factor analysis. The three methods used for this purpose are the creation of the correlation matrix, Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) and Barlett's tests. In the calculation of the correlation matrix, there should be a high correlation between the variables. Variables with very strong correlation between them will usually be within the same factor (Nakip, 2003).

The Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) Test is calculated by comparing the simple correlation coefficients with the partial correlation coefficients as shown in the formula below. The value of the test ranges from 0 to 1 (SPSS, 1994).

$$KMO = \frac{\sum_{i \neq j} \sum r_{ij}^2}{\sum_{i \neq j} \sum r_{ij}^2 + \sum_{i \neq j} \sum a_{ij}^2} \quad (1)$$

In formula 1,

r_{ij} : the correlation coefficient between the i and j variable,

a_{ij} : the partial correlation coefficient between i and j variable.

KMO values higher than 0.90 indicate the sampling is adequate. KMO values between 0.89 and 0.80 indicate the sampling is meritorious and between 0.79 and 0.60 indicate the sampling is middling. KMO values less than 0.6 indicate the sampling is not adequate. (Sharma, 1996).

The second step is to determine the number of factors. The goal is to obtain a small number of factors that represent the relationships between variables at the highest level. In the third step, rotation of the factors, the aim is to obtain the factors that can be named and interpreted. After determining how many factors the model consists, the number of variables to be included in each factor and the distribution of the variables to these factors are determined. Then the fourth step is to name the factors (Tavşancıl, 2002; Nakip, 2003; Çokluk et al., 2010).

Tobit model

The models where limited dependent variables are examined are called Tobit models (Tobin, 1958). These models are also called censored or discrete regression models (Gujarati, 2001). In the regression models with a limit of the variable range of the dependent variable, if the observations outside of a certain range are completely lost, the model is called a “truncated model” and if independent variables can be observed the model is called “censored model” (McDonald and Moffitt, 1980).

It is known that the estimation methods, such as the ordinary least square (OLS) for sample subsets of individuals above the censored threshold, are invalid. Therefore, researchers generally use the Tobit estimation method for censored dependent variables. An important feature of the Tobit estimators is that they are based on two important information for each individual.

The effect of an individual on the dependent variable depends on the probability of over censored threshold value

The effect of individuals on the censored threshold value depends on the intensity of the dependent variable.

When combined these two information in probability functions, Tobit model estimators give consistent results. Many researchers use this model to study with normal random variables because of its features such as consistency and asymptotic efficiency of the Tobit estimators.

In Logit and Probit models, the dependent variable takes the values 0 and 1. In this study, fish consumption is dependent variable and it is discrete variable. Tobit model is used since the dependent variable is fish consumption amount (kg/year), not fish consumption status (consume=1, not consume=0).

In this study, it is assumed that all households are

consume fish. It is accepted that non-consumers do not consume fish due to income, habit and psychological reasons. The Tobit model is defined as follows under the stated acceptances:

$$Q_i = \alpha + \beta_1 F_{1i} + \beta_2 F_{2i} + \beta_3 F_{3i} + \beta_4 F_{4i} + \beta_5 F_{5i} + \beta_6 E_i + \beta_7 I_i + \mu_i \quad (2)$$

- In equation 2,
 Q_i : annual fish consumption per capita of i . household,
 F_{1i} : attitude towards processed and canned products of i . household,
 F_{2i} : attitude towards conscious purchasing of i . household,
 F_{3i} : opinion about aquaculture of i . household,
 F_{4i} : attitude towards health benefits of i . household,
 F_{5i} : attitude towards effect on consumption amount of i . household,
 E_i : educational level of i . household,
 I_i : income level of i . household.

RESULTS

The research was conducted with 270 consumers in Tekirdag. Overall, 43.70% of the consumers were female and 56.30% were male. Majority of consumers, about 59% were at the age of between 26 to 40 years old. Education level and income level results of consumers are shown in the Table 1. Majority of the consumers around 42% have bachelor's degree. Majority of the consumers, around 34% have an average income of 2001-3500 TL.

Table 1. Demographic characteristics of consumers
Çizelge 1. Tüketicilerin demografik özellikleri

		No	Ratio (%)
Educational Level	Primary school	15	5.56
	Middle school	5	1.85
	High school	57	21.11
	Associate degree	23	8.52
	Bachelor's degree	113	41.85
	Postgraduate	57	21.11
Income Level	<1000	8	2.96
	1000 - 2000	35	12.96
	2001 - 3500	92	34.08
	3501 - 5000	73	27.04
	5001 < 8000	60	22.22
	8000 <	2	0.74

Approximately 98% of the consumers indicated that they consume fish (Table 2). Fish consumption per capita in Tekirdag province was 14.69 kg.year⁻¹. While sea fish consumption per capita was 14.16 kg/year, freshwater fish consumption per capita was 0.53 kg/year.

The data obtained with the Likert scale from 270 consumers were used in factor analysis. The total number of variables was reduced from 23 to 15 by elimination.

Table 2. Consumers' fish consumption
Çizelge 2. Tüketicilerin balık tüketimleri

Fish Consumption	Frequency	Ratio (%)
Yes	264	97.80
No	6	2.20
Total	270	100.00

Bartlett's Test of Sphericity was 0.000 ($p < 0.005$). Thus, it shows that the correlation between items was sufficient to run the factor analysis. The standard Cronbach's alpha statistic, which indicates the reliability of the variables, was 0.565. This value indicates that the variables were low reliability. The KMO value was 0.630 and this means the sample size was middling level.

The initial eigenvalues and the sum of the squares of the factor loads after rotation are shown in Table 3. Five factors were determined whose eigenvalues were higher than 1. The first factor explains about 18.41% of the total variance. The variance explained by the second factor was 11.43% and the third factor explains 11.24% of total variance. The total variance explanation percentage of the first 5 factors with eigenvalues higher than 1 was 63.29%.

According to the results of the rotated factor matrix, the scale consists of 15 items and 5 factors. The dimensions were named by taking into account rotated factor load and the meaning of the factors. The names of dimensions were "attitude towards processed and canned products", "conscious purchasing", "opinion about aquaculture", "health benefits", "impact on consumption amount" (Table 4).

The factors affecting the fish consumption of the households were explained with the Tobit model. In the model, total income of households, educational level of consumers and factors groups were

explanatory variables. As a result of the analysis, conscious purchasing factor and income were significant at 99% significance level. The education level of the consumers was significant at 95% significance level, while the health benefits factor was significant at 90% significance level (Table 5).

In regard to Tobit model results, variables were consistent with expectations. When income and education level increases, fish consumption would increase. Also, conscious purchasing and health benefit factors effects the fish consumption positively.

DISCUSSION

Fish consumption per capita in Tekirdag province was 14.69 kg/year. Although this amount was higher than the average of Turkey (5.58 kg / year), it is lower than the EU average (16.89 kg / year) and the world average (14.19 kg / year).

In regard to factor analysis results, the most effective factor in fish purchase decision was attitude towards processed and canned products. Other factors were conscious purchasing, opinion about aquaculture, health benefits and effect on consumption amount respectively.

According to the Tobit model, developed from factor analysis results, income and education level had a positive effect on fish consumption per capita. It was observed that increase of the education level and of the knowledge about fish would increase the amount of fish consumption per capita. Sayılı et al. (1999), Hatırlı et al. (2004), Orhan & Yüksel (2010), Yüksel et al. (2011), Wan & Hu (2012), Nalinci (2013), Koc & Sahin (2018) indicated that when the level of income and education increased, fish consumption amount increased.

Table 3. Total variance explained
Çizelge 3. Açıklanan toplam varyans

Factors	Initial Eigenvalues			Rotation Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %
1	2.840	18.933	18.933	2.761	18.406	18.406
2	2.313	15.420	34.353	1.714	11.426	29.831
3	1.567	10.445	44.799	1.687	11.244	41.076
4	1.525	10.168	54.967	1.676	11.172	52.248
5	1.248	8.321	63.288	1.656	11.040	63.288
6	0.988	6.589	69.877			
7	0.824	5.496	75.373			
8	0.810	5.399	80.772			
9	0.641	4.275	85.047			
10	0.548	3.655	88.702			
11	0.446	2.973	91.675			
12	0.373	2.484	94.159			
13	0.319	2.128	96.288			
14	0.295	1.964	98.252			
15	0.262	1.748	100.000			

Bartlett's Test of Sphericity = 0.000, KMO=0.630

Table 4. Denomination of factor groups

Çizelge 4. Faktör gruplarının adlandırılması

	Factor Load	% of Variance
Factor 1 - Attitude towards processed and canned products		18.406
My consumption will increase if canned products in the market diversify	0.801	
I like to consume canned seafood	0.797	
I like to consume canned fish (tons, pickled, etc.)	0.717	
My consumption will increase if canned products become widespread.	0.700	
I like to consume processed fish (fish finger, nugget etc.)	0.637	
Factor 2 - Conscious purchasing		11.426
I am experienced in purchasing fish	0.899	
I know seasonal fishes	0.898	
Factor 3 - Opinion about aquaculture		11.244
Cultured fish is cleaner than marine fish	0.810	
Cultured fish is more nutritious than marine fish	0.796	
Aquaculture is essential to increase consumption	0.579	
Factor 4 - Health benefits		11.172
Fish consumption has positive effects on child development	0.913	
I know the health benefits of fish	0.865	
Factor 5 - Impact on consumption amount		11.040
If my income increases, my fish consumption increases	0.801	
If my health problem arises, my fish consumption increases	0.726	
The decrease in fish prices does not affect my consumption	0.671	

Table 5. Results of Tobit model

Çizelge 5. Tobit model sonuçları

Variable	Coefficient	Probability
Fish consumption per capita (dependent variable)		
Factor 1 (Attitude towards processed and canned products)	-0.574269	0.5612
Factor 2 (Conscious purchasing)	5.132694	***0.0000
Factor 3 (Opinion about aquaculture)	0.320052	0.7523
Factor 4 (Health benefits)	1.804754	*0.0642
Factor 5 (Impact on consumption amount)	-0.221948	0.8286
Income	4.454390	***0.0000
Education level	1.203463	**0.0314
Log likelihood		-991.8161

* P <0.10, ** P <0.05 and *** P <0.01

There was a positive relationship between the increase in consciousness level and fish consumption. In other words, when consumers' experience of purchasing fish and their knowledge about fish season according to fish kind increases, fish consumption per capita will increase. Hatırlı et al. (2004) suggested that to raise awareness of families by explaining the importance of the fish. Temel & Uzundumlu (2015), determined health and nutrition motivation and effect of advertising on consumption among the factors that increase fish consumption. Olsen (2003) found a positive relationship between seafood consumption and health. Trondsen et al. (2004), indicated that with the increase in knowledge about health, seafood consumption would increase.

Fish consumption per capita would increase as a result of consumers' awareness of its health benefits and positive effects on child development.

Due to the preferences of consumers about processed and canned seafood, Factor 1 group had a negative effect on fish consumption. According to consumers, due to the fact that there was no difference between cultured fish and marine fish, Factor 3 group has a positive effect on fish consumption.

When the meat consumption habit of consumers was examined, it was seen that red meat is outweighed as compared to fish consumption in Turkey. However, chicken meat had a price advantage as compared to fish prices. For these reasons, fish consumption per capita is lower than red meat and chicken meat consumption. As a result of the study, it was observed that the increases in income level increases fish consumption. Model results support the fish purchase behavior of consumers in Turkey. Furthermore, according to model results, it was understood that consumption would increase as a result of increasing

conscious level. In order to increase fish consumption, consumers should be informed about the health benefits of fish. Campaigns and training activities should be organized by public institutions and non-governmental organizations, in particular educational institutions, to inform consumers.

Funding

Funding by Scientific Research Project Unit (NKUBAP.00.24.AR.15.06) of Namık Kemal University.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Adıgüzel F, Civelek O, Sayılı M, Büyükbay EO 2009. Tokat İli Almus İlçesinde Ailelerin Balık Tüketim Durumu. *GOU Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(2):35-43.
- Altintzoglou T, Vanhonacker F, Verbeke W, Lutén J 2011. Association of Health Involvement and Attitudes Towards Eating Fish on Farmed and Wild Fish Consumption in Belgium, Norway and Spain. *Aquaculture International*, 19(3): 475-488.
- Arvanitoyannis IS, Krystallis A, Panagiotaki P, Theodorou AJ 2004. A Marketing Survey on Greek Consumers' Attitudes Towards Fish. *Aquaculture International*, 12(3): 259-279.
- Aydın H, Dilek MK, Aydın K 2011. Trends in Fish and Fishery Products Consumption in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(3): 499-506.
- Birch D, Lawley M 2014. The Role of Habit, Childhood Consumption, Familiarity and Attitudes Across Seafood Consumption Segments in Australia. *Journal of Food Products Marketing*, 20(1): 98-113.
- Brécard D, Hlaimi B, Lucas S, Perraudeau Y, Salladarré F 2009. Determinants of Demand for Green Products: An Application to Eco-Label Demand for Fish in Europe. *Ecological Economics*, 69(1): 115-125.
- Burger J, Gochfeld M 2009. Perceptions of The Risks and Benefits of Fish Consumption. Individual Choices to Reduce Risk and Increase Health Benefits. *Environmental Research*, 109(3): 343-349.
- Claret A, Guerrero L, Aguirre E, Rincón L, Hernández MD, Martínez I, Peleteiro JB, Grau A, Rodriguez-Rodriguez C 2012. Consumer Preferences for Sea Fish Using Conjoint Analysis. Exploratory Study of The Importance of Country of Origin, Obtaining Method, Storage Conditions and Purchasing Price. *Food Quality and Preference*, 26(2): 259-266.
- Cosmina M, Demartini E, Gaviglio A, Mauracher C, Prestamburgo S, Trevisan G 2012. Italian Consumers' Attitudes Towards Small Pelagic Fish. *New Medit*, 11(1): 52-57.
- Çokluk Ö, Şekercioğlu G, Büyüköztürk Ş 2010. Sosyal Bilimler İçin Çok Değişkenli İstatistik. Pagem Akademi, Ankara, 424 s.
- Çolaklıoğlu FA, Ismen A, Ozen O, Cakır F, Yığın C, Ormancı HB 2006. Çanakkale İlindeki Su Ürünleri Tüketim Davranışlarının Değerlendirilmesi. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23(1/3): 387-392.
- Erdal G, Esengun K 2008. Tokat İlinde Balık Tüketimini Etkileyen Faktörlerin Logit Model ile Analizi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 25(3): 203-209.
- FAO 2018. Fishery Statistical Databases. (Access Date: 30.10.2018). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/CL>
- Gujarati ND 2001. *Essential of Econometrics*, Mc Graw Hill, New York. 849 pp. (Senesen, U; Senesen, G.G.), Literatur Publication, No:33, Istanbul.
- Hall TE, Amberg SM 2013. Factors Influencing Consumption of Farmed Seafood Products in The Pacific Northwest. *Appetite*, 66(1): 1-9.
- Hatırlı SA, Demircan V, Aktas AR 2004. Isparta İlinde Ailelerin Balık Tüketiminin Analizi. *Süleyman Demirel Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 9(1): 245-256.
- Honkanen P, Olsen SO, Verplanken B 2005. Intention to Consume Seafood: The Importance of Habit. *Appetite*, 45(2): 161-168.
- Iton CWA, Hutchinson SD 2017. Socioeconomic Determinants of Frequency of Fish Purchasing Among Trinidad and Tobago Shoppers: A Binary Logit Analysis. *Applied Studies in Agribusiness and Commerce*, 11(1-2): 105-110.
- Jaffry S, Pickering H, Ghulam Y, Whitmarsh D, Wattage P 2004. Consumer Choices for Quality and Sustainability Labelled Seafood Products in the UK. *Food Policy*, 29(3): 215-228.
- Koc S, Sahin M 2018. Tobit Model ve Bir Uygulama. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(1): 73-80.
- Korir L, Rizov M, Ruto E 2018. Analysis of Household Food Demand and Its Implications on Food Security in Kenya: An Application of QUAIDS Model. *Agricultural Economics Society 92nd Annual Conference*, April 16-18, 2018, Coventry (UK).
- McDonald JF, Moffitt RA 1980. The Uses of Tobit Analysis. *The Review of Economics and Statistics*, 62(2): 318-321.
- Nakip M, 2003. Pazarlama Araştırmaları, Teknikler ve (SPSS Destekli) Uygulamalar. Seçkin Yayıncılık, Ankara.
- Nalın S 2013. Amasya İli Merkez İlçedeki Hane Halkının Et Tüketim Alışkanlıkları ve Et Tüketimini Etkileyen Faktörler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım*

- Ekonomisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 162 sy.
- Oguzhan P, Angis S, Atamanalp M 2009. Erzurum İlindeki Tüketicilerin Su Ürünleri Tüketim Alışkanlığının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. 15. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 01-04 Temmuz 2009, Rize.
- Olsen SO 2003. Understanding the Relationship Between Age and Seafood Consumption. The Mediating Role of Attitude, Health Involvement and Convenience. *Food Quality and Preference*, 14(3): 199–209.
- Orhan H, Yuksel O 2010. Burdur İli Su Ürünleri Tüketimi Anket Uygulaması. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 5(1): 1-7.
- Pieniak Z, Verbeke W, Scholderer J 2010. Health-Related Beliefs and Consumer Knowledges Determinants of Fish Consumption. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 23(5): 480-488.
- Sarı M, Demırulus H, Sogut B 2000 Van İlinde Öğrencilerin Balık Eti Tüketim Alışkanlığının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Doğu Anadolu Bölgesi Su Ürünleri Sempozyumu, 28-30 Haziran 2000, Erzurum.
- Sayılı M, Esengun K, Kayım M, Akca H 1999. Tokat Merkez İlçede Balık Tüketimini Etkileyen Faktörlerin Ekonometrik Analizi. GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(1): 9-27.
- Sen B, Canpolat O, Sevim AF, Sonmez F 2008. Elazığ İlinde Balık Eti Tüketimi. Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 20(3):433-437.
- Senol S, Saygı H 2001. Su Ürünleri Tüketimi İçin Bir Ekonometrik Model. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 18(3-4): 383-390.
- Sharma S 1996. Applied multivariate techniques. New York: John Wiley & Sons Inc.
- SPSS: SPSS Professional Statistics 6.1. Chicago, IL: SPSS Inc, 397pp.
- Tatlıdıl H, 2002. Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistiksel Analiz. Akademi Matbaası, Ankara, 424 sy.
- Tavşancıl E 2002. Tutumların Ölçülmesi ve SPSS ile Veri Analizi. Nobel Yayıncılık, Ankara, 230 s.
- Temel T, Uzundumlu AS 2015. Rize İlinde Hanelerin Balık Tüketimi Üzerine Etkili Olan Faktörlerin Belirlenmesi. Menba Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 3: 14-22.
- Terin M 2019. Household Characteristics Influencing Fish Consumption in Van Province, Turkey. *Italian Journal of Food Science*, 31(3): 416-426.
- Tobin J 1958. Estimation of Relationships for Limited Dependent Variables. *Econometrica*, 26(1): 24-36.
- Tomic M, Kovacicek T, Matulic D 2016. Attitudes as Basis for Segmenting Croatian Fresh Fish Consumers. *New Medit*, 15(4): 63-71.
- Trondsen T, Braaten T, Lund E, Eggen AE 2004. Health and Seafood Consumption Patterns Among Women Aged 45–69 Years. A Norwegian seafood consumption study. *Food Quality and Preference*, 15(2): 117–128.
- Uzundumlu AS 2017. Determining Fish Consumption Behaviour Among Households and the Most Suitable Type of Fish in Erzurum Province. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16(2):684-697.
- Verbeke W, Vackier I 2005. Individual Determinants of Fish Consumption. Application of The Theory of Planned Behaviour. *Appetite*, 44(1): 67–82.
- Wan W, Hu W 2012. At-Home Seafood Consumption in Kentucky: A Double-Hurdle Model Approach. Southern Agricultural Economics Association Annual Meeting, February 4-7, 2012, Birmingham (AL).
- Yesilsu AF, Ozyurt G, Dagtekin M, Alp-Erbay E 2019. Wild Fish vs. Farmed Fish: Consumer Perception in Turkey. *Aquaculture Studies*, 19(1): 37-43.
- Yuksel F, Karaton-Kuzgun N, Ozer EI 2011. Tunceli İli Balık Tüketim Alışkanlığının Belirlenmesi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 2(5): 28-36.

Üreticilerin Biyolojik ve Biyoteknik Mücadele Uygulamalarına Bakışı ve Çevre Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Betül SAYIN^{1*}, Alamettin BAYAV², Tuba BEŞEN³, Dilek KARAMÜRSEL⁴, Mehmet Ali ÇELİK⁵
Meltem EMRE⁶, Musa KUZGUN⁷, Şerife Gülden YILMAZ⁸, Selda ARSLAN⁹

^{1,3,5,7,8}Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Antalya, ^{2,4}Meyvecilik Araştırma Enstitüsü, Isparta, ⁶İzmir İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, İzmir, ⁹Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Ankara

¹<https://orcid.org/0000-0002-0007-1955>, ²<https://orcid.org/0000-0002-8093-2988>, ³<https://orcid.org/0000-0001-9777-793X>,

⁴<https://orcid.org/0000-0001-7920-1136>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-7563-7757>, ⁶<https://orcid.org/0000-0003-1141-5888>,

⁷<https://orcid.org/0000-0003-3594-8259>, ⁸<https://orcid.org/0000-0002-1888-2588>, ⁹<https://orcid.org/0000-0002-2387-9447>

✉: betulsayin@gmail.com

ÖZET

Bu araştırma ile biyolojik ve biyoteknik (B/BT) mücadele yöntemlerini uygulayan ve uygulamayan işletmelerden oluşan iki üretici grubu hakkında tanımlayıcı istatistikler elde etmek, sahada biyolojik/biyoteknik mücadele uygulamaları ve üreticilerin konu hakkındaki düşüncelerini öğrenmek ve çevre duyarlılığı açısından gruplar arasında anlamlı farklılıklar olup olmadığını tespit etmek amaçlanmıştır. Araştırma alanı olarak seçilen illerde tabakalı örnekleme yoluyla seçilen 108 üretici ve yine aynı yörede benzer ürün deseni ve tarımsal işletme karakteristiklerine sahip, ancak biyolojik ve biyoteknik mücadele materyallerini kullanmayan 108 üretici olmak üzere toplam 216 üretici ile anket yapılmıştır. Turunçgil ve örtü altı sebze yetiştiriciliğinde iki grup arasında kimyasal ilaçlama sayısı ortalamaları arasında anlamlı düzeyde bir farklılık bulunmuştur. Üreticilerin biyolojik/biyoteknik mücadele yöntemlerini benimsemelerinde uygulama kolaylığının etkili olduğu anlaşılmış, bu mücadele yöntemini kullanma nedenleri sıralamasında insan sağlığı seçeneği ön plana çıkmıştır. Biyolojik/biyoteknik mücadele yöntemlerinin, maliyetleri azaltma, farklı fiyattan ürün satma veya pazarlama kolaylığı sağlama bakımından bir avantaj oluşturmadığı tespit edilmiştir. Bu yöntemlerin yaygınlaştırılması için üreticiler bilgilendirilmeye ve maddi olarak desteklenmeye devam edilmeli, bunun yanında tüketicileri de bu yöntemlerle üretilmiş ürünleri tüketmeye teşvik edecek bilgilendirme çalışmaları yapılmalıdır. Büyük bölümü ithal edilen B/BT mücadele materyallerinin yüksek maliyetleri üreticileri bu uygulamalardan uzaklaştırmakta, yöntemlerin uygulanması sırasında yaşanan gecikmelerin de ithalat sürecinden kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Bu nedenle yerli B/BT materyallerinin üretimi için gerekli alt yapı ve girişimler de desteklenmelidir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 31.07.2019

Kabul Tarihi : 28.11.2019

Anahtar Kelimeler

Entegre zararlı yönetimi

Çevre dostu üretim yöntemleri

Çevresel duyarlılık

Producers' Perspective on Biological and Biotechnical Control and Determining Environmental Attitudes

ABSTRACT

The aim of this research was to obtain descriptive information about two producer groups consisting of agricultural holdings applying and not applying biological and biotechnical (B/BT) control methods in the research field, to determine the B/BT control practices applied in the field, to know the opinions of producers about B/BT applications, whether there are significant differences between the groups in terms of environmental sensitivity. In this study, a total of 216 producers were selected by using stratified sampling, 108 producers using B/BT control materials, and 108 producers in the same region with similar product pattern and agricultural holdings characteristics but not using B/BT control materials. A significant difference was found between the mean numbers of chemical

Research Article

Article History

Received : 31.07.2019

Accepted : 28.11.2019

Keywords

Integrated pest management

Environmentally friendly production methods

Environmental sensitiveness

application between these two groups. It has been found that ease of application was effective in the adoption of B/BT control methods by producers. It was determined that human health option comes into prominence in the ranking of reasons for using B/BT control method. It has been found that B/BT control methods were not an advantage in terms of reducing costs, selling products at different prices or providing ease of marketing. In order to spread these methods, producers should continue to be informed and financially supported. In addition, information should be provided to encourage consumers to consume these products. Importing B / BT control materials leads to increased costs and delay in implementation. Therefore, infrastructure and initiatives should be supported to produce B/BT control materials domestically.

To Cite : Sayın B, Bayav A, Beşen T, Karamürsel D, Çelikyurt MA, Emre M, Kuzgun M, Yılmaz ŞG, Arslan S 2020. Üreticilerin Biyolojik ve Biyoteknik Mücadele Uygulamalarına Bakışı ve Çevre Duyarlılıklarının Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 23(2): 453-466. DOI: 10.18016/ksutarimdoga.vi.599085.

GİRİŞ

Tarım sektörü, canlıların besin ihtiyacını karşılama ve kırsal alanda yaşayan nüfusun geçim kaynağını oluşturmanın yanında, işleme sanayiine hammadde temini sağlayarak kentsel alanda da istihdam olanağı yaratmaktadır. Tarımsal ürünlerin verim ve kalitesini artırmanın yolu modern tarım tekniklerinin ve girdilerinin kullanılmasından geçmektedir. Modern tarımın tamamlayıcı bir bileşeni olarak bitki koruma ürünlerinden pestisitler de bu girdilerden biridir (Tiryaki ve ark, 2010).

Türkiye’de pestisit tüketimi, gelişmiş ülkelere göre oldukça düşük olmakla birlikte bölgeler arasında farklılaşmaktadır. Entansif tarım yapılan Akdeniz, Ege gibi bölgelerin tüketimi, Türkiye ortalamasının çok üzerinde olup bu bölgelerdeki pestisit kullanımının gelişmiş ülkeler düzeyine yaklaştığı görülmektedir (Delen ve ark, 1995; Delen ve Ark, 2005). Günümüzde sürdürülebilir tarımsal üretim, insan sağlığı, çevre ve biyolojik çeşitliliğin korunması giderek daha fazla önem kazandığından özellikle pestisitler sorgulanmaya başlanmıştır (Bulut ve Göçmen, 2000). Yoğun pestisit kullanımı hastalık, zararlı ve yabancı otların ilaçlara dayanıklılık mekanizmalarının gelişmesine yol açarken, doğadaki yararlı organizmaların olumsuz etkilenmesine neden olmakta, üründe oluşacak pestisit kalıntıları ise insan sağlığı için sorun teşkil etmektedir. Bunun yanında özellikle gelişmiş ülkelerin satın alacakları üründe olabilecek ilaç kalıntısı miktarı için sınırlar belirleyerek, sağlıklı ürüne müşteri olma eğilimi, ihracatta rekabet gücünü azaltan bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.

İnsan ve çevre sağlığının korunması ve sürdürülebilir tarımın yapılabilmesi için 1970 yılında başlatılan entegre mücadele çalışmalarının ana hedefi, üreticilerin eğitilerek entegre mücadele programlarını uygulayabilecekleri düzeye erişmeleridir (Karaturhan 2005). Alternatif mücadele yöntemlerinin başında ise entegre mücadelenin de en

önemli bileşenlerinden olan biyolojik ve biyoteknik mücadele yöntemleri gelmektedir. Biyolojik mücadele yöntemi ile doğada bulunan yararlı organizmalar kullanılarak, bitkisel üretimde ekonomik kayıplara yol açan zararlı organizmalarla mücadele edilmektedir. Biyoteknik mücadele ise zararlı organizmaları direk öldürmek yerine bazı tekniklerle normal seyrindeki biyolojik ve fizyolojik davranışları engelleyerek kontrol altına almak anlamına gelmektedir (Birişik ve ark, 2013).

Klasik biyolojik mücadele amaçlı çalışmalar ülkemize ilk kez 1910 yılında Torbalıköşnil’e karşı parazitit ve predatör ithali ile başlamıştır. Daha sonra elma pamuklubiti, dut kabuklubiti, süne, turunçgil unlubiti, harnup güvesi, kırmızı kabuklubiti, esmer salyangoz, yaprakbitleri, defne beyazsineği ve turunçgil beyazsineğine karşı faydalı böceklerin ithali yapılmıştır. Türkiye’de biyoteknik mücadele konusunda yapılan çalışmalar ise çok eski tarihlere dayanmamaktadır. 1980’li yıllarda farklı meyve, bağ ve sebze türlerinde zarar yapan böceklerle karşı başlatılan Ar-Ge çalışmaları sonucunda, biyoteknik mücadele yönteminin etkinliği ortaya koyulmuş ve teknik talimatlarda bu mücadele yöntemine yer verilmiştir. Özellikle organik tarımın gelişmesine paralel olarak bu ürünler ithal edilerek yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Birişik ve ark, 2013).

Onuncu Kalkınma Planı kapsamında hazırlanan Bitkisel Üretim Özel İhtisas Komisyonu Raporu’nda; öncelikle bitki sağlığı çalışmalarının Avrupa Birliği’ne ve uluslararası standartlara uygun olarak yürütülmesinin sağlanarak, zararlı organizmalardan kaynaklanan kayıpların % 35’ten % 25’e indirilmesi ve biyolojik ve biyoteknik mücadele ürünlerinin toplam bitki koruma ürünleri içindeki % 1 civarında olan pazar payının % 25’e çıkarılması hedeflenmiştir (Anonim, 2014 a). Ayrıca biyolojik ve biyoteknik mücadele materyallerinin kullanımının 2010 yılından itibaren Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından destekleme kapsamına alınması, doğal çevreyi ve

insan sağlığını koruma ve ihracatı engelleyecek ilaç kalıntısı problemini çözmeye yönelik tedbirlerdendir. Başta destekleme uygulamaları olmak üzere alınan tedbirler Türkiye’de, biyolojik ve biyoteknik mücadele araçlarının kullanımının yıllar içinde artış göstermesini sağlamıştır (Anonim, 2015).

Bu çalışmada çalışma alanı olarak seçilen ve Batı Akdeniz Bölgesi kapsamına giren Antalya, Isparta ve Burdur İlleri sahip olduğu tarım potansiyeli ile Türkiye’nin önemli tarım merkezlerindedir. Türkiye İstatistik Bölge Birimleri Sınıflandırmasına göre TR 61 Batı Akdeniz Bölgesi olarak adlandırılan bölge; coğrafi konumu, verimli toprakları, uygun iklim koşulları, yeterli su kaynakları, büyük pazarlara yakınlığı ile tarımsal üretim için oldukça elverişli koşullara sahiptir. Bölgede 41 çeşit sebze ve 36 çeşit meyve yetiştirilmektedir. Türkiye’nin toplam narenciye üretiminin % 30’u ve toplam tropikal meyve üretiminin % 55’i Antalya’da yapılmakta olup bölgenin yaş meyve ve sebze ihracatı yıllık 300 milyon dolardır (Anonim 2014 b). Bölge Türkiye’deki elma, kiraz, gül, haşhaş, anason, seracılık, süs bitkileri, tıbbi aromatik bitkiler ve tropikal meyveler üretiminde önemli bir paya sahiptir. Dünyada Çin ve A.B.D.’nden sonra 3’üncü sırada yer alan Türkiye elma üretiminin yaklaşık % 29.8’ini Batı Akdeniz Bölgesi karşılamaktadır. Akdeniz ülkelerinin toplam sera alanının yaklaşık % 18’i Türkiye’de bulunmakta, Türkiye’de mevcut sera üretiminin % 85’i Batı Akdeniz Bölgesi’nde yapılmaktadır. Bölge kalkınmasında gelişme eksenini belirleyen beş başlıktan birini oluşturan Tarımda Modernizasyonun ve Kırsal Kalkınmanın Sağlanması başlığının öncelikleri arasında Bitkisel Üretimde Modernizasyonun Sağlanması ve İyi Tarım Uygulamalarının Yaygınlaştırılması gelmektedir (Anonim, 2014 b). Bu bağlamda biyolojik ve biyoteknik mücadele yöntemlerinin kullanımının yaygınlaştırılması bölge için önem arz etmektedir.

Hastalık, zararlı ve yabancı otlarla mücadelede kimyasalların doğru kullanımı ve çevre dostu üretim teknikleri hakkında üreticilerin bilgi, tutum ve davranışlarının yönlendirilmesi gereklidir. Özkan ve ark. (1991) yürüttükleri araştırma kapsamında gördükleri üreticilerin yaklaşık % 85’inin bahçelerinde gördükleri böceklerin zararlı olmadığını bildiklerini, ayrıca % 23’ünün de turunçgil unlu bitine karşı bazı faydalı böcek türlerini temin ederek biyolojik mücadele uygulaması yaptıklarını ortaya koymuştur. Tüzel ve arkadaşları (2010) tarafından yürütülen bir çalışma kapsamında incelenen modern seraların tamamında, geleneksel seraların ise %80’inde sarı yapışkan tuzak kullanıldığı ve bu uygulamanın hızla yaygınlaştığı ifade edilmiştir. Yanar ve arkadaşları (2018) tarafından yürütülen çalışmada da, görüşülen üreticilerin % 26 sının biyolojik mücadele, % 56 oranında üreticinin feromon

tuzak, %74 oranında üreticinin ise sarı yapışkan tuzak gibi biyoteknik mücadele yöntemlerini kullandığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı Antalya, Burdur ve Isparta İllerinde örtüaltı sebze yetiştiriciliği, turunçgil yetiştiriciliği ve elma yetiştiriciliği yapan ve zararlılarla mücadele için biyolojik ve biyoteknik (B/BT) mücadele yöntemlerini kullanan ve kullanmayan üreticilerin bu mücadele metotlarını uygulama şekilleri, yöntemler hakkında görüş ve düşünceleri, hastalık ve zararlılara karşı kimyasal mücadele uygulamaları, B/BT mücadele hakkındaki bilgi kaynakları, B/BT mücadele materyallerini kullanmama nedenleri ve üreticilerin çevresel duyarlılıklarına ilişkin bilgiler elde etmektir. Çalışmayı literatürdeki benzerlerinden ayıran en önemli fark incelenen başlıklar altında B/BT mücadele yöntemlerini uygulayan ve uygulamayan üreticiler arasında karşılaştırma yapmaktır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmanın ana materyalini, 2017 yılında Antalya, Isparta ve Burdur İllerine bağlı köylerde örtü altı sebze, turunçgil ve elma yetiştiriciliği yapan 216 üreticiden anket yoluyla yüz yüze görüşülerek elde edilen veriler oluşturmaktadır.

Metot

Anket uygulanacak işletme sayısının belirlenmesinde; Antalya, Burdur ve Isparta İlleri Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlükleri’nden alınan 2016 yılı biyolojik ve biyoteknik mücadele desteği ödemesinden faydalanan kişi listesinden yararlanılmıştır. Varyasyon katsayısının çok yüksek (%153) ve popülasyonun heterojen yapıda olduğu anlaşıldığından örnek seçiminde tabakalı örnekleme yöntemi kullanılmıştır. Araştırmanın temel kurgusu, B/BT mücadele yöntemlerini uygulayan ve uygulamayan üreticilerden oluşan iki grubu çeşitli konularda karşılaştırmaktır. Örnek hacmi Neyman Yöntemi ile hesaplanmıştır (Yamane 1967; Çiçek ve Erkan, 1996). Araştırmada % 5 hata payı ve % 90 güven aralığı esas alınarak popülasyondan çekilen örnek sayısı 108 olarak belirlenmiştir. Bunun yanında; yine aynı yörede ve aynı sayıda, benzer ürün deseni ve tarımsal işletme karakteristiklerine sahip, ancak biyolojik ve biyoteknik mücadele materyallerini kullanmayan 108 üretici gayeli olarak seçilmiş bu üreticilerle de anket çalışması yapılmıştır. Anket uygulaması Antalya İlinde turunçgil, elma ve örtüaltında sebze üreten işletmelerde, Burdur ilinde son yıllarda yaygınlaştığı seracılığının yaygınlaştığı ilçe ve köylerdeki örtü altı domates üreticisi işletmelerde ve Isparta ilinde elma yetiştiricisi işletmelerde yapılmıştır.

Biyolojik veya biyoteknik mücadele yöntemlerini uygulayan ve uygulamayan işletmecilerle yüz yüze görüşmede kullanmak üzere iki ayrı soru formu hazırlanmıştır.

Araştırma şu sorular üzerinde kurgulanmıştır.

1. Üreticilerin demografik özellikleri ve işletmeleri tanımlayıcı özellikler nelerdir?
2. Sahada B/BT mücadele uygulamaları ve üreticilerin konu hakkındaki düşünceleri nelerdir?
3. Üreticilerin B/BT mücadele hakkında başvuru kaynakları kimlerdir?
4. Ele alınan ürünlerin üretiminde kimyasal mücadele nasıl yapılmaktadır?
5. B/BT mücadele materyallerinin kullanılmama nedenleri nelerdir?
6. Üreticilerin çevreye olan duyarlılıkları hangi düzeydedir?

Tüm değişkenler için temel tanımlayıcı istatistikler (ortalama, minimum, maksimum, standart sapma vb.) belirlenmiştir. İki bağımsız grup arasındaki farklılıklar; normal dağılım gösteren sürekli değişkenler için t testi; normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenler için ise Mann Whitney U testi kullanılarak analiz edilmiştir.

Araştırma kapsamında görüşülen çiftçilerin çevreye olan duyarlılık düzeylerini belirlemek amacıyla Yeni Çevresel Paradigma Ölçeği kullanılmıştır (Dunlap ve ark, 2000; Cordano ve ark, 2003; Günden ve Miran, 2008). Üreticilere ölçekte yer alan ifadelere katılıp katılmadıkları sorulmuş, verilen cevaplara bağlı olarak çevresel tutumları saptanmıştır. Değerlendirmede likert ölçeğinden yararlanılmıştır. B/BT mücadele yapan ve yapmayan üreticilerin yeni çevresel paradigma ölçeği puanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığını anlamak için bağımsız örneklem t testi yapılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

İşletme sahibi ile ilgili tanımlayıcı bilgiler

İki grupta yer alan üreticiler; yaş, eğitim durumu, çiftçilik deneyim süresi, örgütlenme durumu ve tarım dışı gelir varlığı yönünden karşılaştırılmıştır.

Çizelge 1. İşletme sahibi ile ilgili tanımlayıcı bilgiler

Table 1. Identifying information about producers

	Yaş (Age)	Eğitim süresi Education	Tarımsal deneyim Agricultural experience	Tarım dışı gelir Non-agricultural income
B/BT mücadele uygulayan Applying B/BT control	52.3	8.1	28.3	23289
B/BT mücadele uygulamayan Not applying B/BT control	51.3	8.4	25.5	20281

B/BT mücadele uygulayan üreticilerin % 83.3'ü, uygulamayan üreticilerin ise % 86.1'i olmak üzere, tüm üreticilerin % 84.7'si tarım danışmanlığı hizmeti

Üreticiler arasında B/BT mücadele uygulayanların % 52.8'i, uygulamayanların % 50.9'u 52 yaşın altında olup, B/BT mücadele uygulayan üreticilerin yaş ortalaması 52.3, B/BT mücadele uygulamayan üreticilerin yaş ortalaması ise 51.3 olarak belirlenmiştir. İki gruptaki üreticilerin yaşları arasında önemli bir farklılık yoktur.

Üreticilerin eğitim durumları incelendiğinde; B/BT mücadele uygulayan üreticilerin % 47.2 si ilkökul, % 39.8 i orta-lise mezunudur. B/BT mücadele uygulamayan üreticilerde ilkökul mezunu olanlar ile orta-lise mezunu olanların oranı eşit olup % 42.6 olarak belirlenmiştir. Ön lisans ve üzeri eğitim alanların oranı, B/BT mücadele uygulayan üreticilerde % 13.0, uygulamayan üreticilerde ise % 14.8 dir. B/BT mücadele uygulayan üreticiler ortalama 8.1 yıl, uygulamayan üreticiler ortalama 8.4 yıl eğitim almışlardır. İki grubun eğitim süreleri arasında anlamlı düzeyde bir farklılık tespit edilmemiştir.

B/BT mücadele uygulayan üreticilerin % 64.8'i, uygulamayan üreticilerin ise % 56.4'ü 21 yıl ve daha uzun süreden bu yana çiftçilik deneyimine sahiptir. Ortalama deneyim süresi, B/BT mücadele uygulayan üreticiler için 28.3 yıl, uygulamayan üreticiler için 25.5 yıl olarak belirlenmiş olup iki üretici grubunun ortalama deneyim süreleri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır.

B/BT mücadele uygulayan üreticilerin % 54.6'sının, uygulamayan üreticilerin ise % 49.1'inin tarım dışı geliri vardır. Tarım dışı gelir, B/BT mücadele uygulayan üreticilerde ortalama 23289 TL, uygulamayan üreticilerde ise 20281 TL'dir. İki grup arasında tarım dışı gelir yönünden anlamlı düzeyde bir farklılık tespit edilmemiştir (Çizelge 1).

Üreticilerin kooperatif, birlik vb. örgütlere üyelikleri ile ilgili olarak yapılan değerlendirmede; B/BT mücadele uygulayan üreticilerin % 63.0'ü, uygulamayan üreticilerin ise % 60.2'si olmak üzere tüm üreticilerin % 61.6'sının tarım kredi kooperatifi, yöredeki üretici kooperatifi, sulama birliği veya kooperatifi, köy kalkınma kooperatifi vb. kurumlardan birine veya bir kaçına üyeliği bulunmaktadır.

almadığını ifade etmiştir. Tarımsal danışmanlık hizmeti aldığını ifade eden tüm üreticilerin % 12.1'i 3 yıl ve daha az, % 87.9'u da 4 yıl ve daha fazla süredir

bu hizmetten yararlandığını bildirmiştir. Bu çalışma da diğer çalışmalarda olduğu gibi Türkiye’de tarım danışmanından hizmet alan üretici sayısı ve tarımsal danışmanlık hizmetleri konusunda yetersizlikler olduğunu ortaya koymaktadır. Örneğin 2005 yılında Antalya ilinde örtü altı üretim alanlarında yapılan bir çalışmada yörede danışmanlık hizmeti verilen üretici sayısının toplam örtü altı yetiştirici sayısının sadece % 4’ünü, üretim alanının da toplam örtü altı üretim alanının % 7.6’sını oluşturduğu tespit edilmiştir (Ateş ve Sayın, 2008)

İşletme ile ilgili tanımlayıcı bilgiler

B/BT mücadele uygulayan ve uygulamayan tarım işletmeleri, arazi varlığı (toplam işlenen ve nadas-boş), mülkiyet durumu (mülk, kiralanan, ortak işlenen ve kiraya verilen), sulanma durumu (sulanan ve sulanmayan), parsel sayısı, işletme faaliyet türü, işletme varlıklarının toplam ekonomik büyüklüğü bakımından karşılaştırılmıştır. Ortalama işlenen arazi büyüklüğü, B/BT mücadele uygulayan işletmelerde 51.4 da, uygulamayan işletmelerde ise 41.9 dekadır. Mülk arazi büyüklüğü B/BT mücadele uygulayan işletmelerde 38.5 da, uygulamayan işletmelerde ise 38.4 dekadır. B/BT mücadele uygulayan işletmelerde kiralanan arazi büyüklüğü ortalama 9.1 da, uygulamayan işletmelerde ise 3.7 dekadır. B/BT mücadele uygulayan işletmelerde ortaklıkla işlenen arazi büyüklüğü ortalama 2.8 da, uygulamayan işletmelerde ise 0.4 dekadır. İki grup

arasında, ortalama işlenen ve kiralanan arazi büyüklüğü bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. B/BT mücadele uygulayan ve uygulamayan iki grubun ortaklıkla işletmekte oldukları arazi büyüklüklerinin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır.

Antalya ili Kaş ilçesinde biyolojik mücadele yapan ve yapmayan işletmelerin karşılaştırıldığı benzer bir çalışmada, biyolojik mücadele yapmayan işletmelerin, biyolojik mücadele yapan işletmelere oranla daha fazla ortaklıkla işletildiği, ortaklığın azaltılmasına yönelik önlemler alınmasının bu işletmelerin etkinliğine olumlu etki edeceği bildirilmiştir (Yıldırım ve ark, 2016). Kiraya verilen ve sulanan arazi büyüklüğü bakımından her iki grup arasında anlamlı bir fark yoktur. Sulanmayan arazi büyüklüğü B/BT mücadele uygulayan işletmelerde ortalama 5 da, uygulamayan işletmelerde ise 0.45 dekadır. B/BT mücadele uygulayan ve uygulamayan iki grubun sulanmayan arazi büyüklüklerinin ortalamaları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. Parsel sayısı B/BT mücadele uygulayan işletmelerde 1-50 arasında değişmekte olup ortalama 5.8 adet olarak belirlenmiştir. B/BT mücadele uygulamayan işletmelerde ise parsel sayısı 1-20 arasında değişirken ortalama olarak 4.5 adettir. İki grup arasında parsel sayısı bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. İşletme arazi varlığı, mülkiyet ve sulanma durumu, parsel sayısı

Table 2. Farm land assets, ownership and irrigation status, number of parcels

	B/BT mücadele uygulayan <i>Applying B/BT control</i>				B/BT mücadele uygulamayan <i>Not applying B/BT control</i>				Mann Whitney U
	Min. <i>Min.</i>	Max. <i>Max.</i>	Ort. <i>Mean</i>	Std. Sp <i>SD</i>	Min. <i>Min.</i>	Max. <i>Max.</i>	Ort. <i>Mean</i>	St. Sp <i>SD</i>	
Toplam işlenen (da) <i>Total planted area (da)</i>	1	750	51.4	84.8	3	400	41.9	60.2	.158
Nadas-Boş (da) <i>Fallow (da)</i>	0	105	1.5	10.5	0	15	0.3	1.8	.740
Mülk (da) <i>Owner(da)</i>	0	400	38.5	50.7	0	400	38.4	60.5	.406
Kiralanan (da) <i>Leased (da)</i>	0	550	9.1	53.9	0	70	3.7	11.3	.983
Ortak işlenen (da) <i>Partner (da)</i>	0	72	2.8	10.9	0	15	0.4	2.2	.043
Kiraya verilen (da) <i>Given for rent(da)</i>	0	4	0.1	0.4	0	36	0.3	3.5	.995
Sulanan (da) <i>Irrigation</i>	0	750	46.5	83.5	3	400	41.9	60.2	.544
Sulanmayan (da) <i>Not irrigation (da)</i>	0	105	5.0	16.7	0	15	0.5	2.3	.005
Parsel sayısı (adet) <i>Number of parcel (number)</i>	1	50	5.8	6.2	1	20	4.5	3.8	.079

B/BT mücadele uygulayan işletmelerde, B/BT mücadele materyalleri kullanılarak mücadele uygulanan arazi büyüklüğü ortalama 30.6 da, bu alanın toplam arazi içerisindeki payı ise ortalama % 62.7 olarak belirlenmiştir. İşletmelerde hangi faaliyet türünün ön plana çıktığı incelendiğinde, B/BT mücadele uygulayan işletmelerin % 88'inde bitkisel üretim faaliyeti gerçekleştirildiği, % 12'sinde bitkisel üretimin yanında hayvansal üretimin de yapıldığı anlaşılmaktadır. B/BT mücadele uygulamayan işletmelerde ise bu oranlar sırasıyla % 91.7 ve % 8.3 olarak belirlenmiştir. B/BT mücadele uygulayan işletmelerde işletme varlıklarının toplam ekonomik büyüklüğü 100000 TL ye kadar olanlar % 7.4, 100001 – 500000 TL arasında olanlar % 24.1, 500001 – 1000000 TL arasında olanlar % 20.4, 1000000 – 3000000 TL arasında olanlar % 28.7, 3000000 TL ve daha fazla olanlar ise % 19.4 oranındadır. B/BT mücadele uygulamayan işletmeler için ise bu değerler sırasıyla % 7.5, % 23.1, % 20.4, % 34.2 ve % 14.8 olarak belirlenmiştir.

Biyolojik/biyoteknik mücadele uygulamaları ve üreticilerin konu hakkında düşünceleri

Zararlılara karşı uzun yıllardan beri kullanılan kimyasal mücadele uygulamalarına alternatif olacak mücadele yöntemlerinin tercih edilmesi, tarımsal ürünlerde kalite ve verimin artmasını, insan ve çevre sağlığının güvence altına alınmasını sağlayacaktır (Topuz, 2005). Bitkisel üretimde zararlılarla mücadele amacıyla B/BT mücadele uygulandığında, hedef alınan zararlıya yönelik kimyasal mücadele sayısı ve kullanılan insektisit miktarında önemli ölçüde azalma sağlanmaktadır. Araştırma sonuçlarına göre; örtü altında biber yetiştiren üreticilerin % 23.1'i biyoteknik ve biyolojik mücadele uygulamalarını bir arada uygularken, % 3.8'i sadece biyoteknik, % 73.1'i ise sadece biyolojik mücadele yöntemini kullanmaktadır. Örtü altında domates yetiştiren üreticilerin % 7.7'si biyoteknik ve biyolojik mücadele uygulamalarını bir arada uygularken, % 92.3'ü ise sadece biyolojik mücadele yöntemini kullanmaktadır. Turunçgil yetiştiricisi üreticilerin % 29'u biyoteknik ve biyolojik mücadele uygulamalarını bir arada uygularken, % 35.5'i sadece biyoteknik, % 35.5'i ise sadece biyolojik mücadele yöntemini kullanmaktadır. Elma üreticilerinin tamamı iç kurdu zararlısı ile mücadele amacıyla sadece biyoteknik mücadele uygulamaktadır.

Faydalı böceklerin pazarlamasını yapan firma yetkilileri biyolojik ve biyoteknik mücadele aparat ve etmenlerinin satışı ile birlikte üreticilere uygulama sürecine ilişkin teknik tavsiyeler de yapmaktadır. Buna göre örtü altı sebze yetiştiriciliğinde; beyaz sinek mücadelesi için dikimden sonra üçüncü haftada bir kez, dördüncü veya beşinci haftada bir kez olmak

üzere iki kez, yaprak biti, kırmızı örümcek ve diğer minör zararlılar için de bir kez uygulama yapılması tavsiye edilmektedir. Söküm aşamasına kadar da zararlı görülme durumuna göre uygulamaların tekrarlanması istenmektedir. Örtü altı sebze üreticilerinin teknik danışmanlar tarafından biyolojik mücadele uygulamasını en az üç kez yapmaları yönünde bilgilendirildiği anlaşılmaktadır. Ancak anket formu kapsamında yapılan görüşmeler, üreticilerin önemli bir bölümünün bu teknik tavsiyelere çok fazla uymadığını ortaya koymaktadır. Şöyle ki biber yetiştiriciliğinde biyolojik mücadele uygulayan üreticilerin % 76'sı 1 kez, % 8'i 3 kez, % 12'si 4 kez ve % 4'ü 5 kez uygulama yaptığını ifade etmiştir. Domates yetiştiriciliğinde biyolojik mücadele uygulayan üreticilerin % 23.1'i 1 kez, % 69.2'si 2 kez, % 7.7'si 4 kez uygulama yaptığını ifade etmiştir.

Turunçgil yetiştiriciliğinde ise biyolojik mücadele uygulayan üreticilerin tamamı tek seferlik uygulama yaptığını ifade etmiştir. Biyolojik mücadelenin bu alanlarda çevre bahçeleri de içine alan bütüncül bir yaklaşımla yürütülememesi en önemli handikaptır.

Üreticiler B/BT mücadele uygulaması sayesinde ürünün hasat edilme takviminde kısıtlanmadıklarını, kimyasal kullanımında gerekli olan yarılanma süresini beklemek zorunda kalmadıklarını ifade etmişlerdir. Üreticilerin B/BT mücadele uygulamalarını benimsemelerinde, uygulamaların sağladığı avantajların da etkisi bulunmaktadır. Çoğunlukla küçük aile işletmeleri ölçeğinde yürütülen örtü altı sebze yetiştiriciliği faaliyetinde, yoğun işgücü kullanımı gerektiğinden uygulama kolaylığı sağlayan B/BT yöntemlerine ilgi artmaktadır.

Hastalık, zararlı ve yabancı otlarla mücadelede kimyasalların doğru kullanımı ve çevre dostu üretim tekniklerine ilişkin üretici bilincinde yaşanan olumlu değişim literatüre de yansımıştır. Çelik ve Karakaya (2017)'nin Bingöl İli Adaklı İlçesi'nde elma üreticilerinin tarımsal ilaç kullanımı ile ilgili bilgi tutum ve davranışlarını değerlendirdikleri çalışmalarında; üreticilerin %70'inin tarımsal ilaçların çevreye ve diğer canlılara zararlı etkileri konusundaki ifadelerle kesinlikle katıldıklarını ifade ederken, tarımsal ilaçların çevreye ve diğer canlılara olan zararlı etkileri konusundaki ifadelerle kesinlikle katılmıyorum diyen üretici olmadığı sonucu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra Karabat ve Atış (2012) tarafından bildirilen, Manisa İli bağ alanlarında incelenen işletmelerde, üreticilerin % 70.1'inin geleneksel ilaçlama yöntemi yerine, çevre dostu ilaçlardan oluşan bir ilaçlama modelini uygulamak için fazladan ödeme yapabileceği bilgisi kayda değerdir. Ancak yüksek kazanç getiren ürünlerin üretiminde bu durumun söz konusu olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Araştırma kapsamında görüşülen üreticiler, zararlılara karşı kimyasal kullandıklarında ilaç uygulama sıklığı ve sayısı nedeniyle hem kendi sağlıklarının ve ürün sağlığının tehdit edildiğini hem de daha fazla zaman harcadığını, B/BT mücadele materyalleri kullanıldığında ise ürünlerin sağlıklı olmasının yanında kendi sağlıklarının da bozulmadığını ve zamandan da tasarruf edildiğini ifade etmişlerdir.

Buna karşılık uygulamada yaşanan aksaklıklar da söz konusudur. Üreticilerin serada hastalık ve zararlı takibini yeterli ölçüde yapmadıkları, etkilenen bitkileri seradan uzaklaştırmakta geç kaldıkları, serada zararlıların görülmesi ile uygulanacak doğal düşmanların siparişinden teminine kadar geçen süre

içinde zararlı popülasyonunun arttığı, bu nedenle de yayılımı önlemek için kimyasal kullanmak zorunda kaldıkları görülmüştür. Üreticilerin, süreci bizzat kendilerinin takip etmesi gerektiğinin bilincinde olmadıkları gözlenmiştir. Aparat ve canlı materyalleri pazarlayan firmaların rutin ziyaretleri zararlılarla mücadele sürecinin sağlıklı gelişimi için yeterli olmamaktadır.

Araştırma kapsamında görüşülen üreticilerden zararlılarla mücadelede B/BT mücadele metodunu kullanma nedenlerini önem sırasına göre bildirmeleri istendiğinde ilk iki tercihleri sırasıyla, “İnsan sağlığını düşündüğüm için” ve “Doğal çevreyi kirletmemek için” olmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Üreticilerin B/BT mücadele kullanma nedeni tercihleri

Table 3. Causes of producers using B/BT control

	1.tercih (First choice)		2.tercih(Second choice)		3.tercih(Third choice)	
	Adet(Number)	%	Adet(Number)	%	Adet(Number)	%
Doğal çevreyi kirletmemek için <i>To avoid polluting the natural environment</i>	7	6.5	37	34.3	24	22.2
İnsan sağlığını düşündüğüm için <i>For thinking about human health</i>	40	37.0	29	26.9	26	24.1
Mücadele masraflarını düşürmek için <i>To reduce fighting costs</i>	9	8.3	14	13.0	16	14.8
Pazarlama kolaylığı için <i>For marketability</i>	6	5.6	21	19.4	16	14.8
Ürünümü daha iyi fiyata satmak için <i>To sell the product at a good price</i>	1	0.9	2	1.9	7	6.5
Firma/komisyoncu ile anlaşma gereği <i>By agreement with the company/commisioner</i>	0	0.0	0	0.0	2	1.9

B/BT mücadele yöntemlerini uygulamanın halihazırda maliyetleri azaltma, farklı fiyattan ürün satma veya pazarlama kolaylığı sağlama bakımından bir avantaj oluşturmadığı üreticilerin beyanları ile de tespit edilmiştir.

B/BT mücadele uygulamalarını kullanan üreticilere bazı ifadelerle katılıp katılmadıkları sorulmuştur. Buna göre “B/BT mücadele materyallerinin maliyeti yüksek” ifadesine üreticilerin % 41.7’si kesinlikle katılmaktadır. Bu ifade için ölçek ortalaması (3.74) olarak hesaplanmış olup, üreticilerin bu ifade üzerinde olumlu yönde hemfikir oldukları anlaşılmaktadır. Üreticiler, büyük oranda, B/BT mücadele uygulaması ile ilgili, yeterli bilgiye sahip olduklarını, sermaye açısından sorunları olmadığını ifade etmişlerdir. “B/BT mücadele uygulaması için sermaye yetersizliği” ifadesine üreticilerin % 49.1’i kesinlikle katılmamaktadır. “B/BT mücadelenin başarısı kimyasal mücadeleden düşük” şeklindeki yargı bildiren ifadeye üreticilerin % 23.1’i kesinlikle katıldığını, % 38’i ise kesinlikle katılmadığını ifade etmiştir. “B/BT mücadele ile üretilen ürünler daha iyi kazanç sağlar” ifadesine ise üreticilerin % 36.1’i kesinlikle katılmadığını, % 11.1’i katılmadığını ifade etmiş, % 17.6’sı ise kararsız kalmıştır (Çizelge 4). Bu ifade için ölçek ortalaması (2.72) olarak hesaplanmış

olup, üreticilerin bu ifadeye katılıp katılmamakta kararsız kaldığı anlaşılmaktadır. Üreticilerin beklentisi B/BT mücadele ile üretilen ürünlerin pazarda farklı bir fiyat bulması yönündedir. Üreticiler, toptancı haline götürdükleri ürünlerinin B/BT mücadele uygulaması ile üretilmesinin komisyoncu ve tüccarlar tarafından dikkate alınmadığını ifade etmişlerdir. Ülkemizde tüketicilerin de çevre dostu ve insan sağlığını gözeterek uygulamalarla üretilen ürünlere farklı fiyat ödeme istekliliğinin yeterli ölçüde gelişmemiş olduğu literatürde bildirilmiştir. Örneğin Karabaş ve Gürler (2011) organik ve konvansiyonel tarım yapan üreticileri karşılaştırdıkları bir çalışmada, incelenen işletmelerde üreticilerin teknik sorunlardan çok, tüketiciye ulaşma, pazar özellikleri ve talep yetersizliği gibi ekonomik faktörlerin daha ağırlıkta olduğu sorunları dile getirdiklerini bildirmişlerdir. Sayın ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada da, iyi tarım uygulamaları yapan üreticilerin % 30.4’ünün ürünün pazarda diğer ürünlerden farklı fiyata satılması gerektiği görüşünde oldukları ifade edilmiştir. Entegre mücadele yöntemleri kullanılarak yetiştirilen ürünlere farklı fiyat verilememesi bu yöntemlerin yaygınlaşmasının önündeki engeller arasındadır (Karaturhan ve ark. 2005).

Çizelge 4. B/BT mücadele yapan üreticilerin bazı ifadelere katılım durumu (%)
Participation of producers using B/BT control to some statements

	1	2	3	4	5	Ort
B/BT mücadele materyallerinin maliyeti yüksek <i>High cost of B/BT control materials</i>	11.1	10.2	13.9	23.1	41.7	3.74
B/BT mücadele hakkında bilgi yetersizliği <i>Lack of information on B/BT control</i>	42.6	30.6	16.7	3.7	6.5	2.01
B/BT mücadele uygulaması için sermaye yetersizliği <i>Lack of capital for applying B/BT control</i>	49.1	20.4	13.9	7.4	9.3	2.07
B/BT mücadelenin başarısı kimyasal mücadeleden düşük <i>Success of B / CT control is lower than chemical control</i>	38.0	14.8	15.7	8.3	23.1	2.64
B/BT mücadele ile üretilen ürünler daha iyi kazanç sağlar <i>Products produced with B / BT control provide better profit</i>	36.1	11.1	17.6	14.8	20.4	2.72

(1) Kesinlikle katılmıyorum (2) Katılmıyorum (3) Orta derecede (4) Katılıyorum (5) Kesinlikle Katılıyorum
(1) Strongly disagree (2) Disagree (3) Neutral (4) Agree (5) Strongly agree

Biyolojik/biyoteknik mücadele hakkında bilgi kaynağı

Biyolojik mücadele uygulamasının belirli bir bilgi birikimi gerektirmesi nedeniyle üreticiler tarafından kullanılmasında zaman zaman sorunlar yaşanmakta, bu doğal düşmanların etkin bir şekilde kullanımı için yaygın bir danışmanlık hizmetinin sunulması büyük önem taşımaktadır (Kılınçer ve ark, 2010). Ege Bölgesi'nde entegre mücadelenin yayımında karşılaşılan sorunların incelendiği bir çalışmada, entegre mücadelenin yayılmasına yönelik engellerin tarım teşkilatı personelinin kaynaklananlar, üreticilerden kaynaklananlar ve diğer sorunlar olarak üç başlık altında toplandığı bildirilmiştir (Karaturhan, B ve ark., 2005). Elma yetiştiriciliğinde entegre mücadele yönteminin geliştirilebilmesi/yaygınlaştırılabilmesi için yapılması gerekenler konusunda zirai ilaç bayilerinin görüşlerini inceleyen Gül ve arkadaşları (2014), üreticilerin eğitilmesi, bilinçlendirilmesi (%50), yayım çalışmalarına gereken önemin verilmesi (%17.2) ve toplantılara üretici katılımının sağlanması (%10.3) gibi öneriler elde etmiştir.

Araştırma kapsamında görüşülen üreticilerden B/BT mücadele uygulaması yapanlara B/BT mücadele yöntemi ile ilgili bilgiye ihtiyaç duyduklarında hangi kurumlara başvurdukları sorulmuş, % 50 oranında üretici Tarım ve Orman Bakanlığı'nın yerel teşkilatına, % 44 oranında üretici B/BT mücadele ürünlerini satın aldıkları firmalara, % 38 oranında üretici ilaç ve gübre temin ettikleri bayilere, % 10.2 oranında üretici ise tarım danışmanlarına başvurduğunu beyan etmiştir. Saha gözlemleri ve üreticilerin beyanları, üreticilerin B/BT mücadele uygulamalarından haberdar olmaları konusunda Tarım ve Orman Bakanlığı'nın ilçe teşkilatı teknik personelinin önemli rol oynadığını göstermiştir. Uygulamaların destekleme kapsamında olmasının yayım personelinin elini güçlendirdiği ve yayım faaliyetlerinin çiftçi üzerindeki etkisini artırdığı düşünülmektedir.

Hastalık ve zararlılara karşı kimyasal mücadele

Hastalık ve zararlılara karşı bitki sağlığını korumak amacıyla kimyasal içerikli ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Aydın'da yapılan bir çalışmada üreticilerin % 86.0'ünün ortaya çıkan bitki zararlılarını yok etmek amacıyla kimyasal savaş yöntemini tercih ettiği bildirilmiştir (Boz ve ark,1998). Orta Sakarya havzasında yapılan bir çalışmada, üreticilerin % 78.8'inin tarla ve bahçelerinde hastalık ve zararlılar gözlenmeden ilaç kullandığı ifade edilmektedir (Tanrıvermiş, 2000). Benzer biçimde İçel'de yürütülen bir çalışmada da üreticilerin % 58.9'unun zararlı görülmediği zaman bile ilaçlama yaptığı saptanmıştır (Zeren ve ark, 1999). Ancak üretim alanlarında bilinçsiz ve yoğun pestisit kullanımının, zararlıların ilaçlara duyarlılığının azalmasına ve dayanıklılık mekanizmalarının gelişmesine neden olduğu ve mücadele maliyetlerini giderek arttırdığı da bilinen bir gerçektir. Özellikle zararlılara yönelik kimyasal mücadele uygulama sayısında azalma sağlanması, daha az işgücü istemesi, insan sağlığını gözetilen ve çevre dostu bir yöntem olması B/BT mücadele yöntemlerini zararlılarla mücadelede önemli bir alternatif kılmakta, hastalıklarla mücadelede ise B/BT beraberinde kimyasal mücadeleye devam edilmektedir.

Örtü altı sebze yetiştiriciliği yapan üreticiler arasında B/BT mücadele uygulayan grupta yer alanlar, hastalık ve zararlılarla mücadele amaçlı olarak bir üretim sezonunda ortalama 12.3 kez, uygulamayan grupta yer alanlar ise 23.4 kez kimyasal ilaç kullandığını ifade etmiştir. Yapılan istatistiksel analizde B/BT mücadele uygulayan ve uygulamayan örtü altı sebze üreticilerinden oluşan iki grubun kimyasal ilaçlama sayısı ortalamaları arasında anlamlı düzeyde bir farklılık ($p < 0.01$) bulunmuştur (Çizelge 5). Bunun yanında bu ilaçların kullanımının doğru ve tekniğine uygun olarak yapılması için teknik bilgi desteğine ihtiyaç duyulmaktadır. B/BT mücadele uygulayan üreticilerin % 87.8'i uygulamayanların ise % 85.4'ü kimyasal ilaçlarla mücadele hakkında bilgi aldıklarını ifade etmişlerdir.

Çizelge 5. Kimyasal mücadele uygulamasına ilişkin bilgiler

Table 5. Information on chemical control

	Kimyasal mücadele hakkında bilgi musunuz? Do you have information about chemical control?	B/BT mücadele uygulayan <i>Applying control</i>		B/BT mücadele uygulamayan <i>Not applying B/BT control</i>		Toplam <i>Total</i>		Kimyasal ilaçlama sayısı (Mann Whitney U) Number of chemical applying
		Adet- Number	%	Adet- Number	%	Adet- Number	%	
Örtü altı sebze Vegetable in greenhouse	Evet- <i>Yes</i>	36	87.8	35	85.4	71	86.6	0.000
	Hayır- <i>No</i>	5	12.2	6	14.6	11	13.4	
	Toplam- <i>Total</i>	41	100.0	41	100.0	82	100.0	
	Kimyasal ilaçlama sayısı (ortalama) <i>Number of chemical applying (mean)</i>		12.3		23.4		17.9	
	Kimyasal ilaçlama sayısı (std. sapma) <i>Number of chemical applying (standard deviation)</i>		8.951		8.33		10.242	
	Evet- <i>Yes</i>	27	87.1	29	93.5	56	90.3	
	Hayır- <i>No</i>	4	12.9	2	6.5	6	9.7	
	Toplam- <i>Total</i>	31	100.0	31	100.0	62	100.0	
	Kimyasal ilaçlama sayısı (ortalama) <i>Number of chemical applying (mean)</i>		4.3		7.3		5.8	
	Kimyasal ilaçlama sayısı (std. sapma) <i>Number of chemical applying (standard deviation)</i>		2.519		2.657		2.972	
Turunçgil Citrus	Evet- <i>Yes</i>	25	69.4	27	75.0	52	72.2	0.000
	Hayır- <i>No</i>	11	30.6	9	25.0	20	27.8	
	Toplam- <i>Total</i>	36	100.0	36	100.0	72	100.0	
	Kimyasal ilaçlama sayısı (ortalama) <i>Number of chemical applying (mean)</i>		22.4		22.8		22.6	
	Kimyasal ilaçlama sayısı (std. sapma) <i>Number of chemical applying (standard deviation)</i>		4.080		5.329		4.7170	
Elma Apple	Kimyasal ilaçlama sayısı (ortalama) <i>Number of chemical applying (mean)</i>		22.4		22.8		22.6	0.783
	Kimyasal ilaçlama sayısı (std. sapma) <i>Number of chemical applying (standard deviation)</i>		4.080		5.329		4.7170	

Turunçgil üretim alanlarında görülen zararlılara karşı genellikle kimyasal mücadele uygulandığı, oysa

turunçgil ekosisteminde çok fazla parazitoit ve predatör türlerin doğal olarak bulunduğu ve

uygulanan kimyasalların başta bu doğal düşmanlar üzerinde olmak üzere bir çok olumsuz etki yarattığı bildirilmiştir (Satar ve ark, 2012). Turunçgil üretim faaliyetinde B/BT mücadele yöntemi kullanımı, doğal ortamda bulunan veya insan eliyle bahçeye salınan avcı türlere zarar vermemek adına, kimyasal mücadele kullanımının önemli ölçüde azalmasını sağlamaktadır. Görüşülen turunçgil üreticileri arasında B/BT mücadele uygulayan grupta yer alanlar üretim sürecinde hastalık ve zararlılarla mücadele amaçlı olarak ortalama 4.3 kez, uygulamayan grupta yer alanlar ise 7.3 kez kimyasal ilaç kullandığını ifade etmişlerdir. İki grubun kimyasal ilaçlama sayısı ortalamaları arasında anlamlı düzeyde bir farklılık ($p < 0.01$) vardır. B/BT mücadele uygulayan turunçgil üreticilerinin % 87.1'i uygulamayanların ise % 93.5'i kimyasal ilaçlarla mücadele hakkında teknik bilgi desteği aldıklarını ifade etmişlerdir.

Elma yetiştiriciliği yapan üreticiler arasında B/BT mücadele uygulayan grupta yer alanlar üretim sürecinde hastalık ve zararlılarla mücadele amaçlı olarak ortalama 22.4 kez, uygulamayan grupta yer alanlar ise 22.8 kez ilaç kullandığını ifade etmiştir. B/BT mücadele uygulayan ve uygulamayan elma üreticilerinden oluşan iki grubun kimyasal ilaçlama sayısı ortalamaları arasında anlamlı düzeyde bir farklılık ($p > 0.05$) yoktur (Çizelge 5). Elmada kaliteyi etkileyen en önemli unsurların başında karaleke hastalığının geldiği, Isparta yöresinde ticari anlamda yetiştiricilik yapan üreticilerin hastalığın meyveye bulaşmasını önlemek için hiçbir ilaç ve ilaçlama masrafından kaçınmadıkları, bir yılda karalekeye karşı ortalama 13 defa ilaçlama yapıldığı bildirilmiştir (Boyras ve ark, 2005). Karamürsel ve ark. (2004) tarafından Eğirdir ilçesinde yapılan bir araştırmada da yörede elma yetiştiriciliğinde görülen en yaygın hastalığın karaleke, en yaygın zararlıların ise iç kurdu ve kırmızı örümcek olduğu ifade edilmiştir. Görüldüğü gibi hastalık ve zararlılarla mücadelenin birlikte yürütülüyor olması ve kara leke hastalığının tahripkar etkisi nedeniyle yoğun mücadele gerekliliği, her iki grup arasında ilaçlama sayısının aynı kalmasının nedeni olarak yorumlanabilir. Isparta ili elma üretim alanlarında yürütülen bir başka çalışmada ise işletmelerde fazla ilaç kullanımının, uygulanan dozun ve ilaçlama sayısının fazla olması ile her ilaçlamada birden fazla ilacın karıştırılarak uygulanmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir (Demircan ve Yılmaz, 2005). B/BT mücadele uygulayan üreticilerin % 69.4'ü uygulamayanların ise % 75.0'i kimyasal ilaçlarla mücadelede teknik destek aldıklarını ifade etmişlerdir.

Üreticilerin hastalık ve zararlılarla mücadele sırasında kullandıkları kimyasal ilaçlar ve kimyasal mücadele hakkında teknik destek kaynakları ağırlıklı

olarak bu kimyasalların satışını yapan ilaç bayileridir. B/BT mücadele uygulayan üreticilerin % 63.9'u, uygulamayanların % 66.7'si, tüm üreticilerin de % 65.3'ü için bilgi kaynağı ilaç ve gübre satışı yapan bayilerdir. Karataş ve Alaoğlu (2011) tarafından Manisa'da yürütülen çalışmada da üreticilerin % 68.0'i ilaç seçiminde ilaç bayilerinden tavsiye aldıklarını bildirmişlerdir. Antalya ilinde yürütülen bir araştırmada ise üreticilerin % 30.5'i ilaç bayilerinin önerilerine, % 28.0'i hastalık ve zararlıların fiilen görülmesine, % 25.6'sı özel danışmanın önerilerine, % 15.9'u ise Tarım İl Müdürlüğünde çalışan görevlilerin önerilerine göre kimyasal ilaçlamaya karar verdiklerini ifade etmişlerdir (Kutlar ve Ceylan, 2008).

Biyolojik/biyoteknik mücadele materyali kullanmama nedeni

Kılınçer ve ark. (2010) yapmış oldukları çalışmada biyolojik mücadele uygulamalarının son derece sınırlı ve bireysel uygulamalar olarak kaldığını ifade etmektedir. Karaturhan ve ark. (2005)' na göre; üreticiler alışkanlıklarını bırakamamaları, entegre ilaçlarının pahalı olmasından kaynaklanan ürün kaybetme korkusu, ilaç ve gübre bayilerinin etkisinde kalmaları, diğer üreticilerden etkilenmeleri, entegre ürün ve girdilerin destek kapsamında olmaması, kültürel önlemlerin zorluğu, tarım teşkilatına güvensizlik, entegre mücadele uygulayan bazı üreticilerin diğer üreticilere bilgi aktarmamaları ve benzeri gerekçelerle entegre mücadele uygulamalarına isteksiz kalmaktadırlar.

Aile işletmeciliğinin sağladığı avantajlar kullanılarak çevre dostu tarımın geliştirilebileceği, bunun için modern girdilerin kullanımını azaltmak yerine, bunları kontrol etmek ve yanlış kullanımını önlenmek gerektiği, çevre dostu yöntemlerle üretilen ürünlerin desteklenmesinin önemi Karaer ve Gürlük (2003) tarafından bildirilmiştir.

B/BT mücadele uygulaması yapmayan üreticilere, destekleme ödemesi olmasına rağmen hastalık ve zararlılara karşı mücadelede neden B/BT mücadele materyali kullanmadıkları sorulmuştur (Çizelge 6).

Çizelgeden de görüldüğü gibi, üreticilerin % 32.4'ü B/BT mücadele uygulamasının yüksek maliyetli olduğunu, % 19.4'ü B/BT mücadele materyallerinin zamanında ve yeterli miktarda temin edilemediğini, % 15.7'si bu destekleme modelinden habersiz olduğunu, % 13.9'u B/BT mücadele uygulamasında verimin düşük olduğunu, % 12.9'u B/BT mücadele uygulamasının etkili olmadığını, % 9.2'si komşu bahçelerde uygulanmadığı müddetçe kendisinin kullanmasının anlamlı olmadığını ifade etmişlerdir. Elde edilen sonuçlar bu çevre dostu yöntemleri kullanmaktan kaçınılmasına neden olan çok sayıda etken olduğunu ortaya koymaktadır.

Çizelge 6. B/BT mücadele materyallerini kullanmama nedeni
Table 6. Reason for not using B / BT control materials

	B/BT mücadele uygulamayan <i>Not applying B/BT control</i>	
	Adet (Number)	%
Bu destekleme modelinden habersizim (<i>I am unaware of this support model</i>)	17	15.7
B/BT mücadele uygulaması yüksek maliyetli <i>High cost of B / IT control application</i>	35	32.4
B/BT mücadele materyalleri yeterince ve zamanında temin edilemiyor <i>B / BT control materials cannot be provided adequately and on time</i>	21	19.4
B/BT mücadele uygulamasında verim düşüklüğü olduğunu düşünüyorum <i>Efficiency is low when B / BT control is applied</i>	15	13.9
B/BT mücadele uygulamasının etkili olmadığını düşünüyorum <i>B / BT control implementation is not effective</i>	14	12.9
Komşu bahçelerde uygulanmadığı için anlamlı değil <i>Does not make sense because it is not applied in neighboring gardens</i>	10	9.2
Diğer (<i>Others</i>)	16	14.8

Çiftçilerin çevre duyarlılıklarının belirlenmesi

Üreticilerin Yeni Çevresel Paradigma Ölçeğinde yer alan ifadelerle vermiş oldukları cevaplara bağlı olarak saptanan çevresel tutumları Çizelge 7'de verilmiştir. Buna göre araştırma kapsamında görüşülen çiftçilerin çevre tutumu ortalama 3.58 olarak belirlenmiştir. Günden ve Miran (2008) tarafından İzmir İli Torbalı İlçesinde yapılan çalışmada ise yörede bulunan çiftçilerin çevre tutumunun ortalama 3.62 olarak belirlendiği, buna göre yöre çiftçilerinin doğal çevreye duyarlılığının yaklaşık orta derecede olduğu ifade edilmiştir. Kutlar (2016) tarafından Antalya İli Merkez İlçesinde "Entegre Mücadele Araştırma, Uygulama ve Eğitim" projesine katılan ve katılmayan üreticilerle yapılan bir çalışmada, üretim sırasında aşırı ve yanlış kimyasal ilaç kullanımının çevreye olumsuz etkileri olacağına dair görüşe, eğitim projesine katılan üreticilerin % 26.8'i, katılmayan üreticilerin ise % 12.2'si olumlu görüş bildirmiştir. Kızılaslan ve Kızılaslan (2005) tarafından, çiftçilerin tarımsal ilaç kullanıp kullanmadıkları, nasıl karar verdikleri ve dikkat ettikleri konuların araştırıldığı çalışmanın sonuçlarına göre tarımsal ilaç kullanan çiftçilerin % 50'sinin orta, % 27.8'inin yüksek, %22.2'sinin düşük çevre bilinç düzeyine sahip olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmaya göre ilaç satın alırken çevre ve insan sağlığına zararlılık düzeyini sorgulayan çiftçilerin oranı sadece %5.6'dır.

B/BT mücadele yöntemini uygulayan ve uygulamayan üreticilerin çevresel paradigma ölçeği puanlarını kıyaslamak için bağımsız örneklem t testi yürütülmüştür. Yapılan testin sonuçlarına göre B/BT mücadele yapan üreticiler (Ort: 53.68, Std. Sp:5.43) ve B/BT mücadele yapmayan üreticiler (Ort: 53.70, Std. Sp:5.57) arasında anlamlı bir fark yoktur. Çevre duyarlılığının her iki grupta da eşit ve orta düzeyde olduğu sonucu, B/BT mücadele gibi çevre dostu yöntemlere her iki gruptaki üreticilerin de ilgi gösterebileceğini düşündürmektedir. Bir grubun uygulaması ve diğer grubun uygulamamasının

arkasındaki gerekçeler olarak, çiftçilerin bu yöntemler hakkında yeterli bilgi sahibi olmaması, yöntemlerin etkinliği hakkında ikna olmadığından ürününü riske sokmak istememesi ve B/BT mücadele materyalleri ile birlikte kullanılabilen kimyasalların yüksek fiyatlı oluşundan kaynaklanan maliyet artışları sıralanabilir. Bu gerekçelere istinaden yöntemler hakkında teknik bilgi veren yayım faaliyetlerinin artırılmasının ve yöntemlerin destekleme kapsamında kalmaya devam etmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

SONUÇ

Araştırma sonuçlarına göre; örtü altı sebze yetiştiriciliğinde üreticilerin B/BT mücadele uygulamalarını benimsemelerinde uygulamaların sağladığı avantajlar ön plana çıkmıştır. Örtü altı sebze yetiştiriciliği faaliyeti çoğunlukla küçük aile işletmeleri ölçeğinde yürütüldüğü ve yoğun işgücü kullanımı gerektiğinden uygulama kolaylığı sağlayan B/BT yöntemlerine ilgi giderek artmaktadır. Turunçgil yetiştiriciliğinde ise birbirine komşu parsellerin tümünde uygulama yapılmadığından çok başarılı sonuçlar alınamayacağı görüşü yaygındır.

B/BT mücadele yöntemlerini uygulayan üreticilerin öncelikli olarak insan ve çevre sağlığını düşündükleri için bu yöntemleri benimsedikleri anlaşılmaktadır. Fakat bunun yanında B/BT mücadele materyallerinin yüksek maliyetli oluşu görüşü bu üretici grubu arasında da yaygındır. B/BT mücadele uygulamayan üreticiler ise B/BT mücadele uygulamasının yüksek maliyetli oluşunu, biyolojik mücadele materyallerinin zamanında ve yeterli miktarda temin edilememesini, destekleme ödemesinden habersiz olduklarını uygulama yapmamalarının başlıca gerekçeleri olarak ifade etmişlerdir. Çevresel tutum ve çevreye olan duyarlılık düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında iki üretici grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamış olup çevre duyarlılıkları orta derecede olarak ifade edilebilir.

Çizelge 7. Çiftçilerin çevresel duyarlılık durumu
Table 7. Environmental awareness of producers

		Ortalama			
		B/BT mücadele uygulayan <i>Applying B/BT control</i>	B/BT mücadele uygulamayan <i>Not applying B/BT control</i>		
1. Dünyanın barındırabileceği insan sayısı üst sınırına yaklaşıyoruz <i>1. We are approaching the limit of the number of people the earth can support.</i>		3.44	3.65		
2. İnsanların doğayı ihtiyaçlarına uygun şekilde düzenleme hakkı vardır <i>2. Humans have the right to modify the natural environment to suit their needs.</i>		2.55	2.72		
3. İnsanlar doğa ile ters düştüğünde genellikle feci sonuçlar ortaya çıkar <i>3. When humans interfere with nature, it often produces disastrous consequences.</i>		4.44	4.46		
4. İnsan aklı bir şekilde çevre sorunlarının da üstesinden gelecektir <i>4. Human ingenuity will insure that we will not make the earth unlivable</i>		3.32	3.29		
5. İnsanlar doğayı ciddi şekilde istismar etmektedir <i>5. Humans are severely abusing the environment.</i>		4.54	4.40		
6. Eğer nasıl geliştirebileceğimizi bilebilirsek dünyada bol miktarda doğal kaynak mevcuttur <i>6. The earth has plenty of natural resources if we learn how to develop them</i>		4.11	4.07		
7. İnsanlar gibi bitkiler ve hayvanların da bu dünyada var olma hakları mevcuttur <i>7. Plants and animals have as much right as humans to exist.</i>		4.44	4.60		
8. Doğanın dengesi modern sanayileşmiş ulusların etkileriyle başa çıkabilecek kadar güçlüdür <i>8. The balance of nature is strong enough to cope with the impacts of modern industrial nations.</i>		2.79	2.58		
9. Özel yeteneklerimize rağmen biz insanlar halen doğanın kanunlarına tabiyizdir. <i>9. Despite our special abilities humans are still subject to the laws of nature.</i>		4.27	4.25		
10. İnsanların karşı karşıya olduğu şu meşhur ekolojik kriz çok fazla abartılmaktadır <i>10. The so-called "ecological crisis" facing human kind has been greatly exaggerated.</i>		2.58	2.64		
11. Dünya çok sınırlı sayıda odası ve kaynakları olan bir uzay gemisine benzemektedir <i>11. The earth is like a spaceship with very limited room and resources.</i>		3.06	3.14		
12. İnsanlar doğanın kendileri dışında kalan kısmına hükmetmek üzere yaratılmışlardır <i>12. Humans were meant to rule over the rest of nature.</i>		2.81	2.61		
13. Doğanın dengesi çok kırılgandır ve kolayca bozulabilir <i>13. The balance of nature is very delicate and easily upset.</i>		4.06	4.12		
14. İnsanlar doğayı kontrol edebilmek için onun nasıl işlediğine ilişkin yeterli bilgiyi er geç öğreneceklerdir. <i>14. Humans will eventually learn enough about how nature works to be able to control it.</i>		3.35	2.90		
15. Eğer işler şu an oldukları gibi devam ederse yakında büyük bir ekolojik felaketle karşılaşacağız <i>15. If things continue on their present course, we will soon experience a major ecological catastrophe.</i>		3.94	4.27		
Çevresel paradigma ölçeği toplam puanı <i>Ecological paradigm scale total point</i>	Uygulama tipi Type of applying B/BT mücadele uygulayan <i>Applying B/BT control</i> B/BT mücadele uygulamayan <i>Not applying B/BT control</i>	Toplam <i>Total</i> 53.68 53.70	Ort <i>Mean</i> 3.58 3.58	Std.Sp <i>SD</i> 5.429 5.572	t- testi <i>t-test</i> t: -0.037 Sig: 0.970

(1) Kesinlikle katılmıyorum (2) Katılmıyorum (3) Orta derecede (4) Katılıyorum (5) Kesinlikle Katılıyorum
(1) Strongly disagree (2) Disagree (3) Neutral (4) Agree (5) Strongly agree

Gerek insan sağlığı ve doğal denge açısından, gerekse zararlılarda kimyasallara karşı direnç oluşumu ve yoğun kimyasal kullanımının önlenmesi amacıyla üreticilerin B/BT mücadele uygulamasına teşviki son derece önemlidir. Bu yöntemler hakkında üreticilere teknik bilgi veren yayım faaliyetlerinin artırılması kısa vadede yapılabileceklerin başında gelmektedir. Bu yöntemlerin yaygınlaştırılması için üreticiler bu mücadele yöntemleri hakkında bilgilendirilmeye ve maddi olarak desteklenmeye devam edilmeli, bunun yanında tüketicilere de bu yöntemlerle üretilmiş ürünleri tüketme eğilimi yaratacak bilgilendirme çalışmaları yapılmalıdır. B/BT mücadele yöntemlerinin uygulanmasında, gerek üreticilerin eksik bilgi ve ihmallerinden ve gerekse aparat ve canlı materyalleri pazarlayan firmaların satış sonrası ziyaretlerinin yetersizliğinden kaynaklanan aksaklıkların giderilmesi, uygulamaların başarısına olan inancı güçlendirecektir. Büyük bölümü ithal edilen B/BT mücadele materyallerinin yüksek maliyetleri üreticileri bu uygulamalardan uzaklaştırmakta, yöntemlerin uygulanması sırasında yaşanan gecikmelerin de ithalat sürecinden kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Bu nedenle B/BT mücadele uygulamalarının yaygınlaşmasına katkı sağlayacak yerli B/BT materyallerinin üretimi için gerekli alt yapı ve girişimlerin desteklenmesi hususu yetkililer tarafından orta ve uzun vadeli hedefler arasına alınmalıdır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, 2017-2018 yıllarında Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'nün fon desteği ile yürütülen bir projeden elde edilen verilerle hazırlanmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Anonim 2014 a. Kalkınma Bakanlığı 10. Kalkınma Planı Bitkisel Üretim ÖİK Raporu. s:26-28
Anonim 2014 b. Bölge Planı 2014-2023. TR Düzey 2 Bölgesi. Batı Akdeniz Kalkınma Ajansı, s.61, Antalya.
Anonim 2015. Ülkemizde Zirai Mücadele Girdilerinin Değerlendirilmesi, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/zmmae/Belgeler/SolMenu/Yayinlar/ÜlkemizdeZiraiMucadeleGirdilerininDeğerlendirilmesi.pdf> (Erişim tarihi: 01.02.2019)

Ateş A, Sayın C 2008. Antalya İlinde Örtüaltı Yetiştiriciliğinde Özel Tarımsal Danışmanlık Hizmetleri Üzerine Bir Araştırma. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(2): 251-263.
Birişik N, Altındişli Ö, Kılıç T, Özsemerci F, Turanlı T, Kaplan C, Tolga F, Kovancı O.B, Pehlevan B, Turanlı D, Işık F, Yılmaz E 2013. Teoriden Pratiğe Biyoteknik Mücadele. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü. 189 s.
Boyraz N, Kaymak S, Yiğit F 2005. Eğirdir İlçesi Elma Üreticilerinin Kimyasal Savaşım Uygulamalarının Genel Değerlendirilmesi. S.Ü Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(36): 37-51.
Boz Ö, Erol T, Benlioğlu S, Öncüer C 1998. Aydın İli Zirai Mücadele Uygulamalarının Sosyo-Ekonomik Yönden Değerlendirilmesi. Türk Entomoloji Dergisi, 22(2): 123-136.
Bulut E, Göçmen H 2000. Pests and Their Natural Enemies on Greenhouse Vegetables in Antalya. Bulletin OILB Srop, 23(1): 33-37.
Cordano M, Welcomer SA, Scherer RF 2003. An Analysis of The Predictive Validity of The New Ecological Paradigm Scale. The Journal of Environmental Education 34, 22-28.
Çelik A, Karakaya E 2017. Bingöl İli Adaklı İlçesi Elma Üreticilerinin Tarımsal İlaç Kullanımında Bilgi Tutum ve Davranışlarının Değerlendirilmesi ve Ekonomik Analizi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 4(2): 119-129.
Çiçek A, Erkan O 1996. Tarım Ekonomisinde Araştırma ve Örneklemeye Yöntemleri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 12, Ders Notları Serisi No: 6, Tokat
Delen N, Tosun N, Toros S, Öztürk S, Yücel A, Çalı S 1995. Tarım İlaçları Kullanımı ve Üretimi. Türkiye Ziraat Mühendisliği 4.Teknik Kongresi, TC Ziraat Bankası Kültür Yayınları No:26, 1015-1028, 9-13 Ocak, Ankara.
Delen N, Durmuşoğlu E, Günçan A, Güngör N, Turgut C, Burçak A 2005. Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongre, 629-648, 3-7 Ocak, Ankara.
Demircan V, Yılmaz H 2005. Isparta İli Elma Üretiminde Tarımsal İlaç Kullanımının Çevresel Duyarlılık ve Ekonomik Açından Analizi. Ekoloji, 14(57):15-25.
Dunlap RE, Van Liere KD, Merting AG, Jones RE 2000. Measuring Endorsement of The New Ecological Paradigm: A Revised Scale. Journal of Social Issues 56, 425-442.
Gül M, Akpınar MG, Demircan V, Yılmaz H, Bal T, Arıcı ŞE, Polat M, Şan B, Eraslan F, Örmeci Kart MÇ, Gürbüz D, Yılmaz ŞG 2014. Zirai İlaç Bayilerinin Yapısı ve Entegre Mücadele Konusundaki Tutum ve Davranışları, Süleyman

- Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 9 (1):11-25, 2014.
- Günden C, Miran B 2008. Yeni Çevresel Paradigma Ölçeğiyle Çiftçilerin Çevre Tutumunun Belirlenmesi: İzmir İli Torbalı İlçesi Örneği. Ekoloji 18, 69, 41-50.
- Karabaş S, Gürler Z 2011. Organik Tarım ve Konvansiyonel Tarım Yapan İşletmelerin Karşılaştırmalı Analizi. KMÜ Sosyal ve Ekonomik Araştırmalar Dergisi, 13(21): 75-84.
- Karabat S, Atış E 2012. Manisa İli Bağ Alanlarında Kullanılan Tarımsal İlaçların Gıda Güvenliğine Etkisinin Koşullu Değerleme Yöntemiyle Analizi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 2012, 49 (1): 17-25
- Karaer F, Gürlük S 2003. Gelişmekte Olan Ülkelerde Tarım-Çevre-Ekonomi Etkileşimi. Doğu Üniversitesi Dergisi, 4 (2): 197-206
- Karamürsel D, Öztürk FP, Öztürk G, Kaymak S, Eren İ, Akgül H 2004. Eğirdir Yöresi Elma Yetiştiriciliğinin Durumu ve Sorunlarının Belirlenmesi ile Ekonomik Yönden Değerlendirilmesi. Türkiye VI. Tarım Ekonomisi Kongresi, 225-231, 16-18 Eylül, Tokat.
- Karataş E, Alaoğlu Ö 2011. Manisa İlinde Üreticilerin Bitki Koruma Uygulamaları. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 48 (3): 183-189
- Karaturhan B., Boyacı M, Yaşarakıncı N 2005. Ege Bölgesinde Entegre Mücadelenin Yayımlarında Karşılaşılan Sorunlar: Örtü Altı Sebze Yetiştiriciliği Örneği, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 42(2):155-166.
- Kılınçer N, Yiğit A, Kazak C, Er MK, Kurtuluş A, Uygun N 2010. Teoriden Pratiğe Zararlılarla Biyolojik Mücadele, Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 1 (1): 15-60.
- Kızılaslan H, Kızılaslan N 2005. Çevre Konularında Kırsal Halkın Bilinç Düzeyi ve Davranışları (Tokat İli Artova İlçesi Örneği). ZKÜ Sosyal Bilimler Dergisi, 1(1):67-89.
- Kutlar İ 2016. Örtüaltı Sebze Yetiştiriciliğinde Entegre Mücadele Yönteminin Gıda Güvenliği Açısından Önemi: Antalya İli Örneği. XII. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi, Cilt:3, 2001-2010, 25-27 Mayıs, Isparta.
- Kutlar İ, Ceylan C 2008. Antalya İli Merkez İlçesinde Entegre Mücadele Yönteminin Yayılması ve Benimsenmesi. Bahçe 37 (1): 25 – 33.
- Özkan A, Akıncı AR, Soysal A 1991. Antalya İlinde Çiftçilerce Zararlı Mücadelenin Kavranması ve Uygulamaları Konulu Survey. Derim, 8(2): 56-75.
- Satar S, Karacaoğlu M, Satar G 2012. Turunçgil Bahçelerinde Kullanılan Bazı İlaçların Yaprakbiti Parazitoidlerinden *Lysiphlebus confusus* Tremblay & Eady, *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) ve *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae)'e Karşı Etkileri. Türk Entomoloji Dergisi, 36(1): 83-92.
- Sayın B, Çelikyurt MA, Kuzgun M, Aydın B 2015. Antalya İlinde Örtüaltı Yetiştiriciliği Yapan Üreticilerin İyi Tarım Uygulamalarına Yaklaşımı. Derim, 32(2):171-186.
- Tanrıvermiş H 2000. Orta Sakarya Havzasında Domates Üretiminde Tarımsal İlaç Kullanımının Analizi. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 42, Ankara.
- Tiryaki O, Canhilal R, Horuz S 2010. Tarım İlaçları Kullanımı ve Riskleri. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 26(2): 154-169.
- Topuz E 2005. Tarımsal Zararlılarla Mücadelede Kimyasal Pestisitlere Alternatif Bazı Yöntemler. Derim, 22 (2), 53-59.
- Tüzel Y, Öztekin GB, Karaman İ 2010. Serik İlçesindeki Modern ve Geleneksel Sera İşletmelerinin Üretici Özellikleri, Sera Yapısı ve Sebze Üretim Teknikleri Bakımından Karşılaştırılması, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 47 (3): 223-230
- Yamane T 1967. Elementary Sampling Theory Prentice. Hall Inc, Englewood Cliffs, 405 p., N.J., USA
- Yanar D, Yanar Y, Erdal H, Erdal G, Poyraz E 2018. Antalya İlinde Örtü Altı Yetiştiriciliğinde Karşılaşılan Bitki Koruma Sorunları ve Üretici Bilinç Düzeyi. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi, 7(3) : 38-48
- Yıldırım Ç, Başer U, Türkten H, Soytopak H, Ceyhan V 2016. Antalya İli Kaş İlçesinde Örtüaltı Yetiştiriciliğinde Biyolojik Mücadele Yapan ve Yapmayan İşletmelerin Karşılaştırmalı Analizi. XII. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi, 1. Cilt, 147-156, 25-27 Mayıs, Isparta.
- Zeren O, Erem G 1999. İçel İlinde Turunçgil ve Sebzelelerde Kullanılan Pestisitler. Türkiye Tarım Kredi Kooperatifleri Merkez Birliği Türk-Koop Ekin, 7, 63-65, Ankara.



The Factors Affecting Food Security in the Eastern Region of Afghanistan

Asıf Khan AHMADZAI¹, Cuma AKBAY^{2*}

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalı, Kahramanmaraş,
²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Kahramanmaraş

¹<https://orcid.org/0000-0001-5644-2404>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7673-7584>

*: cakbay@ksu.edu.tr

ABSTRACT

Household food insecurity has become a significant problem in recent years in Afghanistan particularly in the eastern region which is caused by numerous factors. Hence, the purpose of this paper was to examine and analyze the factors that affect food security at the household level in the eastern region of Afghanistan. Government and international organizations have jointly conducted the household survey in the Eastern Region of Afghanistan containing 9774 households over 99310 individuals in 49 districts. The result showed that the critical factors of food insecurity were caused by insecurity, poverty; unsustainable livelihoods, lack of job opportunities; low wage and income, landlessness in rural areas, and a huge influx of refugee and internally displaced people (IDP) migration. The study found that 46.9% of households were food insecure while 49.6% faced hunger in the last one month and 48% of households had poor and borderline food consumption score. Furthermore, 46.2% of households had moderate to extremely reduced copy strategy index.

Research Article

Article History

Received : 19.08.2019
Accepted : 08.11.2019

Keywords

Household
Food
Insecurity
Consumption
Afghanistan

Afganistan'ın Doğu Bölgesinde Gıda Güvenliğini Etkileyen Faktörler

ÖZET

Hanehalkı gıda güvensizliği son yıllarda Afganistan'da özellikle doğu bölgesinde çok sayıda faktörün neden olduğu önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu çalışmanın amacı, Afganistan'ın doğu bölgesindeki hanehalkı düzeyinde gıda güvenliğini etkileyen faktörleri incelemek ve analiz etmektir. Bu çalışmada, Afganistan hükümeti ve uluslararası kuruluşların ortaklaşa yürüttükleri ve Afganistan'ın Doğu Bölgesinde 49 ilçede 99310'dan fazla kişiden oluşan 9774 hanehalklarıyla gerçekleştirilen anketler kullanılmıştır. Analiz sonuçları, gıda güvensizliğinin kritik faktörlerinin güvensizlik, yoksulluk; sürdürülemez geçim kaynakları, iş imkanı eksikliği; düşük ücret ve gelir, kırsal alanlarda topraksızlık ve büyük mülteci ve yaşadığı bölgeyi terk ettirilen insanlar göçü olduğunu göstermektedir. Araştırmada, hanehalklarının %46.9'unun gıda güvensizliği olduğunu, % 49.6'sının son bir ayda açlıkla karşı karşıya kaldığını ve hanelerin %48'inin kötü ve sınırda yiyecek tüketim skoru yaşadığını saptamıştır. Ayrıca, hanehalklarının %46.2'sinde azaltılmış kopya stratejisi endeksi orta, yüksek veya çok yüksek düzeyde bulunmuştur.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 19.08.2019
Kabul Tarihi : 08.11.2019

Anahtar Kelimeler

Hanehalkı
Gıda
Güvensizlik
Tüketim
Afganistan

To Cite : Ahmadzai AK, Akbay C 2020. The Factors Affecting Food Security in the Eastern Region of Afghanistan. KSU J. Agric Nat 23 (2): 000-000. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.596442

INTRODUCTION

Household food security can be defined as "access by all people at all times to enough food for an active, healthy life (World bank, 1986; Maxwell et al., 1999). Food security is a situation that exists when all people, at all times, have physical, social and economic access to sufficient, safe and nutritious food that meets their dietary needs and food preferences for an active and healthy life (FAO, 2003; Uzma and Mohammad, 2004;

Zalilah Mohd and Khor, 2008; FAO, 2009; Lemba, 2009; Crush and Frayne, 2011; Hamad and Khashroum, 2016). Food insecurity, which is the absence of one or more of these conditions, is a major cause of malnutrition that can affect health condition and damage mental and physical development (FAO, 2009; Hala et al., 2015).

The determinants of food security vary at different levels from global to regional and national to household

and individual levels because food security is known as a multidimensional phenomenon about climate change, natural disasters, civil conflicts, and social norms (Abdullah et al., 2017). All of these definitions consist of four dimensions: availability, access, utilization, and stability (Gittlesohn et al., 1998; Weismann, et al., 2009; Anna and Joliffe, 2011; Philip, 2014). Nevertheless, there is no a specific indicator to capture all dimensions of household food security (Calogero et al., 2013). Hence, a combination of these indicators indicates the multifaceted reality of household food insecurity.

Indeed, a level of household hunger or food insecurity must be addressed by getting information on different circumstances, performances, and experiences that serve as indicators of the unreliable degrees of severity of the situation or state. However, the measurement of household food security is a complicated issue; and the most appropriate tool is the Household Food Insecurity Scale (HFIS) to measure the food insecurity of households (Onismo, 2015).

Afghanistan is considered to be one of the food and nutrition insecure countries where a large number of households experience in lack of food and malnutrition by environmental disasters, poverty and four decades of internal and external conflicts and wars. Therefore, Afghanistan was ranked 171st food secure country of the world in 2015 in UNDP Human Development Index report (FSIN, 2017). In addition, Afghanistan has one of the lowest Human Development Index (0.374) in the world (UNDP, 2013). Besides, the poverty is continuously increasing in the country, as Afghanistan Living Conditions Survey (ALCS, 2017) reported that in the last seven years, there has been an increase in poverty from 36% to 43% in overall Afghanistan particularly in eastern region, because of a large influx of internally displaced people (IDP) and returnees from neighboring countries Pakistan and Iran. On the other hand, there are 11.1 million food-insecure people in Afghanistan (SFSA 2017). More or less 60% of children under the age of five years experienced chronic and 8% suffered from acute malnutrition (Johnecheck and Holland, 2007).

The National Risk and Vulnerability Assessment in 2012 estimated that 30.1% or 7.6 million people of the Afghans are severely to reasonable food insecure and among these, 8.5% or 2.2 million people is extremely food insecure; as food consumption is on average less than 1500 Kcal per person per day (AFSANA, 2014). Nevertheless, according to the 2012 statistics, about one-third of the Afghan population suffered from food insecurity, and 36% lived under the national poverty line (CSO, 2013).

The SFSA in 2017 noted that the high rate of chronic food insecurity, which is not the result of a specific shock, especially among landless households, is indicating that availability of food (Poor harvests) was not seemed to be the major driver of food insecurity,

and access to food (distribution of the food available) were important factors.

The households both in the urban and rural areas are bared to risk and vulnerability to food insecurity. The urban households experience more financial shocks, but the rural households are more faced with natural disasters and security. Thus, it is estimated that on average Afghan households spent between 56-77% of their total income on food (CSO, 2008; CSO, 2013). The most vulnerable are women and children, not only in Afghanistan but also all over the world as it is estimated that 60% of those hungry being women and more or less two-thirds of the affected households live in the Pacific region and Asia (FAO, 2017), followed by the elderly and disabled.

The high rate of food insecurity is caused by the lack of access to a sustainable income in the country, because of the high susceptibility of such a large share of the households, major shocks, siege, conflicts, floods, earthquakes, droughts or price changes, can quickly degenerate in acute food security emergencies. Nevertheless, there are some other principal factors as well; for example, security, instability, low wages and salaries, lack of job opportunities, low household income, inadequate local production of cereals especially wheat, declining livestock production, lack of access and poor quality of drinking water, insufficient water resources for agriculture, lack of education and health service particularly for rural areas, and refugee and IDP migration (Michael et al., 2007).

Eastern region is considered as a food insecure region due to physical security as well as returning a large influx (1.6 million) of returnees from neighbor countries Pakistan and Iran into the region (SFSA, 2017). On the other hand, food insecurity was high in the insecure areas of the region, which is linked to lack of employment opportunities, landscaping, lack of access to agricultural land and water. However, in 2017, Afghanistan has experienced an important factor affecting household food security: Half of the country has been controlled by Anti Government Elements that is limiting access to public services such as road transportation, education or health services.

The objective of this study is to analyze the factors affecting household food security and show the status of household food insecurity and coping strategies to minimize food insecurity among all households in the Eastern Region of Afghanistan. This study will help and give a bright conception on analyzing the socio-economic characteristics of households, household hunger score, food security situation, the level of food insecurity, key factors affecting food availability and shocks causing of food insecurity, reduce food consumption coping strategy, main income sources, food expenditure share and food consumption degree in the eastern region.

MATERIAL and METHOD

The primary data of this study comes from a large household survey which was jointly conducted between May and September 2017 by the government of Afghanistan and international organizations in the eastern region. This was the first survey that has been done about household food insecurity in one region.

The survey was conducted on 9774 households in the eastern region of Afghanistan which consists of four provinces Nangarhar, Laghman, Kunar, and Nuristan and each includes many districts, villages and households. It was targeted to cover 10257 households including IDPs, Returnees, and locals in this study, but due to security concerns, 9774 households were included. Furthermore, the households were divided by cluster-based which were the most food insecure districts of the eastern region.

The data collection was carried out, when the physical insecurity increased in the country and the forced return of millions of refugees, mostly from Pakistan and Iran and marked by massive internal displacement, for accuracy. During the data collection group discussions were conducted with the community elders on average 25 persons of the selected communities to make sure that the collected data is representing the view of the majority of the population to obtain a general overview of the communities; however, households were interviewed individually.

RESULTS and DISCUSSION

Socio-Demographic Characteristics of Respondents

This section expresses the socio-demographic characteristics of respondents and households including the age, gender, education, residence type, registered returnees, household size, number of disabled members (mental or physical) in the household, and some other special characteristics of the household head.

Afghanistan is a male dominant society, and it is considered the responsibility of males to fulfill all the requirements of household members such as food, education, and health facilities, clothing and sheltering. Therefore, most of the households are led by males although in rare case females also lead the household in the term of widowed, divorced or separated. But female-headed households are more than twice likely to be food insecure compare to those households which the heads are male (ALCS, 2016). The male-led households are higher in security assets, formation, human resources, possession, and increasing earning opportunities and having food security. By Contrast, the female-led households are more food insecure by having low income as the Zambian Living Conditions Monitoring Survey explained low-female-headed households are more likely to be very poor and have higher food insecurity than male-headed households (Chibende, 2011). The most important reasons for this are the active role of

women in agricultural activities, while the majority of men works in income generating areas other than agricultural activities. In this study, 95.0% of respondents are male and 5.0% female (Table 1). This pattern of male domination of the household heads situation is similar in all over four provinces in study areas. However, the female-headed household's position changes in some regions of Afghanistan; for example, the highest percentage of female-headed households recorded in Farah 22%, Faryab 15.4% and Nimroz 10% (SFSA, 2014).

In the country like Afghanistan, where the family structure is very strong and based on strong family relationships, respects, values and community norms behavior; the household head is always the decision maker of the family; therefore, age is very important to the level of maturity and making better household and socio-economic decisions (SFSA, 2014). The age of the household heads relates to food insecurity status as the age of households increases the vulnerability of household food security decreases (Bashir et al., 2012). In this study, the majority of household heads (91.7%), which has the highest percentage in the age group, is in the range of 18-64 years. However, the age groups under 18 and over 65 are more to be food insecure than the second group because of lower income and limited employment opportunities. As Johncheck and Holland (2007) reported that there are 60% of children less than five years old are suffered from chronic and 8% suffered from acute malnutrition in Afghanistan.

The result indicates that 60.9% of household heads are illiterate (no reading and writing). The household, whose head has no schooling at all, is more open to food insecurity and are the worst situation in term of both food expenditure and consumption. In general, the level of illiteracy among the household heads is very high in the study areas; therefore, it is likely to increase the vulnerability of household food insecurity. However, the household heads with high school or higher education have a high level of income, food consumption, and expenditure; For example, households, whose head have no education, had 3.5 points food consumption scores lower than those that had a primary school and nine points lower than household heads with higher education (SFSA, 2016). The households' residence type in the study areas were classified into three groups: Permanent Residences, Returnees, and IDPs (Internally Displaced People). IDPs are groups of people who have been obliged or forced to flee or to leave their homes, in particular as a result of or to prevent the effects of armed conflict, conditions of generalized violence, human-made disasters or violations of human rights, and who have not crossed an internationally recognized State border (UNCHR, 2014). Nevertheless, IDPs are the most vulnerable and worst affected by food insecurity in Afghanistan, due to not having access to food, sanitation and health facilities (FSIN, 2017).

Table 1. Socioeconomic characteristics of household head in the eastern region of Afghanistan
Çizelge 1. Afganistan'ın doğu bölgesindeki hanehalklarının sosyo-ekonomik özellikleri

Variables (<i>Değişkenler</i>)	Category (<i>Kategori</i>)	Frequency (<i>Frekans</i>)	%
Age of household head (years) (<i>Hanehalkı reisinin yaşı (yıl)</i>)	<18	167	1.7
	18 - 64	8961	91.7
	65 >	645	6.6
Gender of household head (<i>Hanehalkı reisinin cinsiyeti</i>)	Male (<i>Bay</i>)	9283	95.0
	Female (<i>Bayan</i>)	491	5.0
Education level of household head (<i>Hanehalkı reisinin eğitimi</i>)	No school (<i>Okula gitmeyen</i>)	5951	60.9
	Primary school (<i>İlkokul</i>)	1300	13.3
	Secondary school (<i>Ortaokul</i>)	853	8.7
	High school or üniversite (<i>Lise veya üniversite</i>)	1300	13.3
	Islamic school (<i>İslami okul</i>)	369	3.8
Residence type of household (<i>Ev tipi</i>)	Permanent residence (<i>Daimi ikamet</i>)	4616	47.2
	Returnee (<i>Geri dönenler</i>)	3040	31.1
	IDP	2118	21.7
Household size (<i>Hanehalkı genişliği</i>)	<9	5520	56.5
	10-14	2810	28.7
	15-60	1439	14.7
Household income (AFs/month) (<i>Hanehalkı geliri</i>)	No Income (<i>Geliri yok</i>)	5137	52.6
	≤ 5000 AFs	1181	12.1
	5001-11999 AFs	2157	22.1
	12000-19999 AFs	913	9.3
	≥20000 AFs	386	3.9

As shown in Table 1, the majority of the households are a permanent residence with the percentage of 47.2%, followed by returnees with 31.1% and 21.7% IDPs. Among the returnees 17% of households are registered with the UNHCR and government of Afghanistan and could get different assistance, however, 14 % remained unregistered. According to UNHCR report, the total estimated number of IDPs in Afghanistan was two million by 2016. Moreover, the number of IDPs is increasing all over Afghanistan day by day, as merely 318000 persons were newly displaced from 1st January to 30th September 2017 due to disasters, military operations and conflicts between the armed groups and Afghan military forces (FSIN, 2017). Based on province wise, the highest percentage of returnees and IDPs are 36.8% and 26.6% in Nangarhar, followed by Laghman 33.2% and 18.1%; Kunar and the lowest percentage is in Nuristan 0 and 17%.

Larger households have a higher probability of being food insecure than smaller ones (Mudefi, 2011). As Table 1 demonstrates that on average household size is 10.05 which is larger than a typical household size

of a country. The average household size in Afghanistan is 8.0 members (UN, 2017). On the other hand, the result shows that the vast majority of households (56.5%) had 1 to 9 members followed by 28.7% between 10 to 14 members, whereas 14.7% accommodated 15 to 60 members. Moreover, the last two groups are the most vulnerable of household food insecurity due to having a large household size, as it is reported in many research that households with a larger number of members are more likely to be food insecure.

Sustainable income and its source are essential for household food security. The results found that 47.8% of households had one income, while 33.3% had a second income and the minority (16.4%) had third income as well .Table 1 demonstrates that the majority of households (52.6%) did not have any income. Such families might live in rural or insecure areas where there are no job opportunities and are the most food insecure as well as in such case the households withdraw children from school in order to work rather than study, followed by 22.1% (12000-19999) which is

the average income of the country and such households can be practicing agricultural activities. Therefore, the minority of households (3.9%) had income more than 20000 AFs and are the most food secure households in the study areas.

Household food expenditures

Economic vulnerability is the crucial factor of household food insecurity and can be measured by the relationship between food expenditures and overall household expenditures. Since food expenditure is generally inelastic (there is no percentage difference with income, as households are likely to increase spending on other items once food needs are satisfied), a high share of food expenditure shows a less capacity to deal with economic shocks and is generally related with poverty (SFSA, 2014).

Table 2 shows the importance of food expenditure in each income group. It revealed that the households with lower income spend an important amount of expenditure on food items compared to higher income household, the higher income households spend less amount of expenditures on food items rather than non-food items such as health, shelter, and education of the family members. This results similar to Akbay et al (2007) and Akbay ve Biliç (2011). However, it can be mentioned that when the food prices are higher, so it is needed to spend more on food items out of the total income, so less amount remains for other needs like health, education, and living etc. The structure of household food expenditure is clearly demonstrated by Engel's law stating that the share of food expenditure in total expenditure decreases as income increases (Patrick, 2012).

As shown in Table 2, on average 11.62% of households spend their income on food in the study area, which is much lower than SFSA findings (61.6%) in 2014. It is revealed that 27% of households did not spend their income in the last 30 days. It shows that such households consumed their own agriculture productions, while households with income less than 5000 AFs spent 18.09% of their income on food. However, highest income households spent only 7.28% of their income on food; it might be the case of social activity such as wedding or death or the month of Ramadan. The most important reason for these low shares is that most of the households live in rural areas and can mostly consume their own products. The majority of households (36%) spent their income on cereals as cereals are the typical daily meal of Afghan food, while 12.65% on oil and fat, 11.29% on sweets especially sugar, 11.11% on pulses, 9.74% on fruit and vegetables, 6.14% on meat and fish, and minority of households (5.51%) spend on dairy products because most of households have their own dairy production. As expected, the share of bread and cereals to total food expenditure declines but share of food away from home decrease when moving from the first to the fifth

quintile of the per-capita distribution of food expenditure. This results similar to Akbay et al (2007 and 2008), Patrick (2012) and Akbay (2018).

Household Food Consumption Scores

The Food Consumption Scores (FCS) considers as a proxy indicator for measuring the degree of current food security. FCS are the sum of consumption frequency (within 7 days recall from the date of the survey) of each food groups (cereal, vegetables, fruits, pulses, meat/fish and dairies, eggs, sugar and oil) weighted by their nutritional values. Standard weights were used for each of the food groups that constitute the food consumption score (Calogero et al., 2013). FCS based on food groups is calculated as following formula:

$$FCS = (\text{starches} \times 2) + (\text{pulses} \times 3) + \text{vegetables} + \text{fruit} + (\text{meat} \times 4) + (\text{dairy} \times 4) + (\text{fats} \times 0.5) + (\text{sugar} \times 0.5).$$

On the other hand, Household Food Consumption Score (HFCS) is the consumption pattern (frequency * diversity) of households over the past seven days. Dietary diversity (DD) is the number of different foods or food groups consumed over the past seven days (SFSA, 2014). However, food frequency (FF) is the number of food consumption of a specific food item by household in the past seven days (Icheria, 2012). The most diversified and best consumption, with maximal FCS at 112, means that all food groups are eaten 7 days a week (SFSA, 2014). According to HFCS, households are divided into three categories as "Poor" (1-28), "Borderline" (28.01 – 42) and "Acceptable" (above 42) (SFSA, 2016).

On average, 7.4% of household had poor food consumption, while, 40.6% had borderline and 52,0% had acceptable food consumption in study areas (Figure 1). On the other hand, the similar result was reported by SFSA in 2014; stating that on average 5.7% of household has poor food consumption, and 25.9% had borderline which was slightly lower than finding of this study area, however, 68.5% of household has acceptable food consumption in Afghanistan. As a similar study, Vaitla (2015) estimated that 10.7% of household had poor food consumption, while, 22.2% had borderline and 67.2% had acceptable food consumption with the pooled data set contained 10 countries: Ethiopia, Haiti, Kenya, Mongolia, Pakistan, Somalia, South Sudan, Sudan, Uganda, and Zimbabwe. Butaumocho and Chitiyo (2017) reported the similar findings when studying food security in rural Zimbabwe, with only 8% of households having a poor food consumption and 24% borderline and 68% having acceptable food consumption. Average FCS in Zimbabwe was found to be 48.6. According to WFP (2015), 13% of households having a poor food consumption, and 21% having a borderline food consumption in Kathmandu.

Table 2. The share of food expenditure by household income group (%)

Çizelge 2. Gıda harcamalarının hanehalkı gelir guruplarına göre Dağılımı (%)

Food Expenditures (Gıda Harcamaları)	Lowest income (Zero AFs) (Düşük gelir grubu)	1 to 5000 Afs	5001-11999 AFs	12000- 19999 AFs	<20000 AFs	Average (Ortalama)
Bread and cereals (Buğday ve tahıllar)	38.09	37.25	36.33	36.52	33.56	35.98
Meat/Fish (Et/Balık)	6.57	5.97	5.97	5.97	6.3	6.14
Pulses (Bakliyat)	11.24	11.24	11.4	10.91	10.92	11.11
Fruit/Vegetables (Meyve/Sebze)	9.19	9.11	10.15	9.29	10.44	9.74
Oil/Fat (Bitkisel ve hayvansal Yağlar)	12.79	13.04	12.79	12.29	12.54	12.65
Dairy products (Süt ürünleri)	5.88	5.78	5.34	5.52	5.28	5.51
Salt (Tuz)	4.78	4.31	4.2	4.02	3.87	4.16
Sweets (Tatlılar)	10.03	11.02	11.17	11.42	12.01	11.29
Drinking water (İçme suyu)	0.12	0.11	0.08	0.11	0.17	0.12
Milling (Unlu mamuller)	0.56	0.61	0.33	0.39	0.65	0.51
Meals outside (Ev dışında yemek)	0.77	1.54	2.23	3.55	4.25	2.79
Total (Toplam)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Share of food expend. on total expenditure (Gıdanın toplam harcamalardaki oranı)	27.05	18.09	14.03	11.60	7.28	11.62

The source of food is vital in the case of shock or vulnerability of household especially in rural areas. The households were asked about the sources of food taken in last seven days. It was found that the majority of the households purchased food from markets. For instance, on average 56.4% of households bought on

cash while 17.2 bought on credit. Nevertheless, 7.4% of household consumed own production which is come from rural areas and 1.4% got food aid assistance either from government, relatives or international organizations.

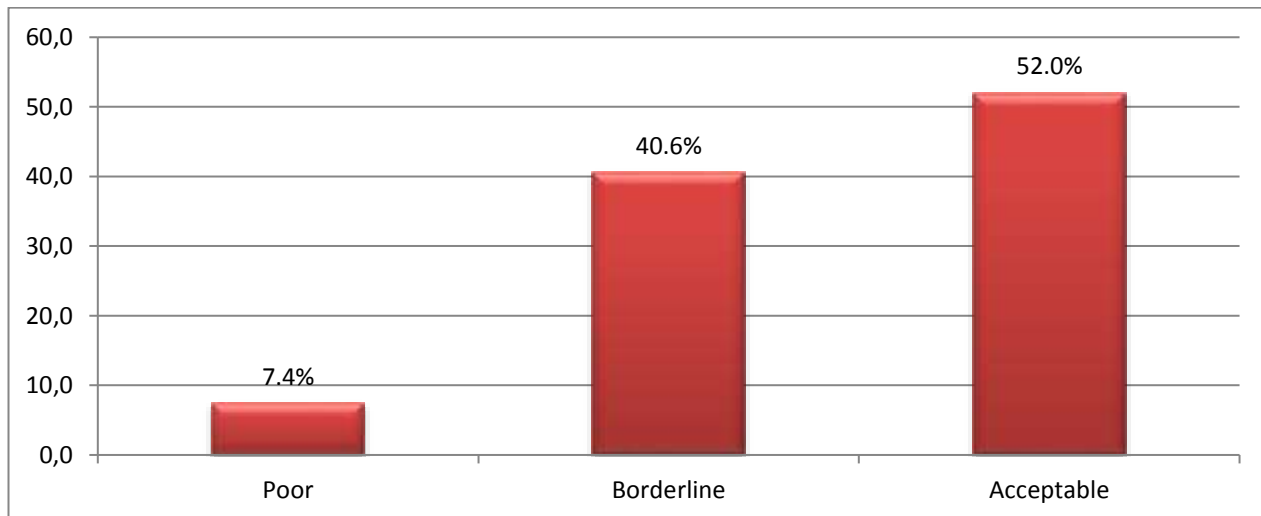


Figure 1. HFCS in overall

Şekil 1. Genel olarak HFCS

Reduced Household Coping Strategy Index

The Reduced Coping Strategy Index (RCSI) seizes the relations between household coping strategies and food consumption and it is a proxy indicator for food insecurity that records a score to each household depending on their dependence on food-based coping strategies in the past seven days (Rukundo et al., 2016). The above strategies are weighted as per their severity of borrowing and changing food distribution.

According to results, average RCSI was 9.02 and 32.26% of households rely on less preferred and inexpensive food, while 37.92% limited portion size at meal time, however, 14.75% borrowed or rely on help food and 4.32% restrict consumption by adults for small children to eat (Table 3). Vaitla et al (2015) estimated RCSI for 20 region and found that RCSI varied across region from 4.53 (Pakistan) to 24.86 (Sudan).

Table 3. Households' reduced coping strategy index

Çizelge 3. Hanehalkı'nın azaltılmış başa çıkma stratejileri

Variables (<i>Değişkenler</i>)	Number of days (<i>Gün sayısı</i>)	Universal severity weight+ (<i>Evrinsel ağırlık</i>)	Weighted score = frequency*weight (<i>Ağırlıklı puan = sıklık * ağırlık</i>)	Percentage (<i>Yüzde</i>)
Rely on less preferred and less expensive food (<i>Daha az tercih edilen ve daha az pahalı gıdaların tercihi</i>)	2.91	1	2.91	32.26
Limit portion size at mealtime (<i>Yemek zamanında porsiyonun azaltılması</i>)	1.71	2	3.42	37.92
Reduce the number of meals per day (<i>Günlük öğün sayısını azaltan</i>)	0.97	1	0.97	10.75
Borrow food or rely on help from relatives or friends (<i>Gıda ödünç alımı veya akraba veya arkadaşlarının yardımına güven</i>)	0.44	3	1.33	14.75
Restrict consumption by adults for small children to eat (<i>Küçük çocukların yemesi için yetişkinlerin tüketimini kısıtlayarak</i>)	0.39	1	0.39	4.32
Total (<i>Toplam</i>)			9.02	100.00

+ : The Universal severity weight is standard formula of World Food Programme (Maxwell and Caldwell, 2008).

In this study, the RCSI classified into five different categories based on its scores as minimal (0-8), moderate (9-15), severe (16-25), very severe (25-30) and extreme (30-56) coping strategy. The Figure 2 shows that on average, 1.6% of household had extreme category, while 1.3% very severe, however, 12.1% had severe, 31.1% had moderate and 53.8% had minimal coping strategy. On the other hand, SFSA reported in

2014 that in overall Afghanistan on average, 1.1% of the households are both in extreme and very severe categories, while, 14.3% are in moderate and 79.9% are in minimal. According to results of Vaitla et al (2015), 41.6% of households were food secure, 15.9% are moderately insecure and 38.5% are severely food insecure.

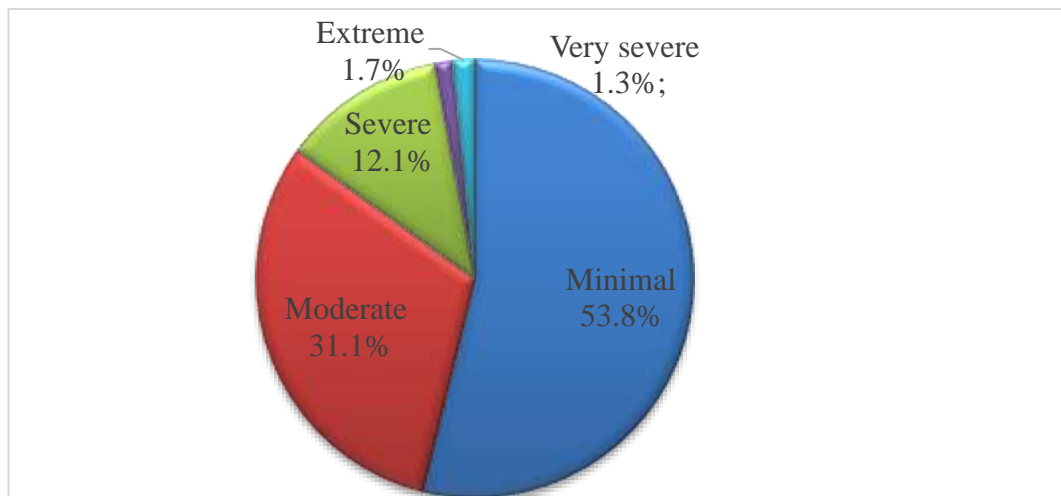


Figure 2. The percentage of households' reduced coping strategy index in the eastern region of A

Şekil 2. Afganistan'ın Doğu bölgesindeki hanehalklarının azaltılmış başa çıkma stratejisi endeksi yüzdeleri

In this study, the general coping strategy included six months with a series of questions to understand the food security situation in the short-run (acute food insecurity). It was found that 66% have faced a lack of money to buy food in the past six months due to different general coping strategies.

Moreover, the survey results show that the most generally adopted short term strategies were increasing daily working (43.1%), followed by 27.9% spent their savings and 21.3% increasing the collection and selling of natural resources (stones, wild plants, etc.). However, some of the distress adopted strategies also observed; for example, 4.1% households withdrew children from school, 3.9% sold their land or houses and 1% engaged in illegal activities such committing crime.

Household Hunger Scale and food insecurity

The Household Hunger Scale (HHS) is an individual indicator; which is a household food deprivation scale based on the scheme that the experience of household food deprivation causes expected responses that can be recorded by a survey and summarized in a scale (Ballard et al., 2011). However, the number of organizations broadly used for estimating the current food security during the nineties, when other food security quantitative measures were not available for quantitative measurements like FCS and the share of household expenditure on food, with the introduction of them, the usage of HHS has decreased. However, the HHS is a tool for measuring the acute food insecurity merging with other vital indicators, like food diversity and food groups (SFSA, 2016).

The HHS finds almost a quarter of households during the pre-harvest period in Afghanistan are so food deprived that households experience hunger having

inadequate food to feed household members or having to skip meals for a whole day and night due to the incapability of accessing any type of food (SFSA, 2014). Based on data collection on HHS the household were asked three questions about (i) was there no food, (ii) did anyone sleeps hungry, (iii) did anyone goes whole day hungry in the last 30 days? On the other hand, the answer was recorded with (never for 0, rarely for 1-10 and often more than 10 times) and group into five scales, no, little, moderate, severe and extreme hunger. According to survey results, on average 55.5% of the households reported no hunger, while 25.6% reported little hunger, moreover, 21.8% had moderate, and 1.7% had severe hunger, however, the 0.5% of household had extreme hunger which is not much come in Afghanistan except in some provinces due to lack of access to food markets or food production areas (Figure 3). Butaumocho and Chitiyo (2017) reported that the 82% of household little or no hunger, 16% had moderate and 2% had severe hunger in Zimbabwe. On the other hand, Samwel (2014) found different results in Kenya; only 19.4% of the households are food secure overall while 80.6% of the households are food insecure. Moreover the study area was revealed to be food insecure with severe hunger because most of the households (32.5%) were severely food insecure.

When we compare FCS, RCSI and HHS, the FCS gives the highest level of food insecurity followed by RCSI while the HHS gives the lowest food insecurity. According to FCS, 52% of household food secure but 48% of household food insecure while results for HHS indicated that 76% of household food secure but 24% of household food insecure in the research area. These numbers for RCSI were 53.8 and 46.2%. This results consistent with the findings of Butaumocho and Chitiyo (2017) and Maxwell et al (2013).

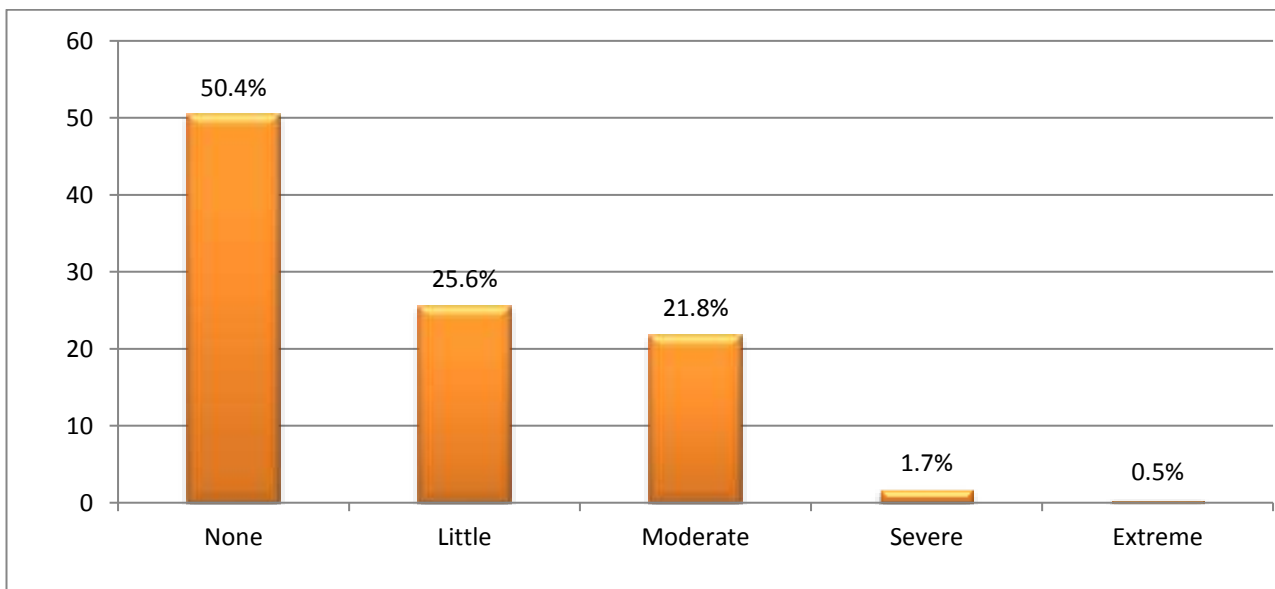


Figure 3. Household hunger scale in the region
Şekil 3. Bölgedeki hanehalkı açlık ölççeği

According to survey results, on average, 7.4% of households had poor food consumption, while, 40.6% had borderline and 52% had acceptable (adequate) food consumption in study areas. It is found that 32.24% of households rely on less preferred and inexpensive food, while 37.93% limited portion size at mealtime, however, 10.73% borrowed or rely on help food and 4.32 restrict consumption by adults for small children to eat. According to results, %95.1 of households spent more than 60% of their total expenditure on food. 2.6%

spent 40-60% of their expenditure on food and 2.4% of household spent less than 40% of their expenditure on food. By comparing household food consumption score and share of food consumption expenditure in total expenditure, it is found that 46.9% of households are food insecure (red colored area), while 49.4% were in borderline (yellow colored area) and 3.8% were food secure (green colored area) in the study areas (Table 4).

Table 4. Household food insecurity in the eastern region of Afghanistan
 Çizelge 4. Afganistan'ın doğu bölgesindeki hane halkı gıda güvensizliği

Household food security (Hanehalkı Gıda Güvenliği)		Expenditure on food (%) (Gıda Harcaması)		
		Poor (>60%) (Fakir)	Borderline (%40- %60) (Sınırdá)	Acceptable (<40%) (Kabul edilebilir)
Food consumption score (%) (Gıda Tüketim skoru)	Poor (1-28) (Fakir)	Poor (6.9) (Fakir)	Poor (0.4) (Fakir)	Bordering (0.1) (Sınırdá)
	Borderline (28.1-42) (Sınırdá)	Poor (39.6) (Fakir)	Bordering (0.7) (Sınırdá)	Acceptable (0.3) (Kabul edilebilir)
	Acceptable (>42) (Kabul edilebilir)	Bordering (48.6) (Sınırdá)	Acceptable (1.5) (Kabul edilebilir)	Acceptable (2.0) (Kabul edilebilir)

CONCLUSIONS and RECOMMENDATIONS

The objectives of this research were to analyze the socio-economic characteristics of households in the term of food insecurity in the eastern region, followed by the food security situation, understand the level of food insecurity and the key factors affecting food security and its availability, access and food utilization in the eastern region of Afghanistan. The study showed the result of the following questions: What are the critical factors of food insecurity in the eastern region? What level of food insecurity is in the region? How can households suffer from food insecurity?

The findings of this research show that socio-demographic factors played an important role in household food insecurity in the eastern region as food insecurity was higher among vulnerable households; such as, household heads with less than 18 and over 64 years age; female-headed and separated or divorced households; illiterate household heads; household size particularly with 10-14 and 15-60 members including a large number of children; permanently disabled household heads; household types especially in tent camp and open space; newly IDPs and returnees from Iran and Pakistan; households with no or one income source.

On the other hand, the primary key factors which

affected household food security in the eastern region were: insecurity and conflicts, natural disasters including floods, droughts, earthquakes and extreme weather; unsustainable livelihoods and declining livestock production, the lessening of livelihood assets; insufficient water resources for irrigation; poor infrastructures roads, houses, schools and markets; lack of access and poor utilization of food and under development, food price fluctuations and inadequate market functionality, increase in food prices, poverty; a lack of employment opportunities in the ruler areas; low wage and household income; lack of education and health services, particularly for women; landlessness in rural areas, and huge influx of refugee and IDP migration; as whole were the significant drivers of food insecurity in Afghanistan.

According to results, in the research area, the illiteracy level of the household heads is very high thus it recommends for the government of Afghanistan to provide vocational training and short term workshops about food security to the heads of households. On the other hand, the vulnerable food insecure household students must get free monthly food kits such as cereals, sugar, and oil to reduce students' school withdrawal.

As there is a lack of job opportunities for women in the

eastern region, it is recommended for an international and governmental organization to provide beekeeping, poultry, and rug waving assistance to have a sustainable income to reduce food insecurity.

The eastern region has enough water but the conflict and war immensely damage the irrigation system, and all the water goes to Pakistan. It is obligatory for the government to rebuild the irrigation system and save the water. On the other hand, there are many rangelands and desserts the government must distribute a medium size land to food vulnerable food insecure households to cultivate and improve their income as well as the country's agriculture.

The majority of the households in the rural areas are directly and indirectly rely on land; most of them are small farmers and have many problems regarding cultivations and agriculture inputs. The availability of the food market is very weak in the eastern region, so it is better to establish bazaar days during the weekdays. It will both help farmers and households because farmers can sell their products and get a good income and the households can access food quickly and cheaply.

Results of this study will provide relevant input in making decisions and policies in the area of household food insecurity. Therefore, the result will also help international and local nongovernmental organizations (NGOs) in the planning of development food aid programs for the government or international organizations.

ACKNOWLEDGEMENT

This study is summarized from the results obtained from the author's master thesis.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Abdullah DZ, Tariq S, Sajjad A, Waqar A, Izhar U, Aasir I 2017. Factors Affecting Household Food Security in Rural Northern Hinter Land of Pakistan. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(2): 201-210.
- AFSANA 2014. Policy Statement on Food and Nutrition Security by the Government of the Islamic Republic of Afghanistan. <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/afg152445.pdf>. (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- Akbay C 2018. Household Nutrition Habits and Food Consumption in Turkey. *KSÜ Journal of Agriculture and Nature*, 21: 67-79.
- Akbay C, Bilgiç A 2011. Türkiye'de 2003-2008 Dönemlerinde Tüketim Harcamaları ile Gıda Harcamalarında Meydana Gelen Değişimler. *Tarım Ekonomisi Dergisi*, 17(1): 73-79.
- Akbay C, Boz I, Chern WC 2007. Household Food Consumption in Turkey. *European Review of Agricultural Economics*, 34(2): 209-231.
- Akbay C, Boz I, Chern WC 2008. Household Food Consumption in Turkey a Reply. *European Review of Agricultural Economics*, 35(1): 99-102
- ALCS 2016. Afghanistan Living Condition Survey (ALCS), Central Statistics Organization Report. Kabul. https://eeas.europa.eu/delegations/afghanistan/44072/results-afghanistan-living-conditions-survey-alcs-2016-17-released_en. (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- ALCS 2017. Survey of the Afghan People. The Asia foundation, Kabul, Afghanistan. <https://asiafoundation.org/publication/afghanistan-2017-survey-afghan-people/>. (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- Ali A, Khan MA 2013. Livestock Ownership in Ensuring Rural Household Food Security in Pakistan. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 23(1): 313-318.
- Andersen S 1990. Core Indicators of Nutritional State for Difficult to Sample Populations. *The Journal of Nutrition*, 120 (11): 1555-1660.
- Anna D, Joliffe D 2011. Wheat Flour Price Socks and Household Food Security in Afghanistan, Economic Research Service. USDA, Economic Research report, Number:121.
- Ballard T, Coates J, Swindale A, Deitchler M 2011. Household Hunger Scale: Indicator Definition and Measurement Guide (FHI 360). Food and Nutrition Technical Assistance II Project. Washington DC.
- Barrett CB 2010. Measuring Food Insecurity. Department of Applied Economics and Management, Warren Hall, Cornell University, 327 (5967): 825-828.
- Bashir MK, Schilizzi S, Pandit R 2012. The Determinants of Rural Household Food Security: The Case of Landless Households of the Punjab, Pakistan, Working Paper 1208, School of Agricultural and Resource Economics, University of Western Australia, Crawley, Australia.
- Bogale A 2012. Vulnerability of Smallholder Rural Households to Food Insecurity in Eastern Ethiopia. *The Science, Sociology and Economics of Food Production and Access to Food*, 4 (4): 581-591.
- Butaumocho B, Chitiyo PT 2017. A Comparative Analysis of Household Food security Measures in rural Zimbabwe. *International Journal of Food and Agricultural Economics*, 5(2): 41-58.
- Calogero C, Zezza A, Banerjee R 2013. Towards Better Measurement of Household Food Security: Harmonizing Indicators and the Role of Household Surveys. *Global Food Security*, 2: 30-40.
- Chang Y, Chatterjee S, Kim J 2014. Household Finance and Food Insecurity. *Journal of Family and Economic Issues*, 35(4): 499-515.

- Chibende CP 2011. Gender and Household Food Security: A case for Kalulushi District, Zambia. A Research Paper, Institute of Social Studies, The Netherlands.
- Crush J, Frayne B 2011. Supermarket Expansion and the Informal Food Economy in Southern African Cities Implications for Urban Food Security. *Journal of Southern Africa*, 37(4): 781-807.
- CSO 2008. National Risk and Vulnerability Assessment (NRVA). Kabul, Afghanistan. At: <http://cso.gov.af/Content/files/NRVA%20REPORT-rev-5%202008.pdf>. (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- CSO 2013. National Risk and Vulnerability Assessment (NRVA). Kabul, Afghanistan. At: <http://catalog.ihsn.org/index.php/catalog/6557/study-description>. (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- FAO 2003. Trade Reforms and Food Security: Conceptualizing the Linkages. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- FAO 2006. The State of Food Insecurity in the World. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- FAO 2009. The State of Food Insecurity in the world. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- FAO 2016. The State of Food and Agriculture: Climate Change, Agriculture and Food Security. <http://www.fao.org/3/a-i6132e.pdf>. (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- FAO 2017. The State of Food Security and Nutrition in the World. <http://www.fao.org/3/a-I7695e.pdf>. (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- Frongillo Jr. EA, Olson CM, Rauschenbach BS, Kendall A 1997. Nutritional Consequences of Food Insecurity in a Rural New York State County. Institute for Research on Poverty Discussion Papers 1120-97, University of Wisconsin Institute for Research on Poverty.
- FSIN 2017. Global Report on Food Crises. P: 13: 97-10. <http://www.fao.org/3/a-br323e.pdf>. (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- Gittlesohn J, Mookherji S, Pelto G 1998. Operationalizing Household Food Security in Nepal. *Food Nutr Bulletin*, 19: 210-220.
- Hala G, Annie B, Sassine Mark N, Nadine R 2015. Prevalence and Correlates of Food Insecurity among Palestinian Refugees in Lebanon: Data from a Household Survey. Center for Research on Population and Health, American University of Beirut, Beirut, Lebanon.
- Hamad H, Khashroum A 2016. Household Food Insecurity (HFIS): Definitions, Measurements, Socio-Demographic and Economic Aspects. *Journal of Natural Sciences Research*, 6(2): 63-75.
- Icheria B 2012. Household Food Insecurity and Coping Strategies among Small Scale Farmers in Tharaka Central Division, Kenya. P: iv.
- Johnecheck WA, Holland DA 2007. Nutritional Status in Post Conflict Afghanistan: Evidence from the National Surveillance System Pilot and National Risk and Vulnerability Assessment Friedman School of Nutrition Science and Policy, Tufts University, Boston, Massachusetts, USA
- Kaiser LL, Melgar QH, Townsend MS, Nicholson Y, Fujii ML, Guo B 2011. Household Assets and Food Security: Evidence from the Survey of Program Dynamics. *Journal of Family Economics issues*, 32(1): 98-110.
- Kassie M, Jaleta M, Shiferaw BA, Mmbando F, De Groote H 2012. Improved Maize Technologies and Welfare Outcomes in Smallholder Systems: Evidence from Application of Parametric and Non-parametric Approaches. Paper presented at the 2012 Conference, August 18-24, Foz do Iguacu, Brazil.
- Kidane H, Alemu ZG, Kundhlande G, 2005. Causes of Household Food Insecurity in Koredegaga Peasant Association, Oromiya Zone, Ethiopia. *Agrekon*, 44(4): 543-560.
- Lemba JK 2009. Intervention Model for Sustainable Household Food Security in The Dry lands of Kenya: Case Study of Mokena District. PhD Thesis in Applied Biological Sciences: (Agriculture), Ghent University.
- Mango N, Zamasiya B, Makate C, Nyikahadzoi K, Siziba S 2014. Factors Influencing Household Food Security among Smallholder Farmers in the Mudzi District of Zimbabwe. *Dev. Southern Africa*, 31(4): 625-640.
- Maxwell D, Caldwell R 2008. The Coping Strategies Index: Field Methods Manual. Cooperative for Assistance and Relief Everywhere Inc. USA.
- Maxwell D, Ahiadeke C, Levin C, Armar-Klemesu M, Zakariah S, Lamptey GM 1999. Alternative Food-Security Indicators: Revisiting the Frequency and Severity of Coping Strategies. *Food Policy*, 24: 411-429.
- Michael V, Fazal KN, Brian B. 2007. Afghanistan Food Security Conditions and Causes, Famine Early Warning Systems Network (FEWS NET). Afghanistan.
- Mudefi AR 2011. Fast Track Land Reform Programs and Household Food Security: The Case of Mutare District (Zimbabwe). Department of Human Ecology at the University of South Africa.
- Onismo M 2015. An Assessment of Household Food Security in Urban and Peri-Urban Areas: A Case Study of Bindura Municipal Area, Mashonaland Central, Zimbabwe.
- Patrick S 2012. Determinants of Food Accessibility of Rural Households in the Limpopo Province. South Africa, Faculty of Bioscience Engineering. Universiteit gent.
- Philip KA 2014. Determinants of Food Availability and Access in Ghana: What Can We Learn Beyond

- the Regression Results? *Studies in Agricultural Economics*, 116: 153-164.
- Ribar D, Hamrick K 2003. *An Analysis of Poverty and Food Sufficiency Dynamics*. USDA Economic Research Service, Washington, DC.
- Riely F, Mock N, Cogill B, Bailey L, Kenefick E 1999. *Food Security Indicators and Framework for Use in the Monitoring and Evaluation of Food Aid Programs*. Nutrition Technical Assistance Project (FANTA), Washington, DC.
- Rose D, Gundersen C, Oliveira V 1998. *Socio-Economic Determinants of Food Insecurity in the United States*. Department of Agriculture, Economic Research Service, NY, United States.
- Rukundo PM, Oshaug A, Andreassen BA, Kikafunda J, Rukooko B, Iversen PO 2016. *Food Variety Consumption and Household Food Insecurity Coping Strategies After the 2010 Landslide Disaster - the Case of Uganda*. *Public Health Nutrition*, 19(17): 3197-3209.
- Samwel NK 2014. *Socio-economic Factors Affecting Food Security in Households of Elderly Persons in Imenti Central Sub Country, Meru Country, Kenya*. Master Thesis in University of Nairobi Department of Rural Sociology and Community Development, Kenya.
- SFSA 2014. *Seasonal Food Security Assessment (SFSA)*, European and Ministry of Agriculture project, Kabul, Afghanistan. [www.humanitarianresponse.info/files/assessments / SFSA14%20report%20revised.pdf](http://www.humanitarianresponse.info/files/assessments/SFSA14%20report%20revised.pdf). (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- SFSA 2016. *Seasonal Food Security Assessment (SFSA)*, European and Ministry of Agriculture project, Kabul, Afghanistan. [https://www.humanitarianresponse.info/en /operations / afghanistan/document/afghanistan-seasonal-food-security-assessment-sfsa-2016-final-report](https://www.humanitarianresponse.info/en/operations/afghanistan/document/afghanistan-seasonal-food-security-assessment-sfsa-2016-final-report). (Erişim tarihi:24.07.2014).
- SFSA 2017. *Seasonal Food Security Assessment (SFSA)*, European and Ministry of Agriculture project, Kabul, Afghanistan. [http://fscluster.org/sites/default/files /documents post _ harvest_sfsa_2017_report_by_fsac.pdf](http://fscluster.org/sites/default/files/documents/post_harvest_sfsa_2017_report_by_fsac.pdf). (Erişim tarihi:24.07.2014).
- UN 2017. Department of Economic and Social Affairs, Population Division, 2017. *Household Size and Composition around the World*. Data Booklet (ST/ESA/SER.A/405).
- UNCHR 2014. *National Profile of Internal Displaced Persons (IDPs) in Afghanistan*. <https://www.unhcr.org/49ba33a02.pdf>. (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- UNDP 2013. *Afghanistan HDI Values and Rank Changes in the 2013 Human Development Report*. <http://hdr.undp.org/sites/default/files/Country-Profiles/AFG.pdf>. (Erişim tarihi: 24.07.2014).
- UNDP 2015. *Sustainable Development Goals*. United Nations. <https://sustainabledevelopment.un.org/?menu=1300>. (Erişim tarihi:24.07.2014).
- Uzma I, Muhammad SB 2004. *Determinants of Household Food Security: An Empirical Analysis for Pakistan*. *International Journal of Social Economics*, 31(8): 753-766.
- Vaitla B, Coates J, Maxwell D 2015. *Comparing Household Food Consumption Indicators to Inform Acute Food Insecurity Phase Classification*. FHI 360/Food and Nutrition Technical Assistance III Project (FANTA). Washington DC.
- Weismann D, Bassett L, Benson T, Hoddinott J 2009. *Validation of the World Food Programme's Food Consumption Score and Alternative Indicators of Household Food Security*. International Food Policy Research Institute, Discussion Paper No. 00870.
- WFP 2015. *Food Consumption Score Nutritional Analysis (FCS-N) Guidelines*. United Nations World Food Programme, Food security analysis (VAM). Technical Guidance Note, Rome, Italy.
- World Bank 1986. *Poverty and Hunger: Issues and Options for Food Security in Developing Countries*. Washington DC.
- Zalilah Mohd S, Khor GL 2008. *Household Food Insecurity and Coping Strategies in a Poor Rural Community in Malaysia*. *Nutrition Research and Practice*, 2(1): 26-34.



Geleneksel Yoğurtlardan İzole Edilen *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* İzolatlarının Bazı Aroma Metabolitlerinin HPLC İle Belirlenmesi

Fadime YAZDIÇ¹, İsmail AKYOL², Ferit Can YAZDIÇ³

¹Bingöl Üniversitesi, Merkezi Laboratuvar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bingöl, ²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Ankara, ³Munzur Üniversitesi, Pertek Sakine Genç Meslek Yüksekokulu/Veterinerlik Bölümü, Tunceli

¹<https://orcid.org/0000-0002-2515-9400>, ²<https://orcid.org/0000-0001-8856-0018>, ³<https://orcid.org/0000-0002-2762-3027>

✉: fyazdic@bingol.edu.tr

ÖZET

Bu çalışma, geleneksel yöntemle üretilen Türk yoğurtlarından izole edilmiş laktik asit bakterilerinin, süt laktozunun karbohidrat metabolizmasındaki kullanım miktarlarını ve format, pirüvat, 3-hidroksi-2-bütanon (asetoin), etanol ve 2,3-bütandiol üretim miktarlarını HPLC ile tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Geleneksel ve endüstriyel yoğurt üretiminde yaygın olarak kullanılan iki laktik asit bakteri türü *Streptococcus thermophilus* (*St. thermophilus*) ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*) kültür stoğundan kullanılmıştır. 88 adet *St. thermophilus* ve 12 adet *Lb. bulgaricus*'un yukarıda adı geçen metabolitlerinin farklı besiyerlerinde ve sütte üretim potansiyelleri araştırılmıştır. *St. thermophilus* izolatları, anaerobik SM17, aerobik SM17, LM17 ve sütte, *Lb. bulgaricus* izolatları anaerobik MRS (Man, Rogosa ve Sharpe Broth) aerobik MRS ve sütte geliştirilmiştir. *St. thermophilus* izolatlarının belirlenen metabolit konsantrasyon aralıkları format, pirüvat, 3-hidroksi-2-bütanon, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları sırasıyla $0.1\pm 0.0-77.0\pm 0.2$ mg/kg, $0.1\pm 0.0-90.2\pm 0.0$ mg/kg, $0.1\pm 0.0-127.0\pm 8.4$ mg/kg, $2.1\pm 0.0-191.4\pm 1.1$ mg/kg ve $1.1\pm 0.0-130.0\pm 5.2$ mg/kg olarak belirlenmiştir. *Lb. bulgaricus* izolatlarının format, pirüvat, 3-hidroksi-2-bütanon, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları sırasıyla $0.2\pm 0.0-57.0\pm 1.0$ mg/kg, $0.1\pm 0.0-3.2\pm 1.0$ mg/kg, $0.1\pm 0.1-77.0\pm 2.0$ mg/kg, $9.1\pm 3.0-95.3\pm 5.0$ mg/kg ve $6.2\pm 0.2-98.4\pm 2.0$ mg/kg olarak belirlenmiştir. Çalışmada miktar aralıkları tespit edilen metabolitler, geleneksel yöntemlerle fermente edilen yoğurtlardan izole edilen bakterilerin alt kültürlerine aittir. Bu izolatlar ticari yoğurt endüstrisi için başlangıç kültürü olma potansiyeli taşımaktadır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 04.08.2019

Kabul Tarihi : 28.11.2019

Anahtar Kelimeler

Yoğurt

St. Thermophilus

Lb. Bulgaricus

Aroma metaboliti

HPLC

Determination of Some Aroma Metabolites of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* Isolates from Traditional Yogurt, by HPLC

ABSTRACT

This study was conducted to determine lactic acid bacteria isolated from Turkish yoghurts produced by traditional methods, amounts of usage of milk lactose in carbohydrate metabolism and formate, pyruvate, 3-hydroxy-2-butanone (acetoin), ethanol and 2,3-butandiol production amounts by HPLC. Two lactic acid bacteria species, widely used in traditional and industrial yoghurt production *Streptococcus thermophilus* (*St. thermophilus*) and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*) were used from cultural stock. Production potentials of the above mentioned metabolites of 88 pieces of *St. thermophilus* and 12 pieces of *Lb. bulgaricus* were researched in different mediums and milk. *St. thermophilus* isolates were grown in anaerobic SM17, aerobic SM17, LM17 and milk and *Lb. bulgaricus* isolates were grown in anaerobic MRS (Man, Rogosa and Sharp Broth), aerobic MRS and milk. Amounts of formate, pyruvate, 3-hydroxy-2-butanone, ethanol and 2,3-butandiol determined by HPLC of *St. thermophilus* isolates were specified respectively as $0.1\pm 0.0-77.0\pm 0.2$

Research Article

Article History

Received : 04.08.2019

Accepted : 28.11.2019

Keywords

Yoghurt

St. Thermophilus

Lb. Bulgaricus

Aroma metabolite

HPLC

mg/kg, 0.1±0.0-90.2±0.0 mg/kg, 0.1±0.0-127.0±8.4 mg/kg, 2.1±0.0-191.4±1.1 mg/kg and 1.1±0.0-130.0±5.2 mg/kg. Amounts of formate, pyruvate, 3-hydroxy-2-butanone, ethanol and 2,3-butandiol of *Lb. bulgaricus* isolates were specified respectively as 0.2±0.0-57.0±1.0 mg/kg, 0.1±0.0-3.2±1.0 mg/kg, 0.1±0.1-77.0±2.0 mg/kg, 9.1±3.0-95.3±5.0 mg/kg and 6.2±0.2-98.4±2.0 mg/kg. Metabolites that determined quantified ranges in study, belong to subcultures of bacteria isolated from yoghurts fermented by traditional methods. These isolates have the potential to be a starter culture for commercial yogurt industry.

To Cite : Yazdıç F, Akyol İ, Yazdıç FC Geleneksel Yoğurtlardan İzole Edilen *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* İzolatlarının Bazı Aroma Metabolitlerinin HPLC İle Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 23 (2): 480-493. DOI: 10.18016/ksutarimdog.a.vi.601431.

GİRİŞ

Yoğurt, *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* bakteri kültürleri tarafından üretilen fermente bir süt ürünüdür (Shoji ve ark., 2013). Bu bakteriler, pirüvat metabolizması yoluyla homofermentatif olarak altı karbonlu şekerleri laktik asit ve çeşitli karbonil bileşiklerine çevirirler (Gezginc ve ark., 2015). *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* arasındaki biyokimyasal protokooperasyon, *Lb. bulgaricus*'un büyümesi için gerekli olan ve *St. thermophilus* tarafından sağlanan format metaboliti ve *Lb. bulgaricus* suşları tarafından üretilen süt proteinleri kaynaklı serbest amino asitler ve peptitler tarafından uyarılmasına dayanmaktadır (Horiuchi ve Sasaki, 2012).

Bu bileşenlerin miktarları yoğurda aroma verirler ve yoğurdun tekstür yapısını etkilerler. *St. thermophilus*'un süt fermentasyonundaki ana rolü galaktozu metabolize etmek suretiyle laktik asit üreterek asitlik seviyesini yükseltmektir. Bu asitlik patojen mikroorganizmaların bulaşmasına engel olur (Derzelle ve ark., 2005) ve yoğurdun tadına katkıda bulunur.

Tat ve aroma, çeşitli fizikokimyasal özelliklere sahip pek çok uçucu ve uçucu olmayan bileşenlere bağlıdır (Rabha ve ark., 2011). Süt laktozu, *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* tarafından laktik asitle birlikte küçük miktarlarda aroma bileşenlerine metabolize edilirler (Örneğin; ketonlar, asitler, furanlar, aldehitler, sülfür bileşenleri ve diğer bileşenler; 10-50 mg/kg) (Cayot ve ark., 2011). Aslında yoğurt aroması, çok sayıda uçucu organik bileşen arasındaki dengedir ama yalnızca çok az bir bileşiğin algılanan aromada önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (Imhof ve ark., 1995). LAB'de aroma oluşumunun başlangıcı ve merkezi olan pirüvat metabolizmasından sonraki biyokimyasal yollar, çeşitli aroma bileşenlerinin (Örneğin; asetat, format, etanol, asetaldehit, diasetil, asetoin ve 2,3-bütandiol) oluşumunu sağlamaktadır (Liu, 2003). Laktik asidin öncüsü (prekürsör) pirüvat, LAB tarafından karbondhidratlar, organik asitler ve amino asitler gibi pek çok substrattan üretilir. LAB'de pirüvat ve laktik asit formasyonu için, şekerler (altı

karbonlular ve beş karbonlular) genel olarak öncül substratlardır. Ancak, heksozlar (altı karbonlular) ve pentozların (beş karbonlular) pirüvat ve laktik aside dönüşümü için metabolik yolların kısa bir ana hattı Şekil 1'de gösterilmiştir. Bazı LAB, şeker fermentasyonlarını kullanarak pirüvat ve laktat üretir. Bunlar polioller, organik asitler, ve amino asitlerdir. Bu substratların pirüvat ve laktik aside transformasyonu türe özgüdür. Polioller genel olarak LAB tarafından fermente edilemezler ancak bazıları istisnadır. Bazı hekzitol (altı-karbonlu polioller) ve pentioller (beş-karbonlu polioller) karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılabilirler. Örn: Mannitol (hekzitol) (Liu, 2003). Ortamda glukoz sınırlı olduğunda, *St. thermophilus*'un sütte büyümesi ile pirüvat-format liyaz (*pfh*) aktivitesi ile format metaboliti sentezlenmektedir (Perez ve ark, 1991). Pirüvatın laktik aside indirgenmesinde Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) yolu kullanılır. Laktat dehidrogenaz (*ldh*) enzim geni bu sentezde rol oynamaktadır. LAB tarafından glukoz monomerleri, treonin amino asidi ve nükleik asitlerden bazı enzim sistemleri (sırasıyla aldehiddehidrogenaz, treonin aldolaz, deoksiriboaldolaz) ile asetaldehit metaboliti ve alkoldehidrogenaz enzimi ile etanol metaboliti sentezlenmektedir (Yazdıç, 2017).

İki dehidrogenaz geni (*adhA* ve *adhB*) ve diasetil/asetoin redüktaz geni (*butA*) diasetil ve asetoin metabolitlerinin oluşumundan sorumludur (Hols ve ark., 2005). Asetoin üretimi hakkındaki bir diğer yaygın yaklaşım, 2,3-bütandiolün seçici oksidasyonudur. Asetoin, fermentasyonun başlangıcında 2,3-bütandiole dönüşürken, fermentasyon ortalarına doğru az miktarda da olsa 2,3-bütandiol asetoina dönüşebilmektedir (Rao ve ark., 2011). Tüm bu aromalar, gıda ürününün tadı ve patojenlerce güvenilir olması konularında önemlidirler. Bu ise aroma üreten mikrobiyal suşların seçimini önemli kılmaktadır. Lezzet fermente süt ürünlerinin vazgeçilmez özelliğidir ve bu nedenle aroma üreten genel olarak güvenli bakterilerle araştırmaların yapılması ve bu bakterilerin süt endüstrisine kazandırılması gerekmektedir.

süpernatant aktarılıp, HPLC'de okutulmuştur. Bu işlem her bir izolat için üç tekerrürlü yapılmıştır. Kalibrasyon eğrileri, metabolitlerin farklı konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla farklı absorbanslarda tespit edilerek çizilmiş, standartların R² denklemleri oluşturulmuştur. İzolatlara ait metabolit tekerrürlerinin ortalaması alınmış ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

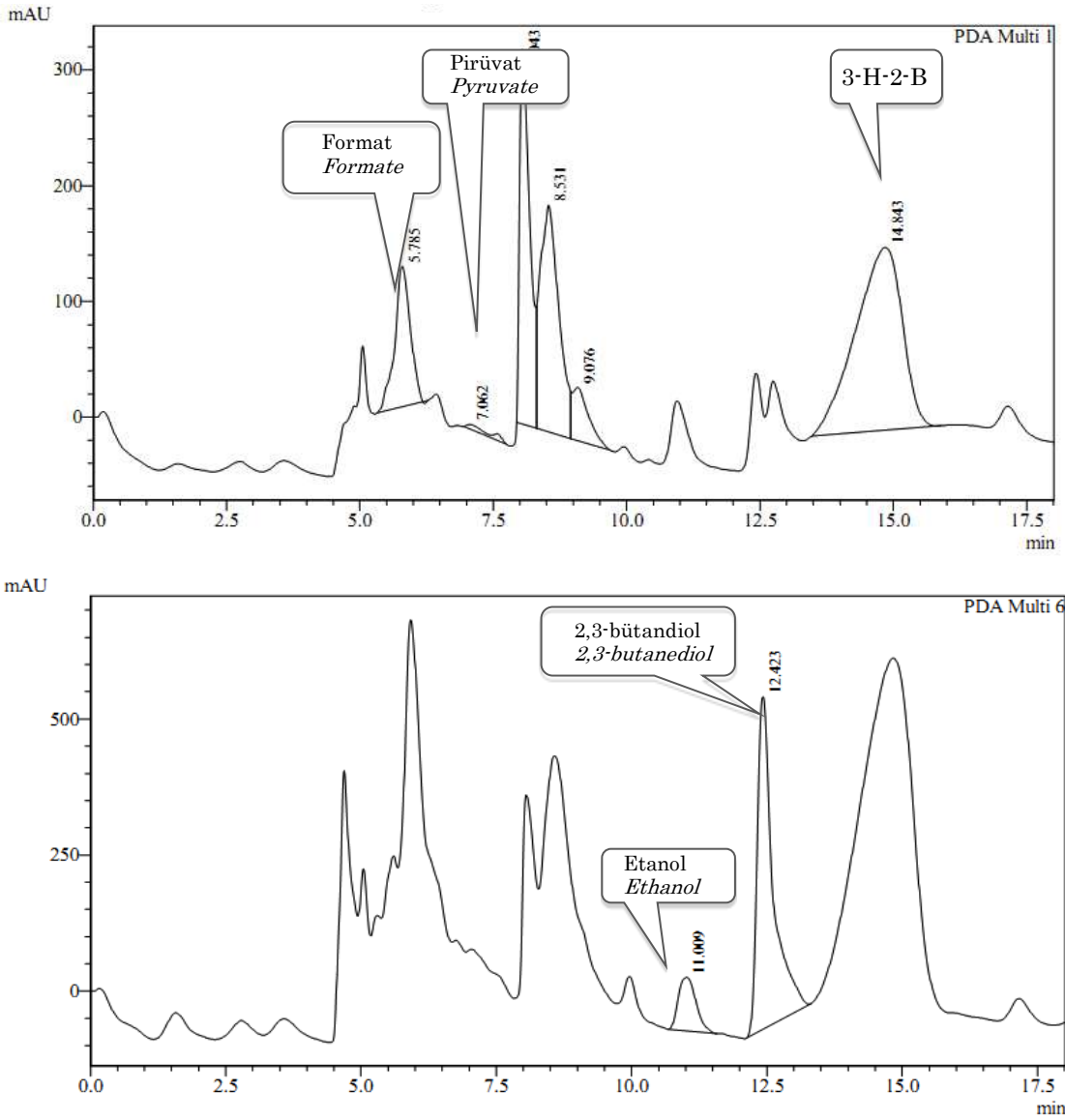
Bu çalışmada, geleneksel Türk yoğurtlarından izole edilmiş doğal *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* izolatlarının bazı metabolit (format, pirüvat, 3-H-2-B, etanol ve 2,3-bütandiol) üretim potansiyellerini araştırmak amaçlanmıştır. Buna göre, toplam 88 adet *St. thermophilus* izolatı 157 bç uzunluğunda PZR ürünü vermiş ve 12 adet *Lb. bulgaricus* izolatı ise 232

bç uzunluğunda PZR ürünü vererek tür bazında tanımlanmıştır.

St. thermophilus ve *Lb. bulgaricus* İzolatları 'nın Metabolit Üretimi

İzolatların metabolit konsantrasyonlarını tespit etmek için kullanılan beş farklı standart analitten format, pirüvat, laktat ve 3-hidroksi-2-bütanon (asetoin) 210 nm'de ve etanol, 2,3-bütandiol ise 190 nm'de absorbans vermiştir. Metabolitlere ait kromatogramlar Şekil 2'de gösterilmiştir.

Format: Çok çeşitli bileşikler (alkoller, aldehitler, esterler, kısa yağ asidi zincirleri, laktonlar, fenoller ve sülfür bileşikleri) gıda ürünlerinin tipik aromasını oluştururlar (Rabha ve ark.,2011). Fermente gıdalarda



Şekil 2. 5 farklı metabolit karışımının HPLC kromatogramı. A) format, pirüvat, asetoin 210nm'de, B) etanol ve 2,3-bütandiolün 190nm'de belirlenmesi.

Figure 2. HPLC chromatogram of 5 different metabolite mixtures. A) Determination of formate, pyruvate, acetoin at 210 nm, B) Ethanol and 2,3-butanediol at 190 nm

bu aromaların oluşumu kullanılan suşa, substrat çeşidi ve miktarına bağlıdır. Aroma biyosentezinde, LAB, genellikle pH ve sıcaklık gibi çevresel faktörlerden de etkilenebilmektedir. Çoğunlukla yeterli glukoz bulunduğu baskın olarak laktik aside dönüşen pirüvat, glukoz sınırlı olduğunda *pfl* enzim geni ile bir miktar formata dönüşmektedir (Olieman ve Vries, 1988). Çalışmada kullanılan *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* izolatlarında tespit edilen format miktarlarının az olması ve diğer metabolit miktarlarının daha yüksek olması (Çizelge 1 ve Çizelge 2), substrat konsantrasyonu bakımından yeterli besiyerlerinin kullanılmasıyla, pirüvatın çoğunlukla sonraki metabolitlere dönüştüğü şeklinde açıklanabilir. Pirüvat, öncelikle, LDH ile laktata katalize edilir. Bunun dışında, pirüvat dehidrogenaz, pirüvat oksidaz veya pirüvat-format liyaz enzimleri ile asetat, format ve CO₂ gibi ürünlere metabolize edilebilir (Liu, 2003). 3C'lu pirüvat, hem aerobik hem de anaerobik şartlarda altı karbonlu şekerlerin son ürüne dönüşümünde ara bileşik olduğu için HPLC ile miktar tayininde az çıkması beklenen bir durumdur (Çizelge 1).

St. thermophilus izolatları ve referans suşların HPLC analiz sonuçları Çizelge 1'de gösterilmiştir. Bu analize göre, sütte NCBF2393 suşu için format üretim miktarı 2.0±0.0 mg/kg iken, NIZO130 suşu için format üretim miktarı 2.2±0.1 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Sütte, BioSt83 izolatı, 51.3±0.1 mg/kg format ile en üretken izolat iken, (Şekil 3), 0.1±0.0 mg/kg miktarla pek çok izolat en düşük miktarda formatı üretmiştir.

Bazı izolatların ise formatı hiç üretmediği görülmüştür. Besiyerleri içerisinde, anaerobik SM17 besiyerinde BioSt76 izolatı 77±0.2 mg/kg ile en yüksek miktarda formatı üretmiştir. Format için tüm besiyerlerinde alt sınır 0.1±0.0 mg/kg olarak belirlenmiştir. Çizelge 2'de görüldüğü gibi, *Lb. bulgaricus* izolatları içerisinde sütte en yüksek format miktarı BioLb130 izolatında 8.2±1.0 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Sütte en düşük format üretimi 0.2±0.0 mg/kg olarak BioLb89, BioLb94 ve BioLb98 izolatlarında tespit edilmiştir. Besiyerleri içerisinde anaerobik MRS'de BioLb151 izolatının 57.0±1.0 mg/kg ile en yüksek miktarda format ürettiği görülürken, en düşük format miktarı BioLb65 izolatında 11.3±10.0 olarak belirlenmiştir.

Pirüvat. Besiyerinde bulunan karbon kaynakları, pirüvat dekarboksilaz yolu ile metabolize edildiğinden, pirüvatın ortamdaki varlığı kısa süreli olmaktadır. Analiz sonucunda ise, sütte pirüvat miktarı ya hiç bulunmamakta veya az miktarda bulunabilmektedir. Bu sonuç, pirüvatın ya tamamen metabolize olduğu yahut tamamına yakınının metabolize olduğu anlamına gelmektedir. Toplam 59 *St. thermophilus* izolatında, pirüvat metaboliti belirlenmemiştir. Bu sonuç, bu izolatlarda pirüvatın tamamen metabolize

olduğunu göstermektedir. Diğer izolatlarda ise en düşük 0.1±0.0 mg/kg, en yüksek 44.5±0.1 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bu sayı, ortalama değerlerin çok üzerinde olduğundan bunun suşla ilgili bir nedenden kaynaklandığı söylenebilir. Süt dışındaki gelişme ortamlarında ise oldukça düşük miktarlarda varlığı görülmüştür. Anaerobik SM17'de en yüksek miktar 90.2±0.0 mg/kg olarak BioSt76 izolatında tespit edilirken, en düşük miktar 0.1±0.0 mg/kg olarak BioSt43 izolatında tespit edilmiştir. *Lb. bulgaricus* izolatları arasında, pirüvat miktarı, yalnızca BioLb130 ve BioLb157 izolatlarında tespit edilmiştir. BioLb130 izolatı için sütte 0.1±0.0 mg/kg, BioLb157 izolatı için ise sütte 0.1±0.0 mg/kg pirüvat tespit edilmiştir. Aerobik MRS ortamında ise BioLb157 izolatı için 3.2±0.0 mg/kg ile en yüksek pirüvat miktarı tespit edilirken, en düşük pirüvat miktarı 0.1±0.0 mg/kg olmuştur.

3-hidroksi-2-bütanon (Asetoin). Sütteki 3-H-2-B miktarı NCBF2393 suşu için 5.3±0.4 mg/kg, NIZO130 suşu için 5.3±0.4 mg/kg olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). İzolatlar arasında BioSt75 sütte 63.0±0.0 mg/kg (en yüksek miktar), BioSt3, BioSt12, BioSt29 suşları için 0.1±0.0 mg/kg (en düşük miktar) 3-H-2-B tespit edilmiştir. Besiyerleri arasında en yüksek 3-H-2-B miktarı aerobik SM17'de 127±8.4 mg/kg ile BioSt112 izolatında görülürken, en düşük miktar 0.1±0.0 mg/kg ile sütte bazı izolatlarda (BioSt3, BioSt12, BioSt29) belirlenmiştir. Sütte, en yüksek 3-H-2-B, BioLb65 izolatı için 66.2±2.4 mg/kg, BioLb157 izolatı için 7.0±0.0 mg/kg 3-H-2-B (en düşük miktar) tespit edilmiştir (Çizelge 4). Anaerobik MRS'de BioLb155 izolatı için 0.1±0.1 mg/kg 3-H-2-B (en düşük miktar), yine aynı besiyerinde BioLb130 izolatı için 77.0±2.0 mg/kg 3-H-2-B (en yüksek miktar) tespit edilmiştir. Valenberg ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada asetoin değerlerini nispi olarak yüksek miktarda bulduklarını belirtmişlerdir. *St. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* karışık kültürüne *L. rhamnosus* ve *B. animalis* subsp. *lactis* (YBB-12) suşlarını ayrı ayrı inoküle ederek fermente ettikleri yoğurt örnekleri arasında ilk dört saatte asetoin düzeyi anlamlı olarak daha yüksek (P <0.05) bulunmuştur. Bu metabolit miktarlarındaki bulgular, bir günlük yoğurtta 0.24 ± 0.09 mg/kg (Gürsel ve ark., 2016) ve 89.06 mg/kg (Basioli ve ark., 2015) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız referans suşlar (NCBF2393 ve NIZO130), *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* izolatlarında alt ve üst sınırlar arasındaki değerler daha önce yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

Rao ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada, 96 saatten önce glukozun *B. subtilis* tarafından asetoina dönüştürüldüğünü ve asetoin miktarının 21.0 g/l olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuç kendi çalışmadaki sütte en yüksek sonuç (63.0±0.0 mg/kg)

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan *St. thermophilus* izolatlarının HPLC ile belirlenen format ve pirüvat miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir).

Table 1. *St. thermophilus* isolates, used in the study, of formate and pyruvate amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey).

İzolat <i>Isolate</i>	Format (mg/kg) <i>Formate (mg/kg)</i>				Pirüvat (mg/kg) <i>Pyruvate (mg/kg)</i>			
	SM17 broth		SM17 broth		SM17 broth		SM17 broth	
	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>
NCBF2393	29.0±0.0	0.2±0.0	41.2±0.0	2.0±0.0	4.0±0.2	1.3±0.0	1.0±0.0	-
NIZO130	1.0±0.0	46.0±2.1	1.3±0.2	2.2±0.1	5.0±0.3	1.5±0.1	0.5±0.0	-
BioSt1	1.0±0.0	0.4±0.1	3.0±0.4	-	1.1±0.0	0.5±0.4	1.0±0.0	-
BioSt3	0.1±0.0	5.1±1.1	1.0±0.3	1.0±0.2	2.0±0.2	0.3±0.0	0.3±0.1	-
BioSt4	0.2±0.0	1.0±0.0	1.0±0.1	1.0±0.3	2.0±0.1	0.3±0.0	0.1±0.0	4.0±0.0
BioSt7	0.3±0.0	1.0±0.2	1.0±0.2	0.1±0.0	2.0±0.1	0.5±0.2	1.0±0.3	-
BioSt8	4.0±0.3	0.1±0.2	12.1±4.1	0.5±0.1	1.0±0.3	0.1±0.0	0.3±0.0	-
BioSt9	0.3±0.1	0.2±0.0	1.1±0.1	0.2±0.2	2.0±0.1	0.5±0.2	0.3±0.2	-
BioSt10	17.3±0.5	1.0±0.5	1.0±0.2	1.0±0.2	-	0.1±0.2	0.1±0.2	-
BioSt12	0.2±0.1	0.1±0.0	0.5±0.3	1.0±0.3	2.0±0.1	-	-	-
BioSt13	0.5±0.1	9.0±0.5	19.0±0.4	1.0±0.1	1.0±0.2	0.5±0.0	0.3±0.0	-
BioSt14	0.2±0.0	0.5±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	2.0±0.0	-	-	-
BioSt15	1.0±0.1	7.1±6.0	0.1±0.0	0.3±0.2	1.0±0.2	0.5±0.3	0.2±0.3	-
BioSt16	2.5±1.0	7.1±6.0	11.0±1.1	0.3±0.1	1.0±0.1	0.4±0.0	0.3±0.1	-
BioSt17	5.4±1.0	8.0±1.0	11.0±1.0	1.0±0.1	1.0±1.0	0.5±0.2	0.3±0.1	-
BioSt18	0.5±0.1	7.0±3.0	5.2±1.0	0.4±0.2	1.1±1.0	0.4±0.1	6.2±0.2	-
BioSt19	0.5±0.0	7.2±5.5	10.4±9.0	1.0±0.2	1.0±1.0	0.5±0.1	0.4±0.1	-
BioSt20	1.5±0.5	4.0±0.1	6.0±0.0	1.0±0.1	1.0±0.7	0.5±0.1	0.3±0.3	-
BioSt25	1.1±0.4	8.1±5.3	12.5±9.0	1.0±0.2	1.0±0.1	1.0±0.4	0.3±0.2	-
BioSt26	2.1±0.2	0.6±0.1	0.4±0.1	-	-	1.0±0.4	0.1±0.0	-
BioSt27	0.3±0.1	7.4±6.4	1.0±0.2	1.0±0.2	1.5±0.3	0.3±0.1	0.2±0.0	-
BioSt28	0.2±0.1	4.0±0.5	1.0±0.2	1.0±0.1	2.0±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1	-
BioSt29	1.0±0.3	0.3±0.1	1.0±0.4	-	1.0±1.0	1.0±0.2	0.5±0.1	-
BioSt30	0.2±0.1	0.1±0.3	1.0±0.3	-	1.0±0.1	1.0±0.3	1.0±0.4	0.2±0.1
BioSt33	0.1±0.0	0.1±0.0	1.0±0.1	-	1.0±1.0	1.0±0.3	0.5±0.4	0.1±0.0
BioSt34	0.2±0.2	0.2±0.2	1.0±0.3	-	1.0±0.1	1.0±0.2	0.4±0.1	-
BioSt35	0.2±0.0	0.2±0.0	1.0±0.3	-	1.0±0.0	1.0±0.2	1.0±0.4	-
BioSt36	2.0±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1	-	0.3±0.1	0.4±0.0	0.3±0.1	0.5±0.1
BioSt37	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	-	1.0±0.1	0.3±0.1	1.0±0.1	0.3±0.1
BioSt38	0.4±0.1	0.1±0.1	1.0±0.1	-	2.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1	-
BioSt40	0.3±0.1	2.2±0.1	0.1±0.1	0.2±0.1	-	-	-	0.4±0.3
BioSt42	8.0±1.0	1.2±0.0	1.0±0.3	-	1.0±0.0	1.2±1.0	1.0±0.0	-
BioSt43	1.0±0.0	1.0±0.3	1.5±0.5	-	0.1±0.0	1.4±1.0	1.0±0.0	-
BioSt44	-	1.0±0.3	3.0±2.3	-	1.3±0.1	2.2±0.1	1.3±0.1	-
BioSt45	-	1.0±0.3	3.0±2.3	-	1.3±0.1	2.2±0.1	1.3±0.1	4.0±0.1
BioSt46	1.0±0.3	1.0±0.4	1.0±0.2	-	1.0±0.0	1.0±0.1	1.2±1.0	-
BioSt47	-	1.0±0.4	1.0±0.4	-	1.0±0.1	1.1±1.3	1.0±1.0	0.2±0.3
BioSt49	0.3±0.1	1.0±0.5	0.3±0.2	0.1±0.2	1.0±1.0	1.5±1.2	1.0±1.0	0.1±0.1
BioSt50	0.2±0.1	1.0±0.2	0.4±0.3	-	1.1±1.0	1.3±1.2	1.1±1.0	-
BioSt53	1.0±0.2	0.5±0.1	0.5±0.1	0.1±0.0	1.0±1.0	1.0±0.4	1.0±0.2	-
BioSt54	0.2±0.1	1.0±0.3	0.4±0.3	0.1±0.0	1.0±0.1	1.5±1.4	1.0±0.4	0.1±0.0
BioSt55	0.1±0.0	1.0±0.3	0.1±0.1	-	-	1.5±1.3	0.2±0.1	-
BioSt56	0.4±0.1	1.0±0.2	0.2±0.1	0.3±0.2	1.0±0.0	2.0±1.1	1.0±1.0	0.1±0.0
BioSt57	0.3±0.3	1.0±0.0	0.3±0.1	0.1±0.0	1.0±0.4	2.0±1.3	1.0±0.1	0.1±0.0
BioSt58	3.0±0.4	1.0±0.5	0.3±0.3	0.1±0.2	0.5±0.1	2.0±1.0	1.0±0.0	-
BioSt59	1.0±0.5	1.0±0.1	0.3±0.1	1.0±0.0	0.5±0.2	2.1±1.2	1.0±0.1	-
BioSt60	1.0±0.5	0.4±0.3	0.2±0.1	0.5±0.2	1.0±0.5	2.0±1.0	0.1±0.1	-
BioSt61	1.0±0.5	1.0±0.2	0.2±0.2	0.1±0.1	1.0±0.1	2.0±0.1	0.1±0.0	-

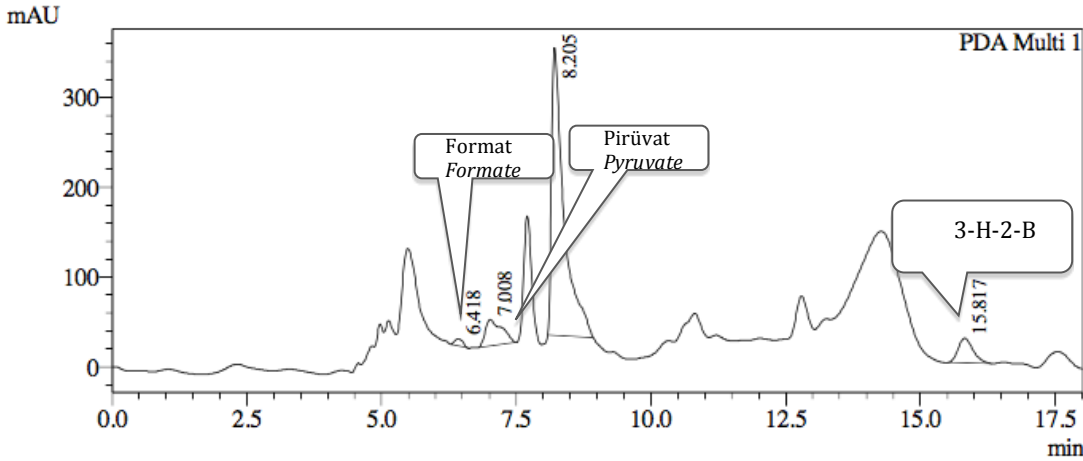
Çizelge 1. Çalışmada kullanılan *St. thermophilus* izolatlarının HPLC ile belirlenen format ve pirüvat miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir) (Devam)

Table 1. *St. thermophilus* isolates, used in the study, of formate and pyruvate amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey) (Continuation)

İzolat <i>Isolate</i>	Format (mg/kg) <i>Formate (mg/kg)</i>				Pirüvat (mg/kg) <i>Pyruvate (mg/kg)</i>			
	SM17 broth		LM17	Süt <i>Milk</i>	SM17 broth		LM17	Süt <i>Milk</i>
	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>			Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>		
BioSt62	1.0±0.4	0.5±0.1	0.2±0.2	0.1±0.0	0.5±0.2	2.0±1.3	-	-
BioSt63	0.5±0.3	1.0±0.2	0.3±0.1	0.1±0.0	0.5±0.3	2.0±1.0	0.4±0.1	-
BioSt64	1.3±0.0	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.0	1.0±0.0	1.0±0.1	0.4±0.1	1.0±0.1
BioSt66	1.1±0.5	1.0±0.5	3.0±0.1	0.1±0.0	2.0±0.1	2.4±1.5	1.0±0.0	2.0±1.5
BioSt67	0.5±0.5	0.5±0.4	2.5±1.4	-	2.0±1.0	2.2±1.3	1.0±0.1	2.0±1.4
BioSt68	0.2±0.0	1.0±0.1	3.0±2.0	0.1±0.0	1.4±0.1	2.0±1.2	0.4±0.1	1.3±1.1
BioSt69	0.4±0.2	1.0±0.0	3.0±0.0	-	2.0±1.0	2.2±1.3	1.0±0.0	1.5±1.3
BioSt70	0.4±0.0	1.1±0.1	2.4±1.5	-	1.4±1.0	2.0±1.3	1.0±0.0	1.4±1.2
BioSt71	0.5±0.0	1.0±0.2	1.7±0.3	-	1.5±1.0	2.1±1.5	1.0±0.1	2.0±0.5
BioSt74	0.5±0.5	0.3±0.0	3.0±0.3	0.1±0.0	1.4±0.1	2.0±1.2	1.0±0.1	2.0±0.0
BioSt75	4.2±0.0	15.5±0.0	37.1±0.0	12.0±0.0	30.0±0.0	42.0±0.0	9.0±0.0	14.0±0.0
BioSt76	77.0±0.2	7.1±0.0	7.1±0.0	0.2±0.1	90.2±0.0	90.0±0.0	10.0±0.2	1.0±0.0
BioSt80	42.5±0.1	50.1±0.0	14.0±0.2	25.1±0.1	8.0±0.1	53.5±0.2	13.5±0.0	1.0±0.0
BioSt81	0.2±0.1	-	3.1±1.0	-	1.4±0.1	2.0±1.2	0.4±0.1	1.1±0.1
BioSt83	11.0±0.1	8.0±0.2	5.0±0.2	51.3±0.1	29.0±0.1	31.0±0.0	4.4±0.0	44.5±0.1
BioSt85	2.1±2.0	0.3±0.0	0.4±0.0	-	2.0±1.3	0.1±0.0	1.7±1.2	-
BioSt91	4.3±0.1	3.4±3.0	3.0±1.3	-	1.5±1.0	2.0±1.2	0.3±0.1	2.0±1.5
BioSt93	4.6±0.2	4.0±4.0	3.0±2.0	-	1.4±1.0	2.2±1.4	1.0±0.5	2.0±1.4
BioSt97	0.3±0.0	4.0±3.2	3.0±1.3	-	1.0±0.1	2.0±1.3	0.4±0.1	2.0±1.1
BioSt99	0.3±0.0	4.1±3.4	3.0±1.2	0.1±0.0	1.2±1.1	1.0±0.0	1.0±0.3	0.2±0.0
BioSt100	0.2±0.0	3.4±3.0	2.0±1.0	-	1.4±0.1	1.0±0.2	0.5±0.2	1.6±1.4
BioSt102	0.1±0.0	3.2±1.1	2.0±1.0	0.1±0.0	1.0±0.0	1.5±1.2	0.5±0.2	1.5±1.3
BioSt104	1.2±0.3	3.0±2.4	2.0±0.5	0.1±0.0	1.3±0.1	1.0±0.2	0.5±0.2	1.5±1.3
BioSt108	0.2±0.0	3.4±2.5	1.2±1.1	-	1.2±0.4	1.0±0.3	1.0±0.2	2.0±1.3
BioSt109	0.2±0.0	10.0±1.0	1.4±1.3	-	1.4±1.0	1.0±0.4	0.4±0.2	1.4±0.3
BioSt110	0.3±0.0	9.5±8.3	1.5±1.4	-	2.0±1.0	0.7±0.3	0.5±0.2	2.0±2.0
BioSt112	0.4±0.0	3.3±2.5	1.5±1.3	-	1.5±1.0	1.0±0.4	1.0±0.0	2.0±1.4
BioSt115	0.5±0.0	7.3±2.1	3.4±0.2	-	1.2±0.2	2.0±1.3	1.0±0.0	2.0±2.0
BioSt118	0.5±0.0	1.0±0.5	2.2±2.2	-	2.0±1.2	1.2±0.2	1.0±0.0	2.1±2.0
BioSt119	0.4±0.0	1.2±0.4	1.3±1.2	-	1.4±1.2	2.0±0.0	1.0±0.1	2.4±2.0
BioSt121	-	2.0±1.0	1.3±0.2	-	3.0±2.0	3.0±1.0	2.1±0.1	2.0±1.5
BioSt123	-	2.0±1.2	1.0±0.0	-	3.0±2.1	3.0±2.0	2.2±2.0	2.0±1.4
BioSt127	-	7.0±1.3	1.4±1.3	-	3.0±2.2	3.0±2.1	2.1±2.0	2.0±1.4
BioSt132	0.5±0.4	1.1±1.0	1.4±1.3	-	1.0±0.0	1.1±0.1	0.5±0.2	1.3±1.0
BioSt134	6.0±0.4	5.0±0.4	9.0±1.2	-	2.0±1.4	2.2±1.0	2.0±1.3	2.0±1.4
BioSt161	-	9.0±7.2	1.0±0.1	0.1±0.0	1.0±0.0	2.3±1.0	2.1±0.1	2.0±0.4
BioSt162	11.1±5.2	13.1±2.3	8.0±0.4	-	2.2±0.1	2.2±0.1	2.0±1.2	1.5±0.3
BioSt164	4.2±1.0	8.0±1.2	1.5±0.3	-	1.0±0.1	1.0±0.5	1.2±1.0	0.4±0.0
BioSt169	12.2±2.3	9.0±0.1	3.0±0.2	-	1.0±0.2	2.4±0.1	1.3±0.4	0.3±0.3
BioSt171	13.3±2.0	-	3.0±0.4	-	9.0±0.1	-	2.0±0.1	0.1±0.0
BioSt172	11.0±2.5	-	3.0±0.1	-	1.0±0.2	-	2.2±0.1	0.1±0.0
BioSt173	10.0±2.5	-	3.0±0.1	-	0.3±0.0	-	2.0±0.1	1.4±0.1

ile kıyaslandığında, oldukça yüksek görünmektedir. Fermentasyon sonunda bu sayının 42.2 g/l'ye ulaştığını belirtmişlerdir. Dolayısıyla Rao ve ark. (2011)'nin bulguları çalışmamız ile paralellik göstermemektedir.

Etanol. Fermentatif mikroorganizmaların biyosentezi, tipik olarak gıda patojenleri ve bulaşıcı organizmaların büyümesini durduran asitler ve alkollerin üretimi ile sağlanmaktadır (Sieuwerts ve ark., 2008). Bir alkol türevi olan etanol metaboliti, asetaldehit oluşumundan sonra sentezlenir.



Şekil 3. BioSt83 izolatının geliştiği süt ekstraktının 210 nm'deki kromatogramı.
Figure 3. The chromatogram at 210 nm of the milk extract that BioSt83 isolate grew.

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan *Lb. bulgaricus* izolatlarının HPLC ile belirlenen format ve pirüvat miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir).

Table 2. *Lb. bulgaricus* isolates, used in the study, of formate and pyruvate amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey).

İzolat Isolate	Format (mg/kg) (Formate (mg/kg))			Pirüvat (mg/kg) (Pyruvate (mg/kg))		
	MRS Broth			MRS Broth		
	Anaerobik Anaerobic	Aerobik Aerobic	Süt Milk	Anaerobik Anaerobic	Aerobik Aerobic	Süt Milk
BioLb65	19.0±6.1	11.3±10.0	-	-	-	-
BioLb89	19.3±7.1	13.0±2.0	0.2±0.0	-	-	-
BioLb94	15.3±0.5	20.1±0.1	0.2±0.0	-	-	-
BioLb98	19.0±8.0	12.2±2.0	0.2±0.0	-	-	-
BioLb130	19.0±6.1	-	8.2±1.0	0.1±0.0	-	0.1±0.0
BioLb151	57.0±1.0	17.4±1.0	3.0±1.0	-	-	-
BioLb152	17.2±3.0	-	-	-	-	-
BioLb153	19.3±1.1	17.3±1.0	0.3±0.1	-	-	-
BioLb154	21.2±5.0	18.0±1.0	0.4±0.2	-	-	-
BioLb155	21.1±0.4	18.1±4.4	1.7±0.2	-	-	-
BioLb157	24.0±0.0	18.5±5.3	3.0±0.3	0.5±0.0	3.2±1.0	0.1±0.0
BioLb159	27.0±1.0	22.0±0.2	0.3±0.0	-	-	-

Çizelge 4. Çalışmada kullanılan *Lb. bulgaricus* izolatlarının HPLC ile belirlenen 3-H-2-B, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir).

Table 4. *Lb. bulgaricus* isolates, used in the study, of 3-H-2-B, ethanol and 2,3-butanediol amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey).

İzolat Isolate	3-H-2-B (mg/kg)			Etanol (mg/kg) Ethanol (mg/kg)			2,3-bütandiol (mg/kg) 2,3-butanediol (mg/kg)		
	MRS Broth			MRS Broth			MRS Broth		
	Anaerobik Anaerobic	Aerobik Aerobic	Süt Milk	Anaerobik Anaerobic	Aerobik Aerobic	Süt Milk	Anaerobik Anaerobic	Aerobik Aerobic	Süt Milk
BioLb65	2.4±2.2	3.5±1.0	66.2±2.4	26.2±8.0	52.1±6.0	32.0±3.5	96.0±1.0	44.5±1.0	23.3±9.0
BioLb89	1.2±1.5	4.0±3.4	-	90.0±4.0	66.4±3.0	62.0±5.0	17.0±4.0	49.0±3.0	32.0±3.1
BioLb94	75.4±0.0	4.0±2.3	-	66.5±2.0	25.0±6.4	76.2±3.2	17.0±5.0	49.0±1.5	32.0±4.0
BioLb98	-	8.1±3.0	-	92.0±4.3	62.1±3.1	47.0±3.0	30.0±3.3	12.0±2.3	28.0±3.0
BioLb130	77.0±2.0	-	-	35.5±8.0	48.0±0.0	56.0±0.0	22.0±4.0	98.0±5.1	30.1±3.1
BioLb151	4.0±0.3	4.0±0.3	-	21.0±3.4	24.0±4.0	65.4±3.2	18.0±1.4	78.0±1.4	30.0±0.3
BioLb152	1.0±0.1	-	-	78.2±5.0	-	-	73.2±1.3	-	-
BioLb153	1.0±0.1	4.0±1.1	-	31.0±9.0	9.1±3.0	75.1±2.0	98.4±2.0	79.0±6.0	6.2±0.2
BioLb154	20.0±5.0	5.0±0.1	-	87.0±8.0	18.0±2.0	67.1±2.0	16.4±2.1	30.1±3.0	30.3±2.0
BioLb155	0.1±0.1	-	-	95.3±5.0	92.1±4.0	27.0±4.0	31.0±3.0	88.0±3.0	28.4±2.3
BioLb157	25.0±3.0	6.0±2.0	7.0±0.0	90.0±11.0	19.0±4.0	20.1±7.1	13.5±1.1	20.4±2.1	27.0±4.0
BioLb159	-	3.5±2.0	-	85.0±8.0	61.1±2.0	28.0±0.0	18.0±1.2	14.4±4.4	69.1±0.0

Çizelge 3. Çalışmada kullanılan *St. thermophilus* izolatlarının HPLC ile belirlenen 3-H-2-B, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir)

Table 3. *St. thermophilus* isolates, used in the study, of 3-H-2-B and ethanol and 2,3-butanediol amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey)

İzolat <i>Isolate</i>	3-H-2-B (mg/kg)				Etanol (mg/kg) <i>Ethanol (mg/kg)</i>				2,3-bütandiol (mg/kg) <i>2,3-butanediol (mg/kg)</i>			
	SM17 broth				SM17 broth				SM17 broth			
	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>
NCBF2393	10.0±0.1	5.3±0.1	9.0±2.0	5.3±0.4	-	-	13.0±1.0	-	-	-	-	162.1±7.4
NIZO130	10.0±0.1	11.4±1.5	12.5±5.2	5.3±0.4	-	-	-	-	58.5±18.1	66.0±11.0	-	118.2±7.0
BioSt1	99.2±2.2	2.0±0.3	3.5±1.0	0.5±0.0	49.4±0.0	48.4±1.1	39.0±5.1	60.1±12.1	86.5±0.0	13.0±0.3	24.5±3.4	27.4±4.0
BioSt3	4.3±0.5	10.0±1.0	7.1±5.0	0.1±0.0	26.2±6.0	97.0±2.0	33.0±4.3	17.3±2.0	5.0±0.3	3.1±3.0	4.5±2.0	33.0±4.0
BioSt4	4.1±0.1	6.4±0.4	5.2±2.5	0.2±0.0	26.0±5.0	5.1±0.4	28.0±3.1	19.0±0.2	6.0±0.3	4.0±0.2	5.0±0.1	34.1±4.4
BioSt7	5.0±0.1	7.2±3.2	4.5±2.3	0.2±0.0	23.4±2.0	22.1±1.0	50.0±5.0	17.0±2.3	7.0±0.2	52.0±1.0	74.0±1.1	33.5±3.4
BioSt8	1.0±0.4	59.4±2.1	94.2±4.4	8.0±0.0	17.3±6.2	11.3±6.0	49.0±16.2	15.0±3.0	7.0±0.4	14.4±1.1	16.2±4.0	30.0±7.3
BioSt9	1.0±0.4	59.4±4.1	58.1±9.2	4.4±0.7	7.2±2.0	20.0±10.2	7.2±2.0	-	-	78.5±58.4	35.0±6.2	-
BioSt10	1.0±0.4	59.4±9.1	58.1±4.2	4.4±1.7	-	-	-	-	39.5±22.3	22.2±0.4	9.0±0.5	-
BioSt12	4.2±0.1	4.2±2.2	4.0±0.4	0.1±0.0	92.2±12.3	48.4±3.1	75.0±13.4	14.0±4.4	6.0±0.1	43.3±6.3	59.2±9.3	31.0±1.0
BioSt13	1.0±0.0	2.0±0.1	7.0±1.2	3.0±1.0	47.0±4.0	55.1±6.0	52.0±4.5	58.0±7.0	42.0±3.0	39.0±3.4	56.2±3.3	41.2±5.0
BioSt14	5.0±0.5	57.1±0.1	4.4±0.2	-	47.2±10.3	75.0±14.5	46.5±10.2	18.5±1.4	6.0±3.0	15.0±1.2	9.0±0.0	36.3±4.0
BioSt15	1.1±0.5	1.4±0.3	3.1±0.2	2.0±0.5	51.2±7.1	61.5±4.3	44.0±4.0	72.2±8.0	42.3±7.3	36.1±3.0	56.1±8.3	47.4±3.1
BioSt16	1.2±0.5	2.0±0.4	31.0±1.0	2.0±0.1	55.0±7.1	89.0±7.0	47.0±6.0	66.1±4.5	43.4±7.3	38.0±6.0	64.0±9.0	25.4±3.0
BioSt17	1.1±0.4	2.0±0.5	3.0±1.1	1.4±1.2	14.5±7.3	11.0±3.0	44.2±1.3	77.0±3.0	43.6±5.5	37.5±5	58.3±9.0	29.2±2.4
BioSt18	1.1±0.4	2.0±0.3	2.0±1.0	2.2±0.2	38.2±4.2	58.0±1.2	41.0±7.0	12.2±5.0	43.0±4.4	38.0±6.0	56.0±2.0	42.0±4.0
BioSt19	1.3±0.4	2.0±0.4	3.0±2.0	3.0±1.5	60.0±7.2	26.2±8.2	82.0±10.0	71.0±10.3	42.3±3.3	39.0±7.2	59.0±9.5	40.3±2.0
BioSt20	1.3±0.3	1.5±0.2	4.0±0.5	2.3±2.0	91.5±8.0	49.0±3.0	38.5±1.3	70.0±10.2	23.0±2.2	90.0±6.0	41.1±3.0	31.0±7.3
BioSt25	1.2±0.1	2.0±0.1	3.3±1.0	2.0±0.2	99.0±13.2	57.6±5.0	43.3±3.4	80.0±2.1	42.1±7.0	39.4±6.2	56.2±10.0	39.0±2.0
BioSt26	2.0±2.1	1.1±0.1	2.0±1.0	2.2±1.0	12.0±8.4	20.5±4.0	10.0±8.4	11.0±1.0	86.1±11.2	16.3±2.1	89.0±7.0	15.0±1.3
BioSt27	4.0±0.1	3.4±2.0	4.0±0.3	-	30.0±2.2	44.0±5.3	76.1±7.0	16.0±1.5	6.0±1.0	3.0±2.0	79.2±5.2	34.1±5.0
BioSt28	4.5±0.5	3.7±1.2	4.0±0.3	-	41.0±4.2	58.0±6.3	39.0±7.2	15.0±1.4	7.0±1.4	50.3±6.4	57.2±8.1	36.2±1.1
BioSt29	1.3±0.2	1.0±0.4	4.0±0.5	0.1±0.0	97.0±3.4	46.0±3.5	84.0±0.3	29.3±6.0	6.2±0.3	19.7±5.5	10.4±4.4	35.0±4.0
BioSt30	1.0±0.1	1.2±1.0	3.5±1.0	0.3±0.0	73.0±8.5	103.5±5.0	56.0±8.3	5.0±2.0	48.0±1.4	44.1±5.5	54.0±1.0	33.0±5.0
BioSt33	9.0±2.0	1.1±1.0	3.5±1.0	2.2±2.0	55.0±7.1	102.4±4.3	59.3±1.3	5.0±1.0	49.3±3.5	44.3±6.0	54.2±1.0	33.2±4.0
BioSt34	1.0±0.1	1.0±0.1	4.0±0.5	1.4±0.5	79.0±5.3	18.1±2.0	31.3±3.0	11.0±1.0	41.0±7.0	45.5±8.5	58.5±9.4	42.0±1.2
BioSt35	1.0±0.1	1.0±0.3	4.4±0.2	1.3±0.3	42.4±5.0	83.0±3.1	80.0±7.5	11.0±4.0	42.0±1.0	45.4±8.0	55.1±5.0	42.0±7.2

Çizelge 3. Çalışmada kullanılan *St. thermophilus* izolatlarının HPLC ile belirlenen 3-H-2-B, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir) (Devam)

Table 3. *St. thermophilus* isolates, used in the study, of 3-H-2-B and ethanol and 2,3-butanediol amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey) (Continuation)

İzolat <i>Isolate</i>	3-H-2-B (mg/kg)				Etanol (mg/kg) <i>Ethanol (mg/kg)</i>				2,3-bütandiol (mg/kg) <i>2,3-butanediol (mg/kg)</i>			
	SM17 broth				SM17 broth				SM17 broth			
	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>
BioSt36	6.1±0.1	4.0±3.3	1.0±0.2	0.2±0.1	41.0±2.0	114.5±9.2	38.0±3.0	4.0±0.3	54.3±4.0	14.1±9.0	42.0±2.0	22.0±9.0
BioSt37	3.1±0.4	0.2±0.0	3.5±1.0	-	47.0±9.0	42.2±6.0	31.0±3.5	8.0±3.3	78.0±1.2	84.0±5.3	87.0±1.0	39.3±4.4
BioSt38	-	7.1±0.1	10.0±1.1	0.5±0.0	67.5±9.5	12.4±1.0	35.0±5.1	97.0±0.4	1.5±0.2	9.3±0.5	6.0±0.4	42.0±3.0
BioSt40	0.2±0.2	0.3±0.0	0.4±0.4	23.0±2.0	81.1±0.3	47.1±1.0	28.5±3.0	22.0±2.1	48.0±8.0	81.0±7.1	17.4±3.0	84.0±2.5
BioSt42	6.5±2.4	1.2±1.0	2.0±1.0	1.0±0.3	53.5±1.3	45.0±7.0	46.0±2.0	11.4±1.5	62.4±1.0	61.0±5.0	76.3±1.0	29.0±2.0
BioSt43	6.0±0.4	2.0±1.4	2.2±1.5	1.0±0.3	21.4±2.0	43.0±1.5	42.5±3.0	7.0±1.5	63.0±4.2	65.2±10.0	76.3±5.1	12.5±2.0
BioSt44	7.5±1.4	2.3±0.2	2.1±1.1	-	21.2±0.4	46.3±3.0	61.5±2.0	7.3±2.0	5.0±1.0	7.1±0.3	14.3±0.2	27.0±1.0
BioSt45	7.5±1.4	2.3±0.2	2.1±1.1	1.0±0.1	21.2±0.4	46.3±3.0	61.5±2.0	7.3±2.0	5.0±0.5	7.1±0.3	14.3±0.2	27.0±1.0
BioSt46	6.6±0.3	2.0±1.3	2.0±1.0	0.2±0.1	38.3±4.0	81.0±2.0	63.5±5.3	13.0±0.4	56.0±0.5	68.0±6.1	81.0±1.0	28.5±0.5
BioSt47	27.3±0.0	2.1±0.1	1.3±0.4	12.4±0.2	20.0±1.3	10.1±1.0	26.0±4.0	0.2±0.1	76.0±5.2	38.0±2.0	40.5±3.3	43.4±0.2
BioSt49	3.4±3.0	3.0±1.4	2.0±1.1	12.5±1.1	62.0±4.2	29.1±8.0	93.0±4.1	36.0±3.0	41.4±6.1	42.0±6.1	69.0±9.4	35.0±1.2
BioSt50	4.0±3.0	2.4±1.0	2.0±1.1	0.2±0.0	68.4±5.5	18.2±7.0	62.0±3.0	8.4±0.4	14.0±1.5	47.0±6.2	72.0±1.2	22.1±2.0
BioSt53	4.0±3.0	2.1±2.0	2.0±1.0	10.0±1.4	59.0±3.4	29.0±0.5	10.0±4.3	31.0±2.0	11.0±8.0	31.2±6.4	30.6±2.4	33.3±2.0
BioSt54	4.0±0.2	4.3±1.3	2.0±1.2	9.0±1.2	65.0±6.5	18.0±5.0	76.0±2.3	42.0±3.0	20.2±4.5	96.1±1.4	96.5±4.1	32.0±1.0
BioSt55	0.3±0.0	3.0±1.0	2.0±1.1	-	46.4±1.0	50.0±2.0	20.0±5.4	-	42.0±2.4	17.4±6.1	85.0±2.0	-
BioSt56	6.0±1.4	6.0±5.2	2.0±1.3	13.1±2.2	78.3±2.3	78.5±3.0	61.0±1.3	47.0±3.0	58.0±0.1	49.1±8.0	68.5±6.0	37.5±0.5
BioSt57	6.0±1.1	5.0±1.2	3.0±1.0	8.2±2.0	62.2±4.4	74.5±5.0	90.1±2.5	91.3±3.0	69.5±1.1	54.0±0.4	61.0±2.4	33.5±7.3
BioSt58	6.2±2.0	6.0±2.5	3.1±0.1	5.4±0.2	45.5±4.0	87.3±4.2	66.1±2.0	51.4±3.0	41.0±3.5	99.5±3.2	93.3±2.0	32.0±2.0
BioSt59	8.0±1.0	9.0±0.1	3.0±2.1	9.3±8.3	22.0±1.0	39.2±5.0	14.5±1.5	73.2±2.0	71.5±1.1	34.2±1.3	67.3±1.2	48.2±2.1
BioSt60	8.5±3.0	7.0±3.5	2.0±1.3	9.5±0.1	42.5±2.0	34.0±6.5	13.0±2.3	75.3±3.0	69.0±2.0	93.0±3.0	62.2±2.0	39.0±12.0
BioSt61	6.4±0.2	9.5±2.0	1.0±0.0	8.3±1.0	51.0±3.0	31.5±6.0	13.5±2.4	69.0±0.0	57.2±5.5	58.0±9.0	66.1±1.5	34.5±2.0
BioSt62	6.5±0.0	6.0±0.5	2.0±1.0	9.3±0.3	18.1±6.0	31.0±8.0	13.2±2.0	80.0±1.0	58.0±10.0	59.5±2.5	62.5±1.4	32.3±12.0
BioSt63	64.0±0.1	10.0±0.1	1.3±0.1	7.0±1.0	11.1±1.4	37.1±2.0	37.0±5.0	24.0±2.0	46.4±1.0	65.0±3.1	15.0±0.3	28.4±1.4
BioSt64	1.0±0.1	8.0±0.1	1.3±0.1	13.5±1.0	11.1±0.2	37.1±3.0	37.0±1.0	24.0±5.2	59.4±1.0	66.1±0.3	84.3±1.0	19.3±0.5
BioSt66	9.0±5.0	19.3±5.0	5.2±3.0	10.0±0.1	27.0±2.4	17.0±0.1	56.5±3.0	88.2±0.1	66.0±0.2	69.0±0.2	95.0±0.1	32.0±7.5
BioSt67	6.0±2.0	12.2±2.5	9.5±3.4	9.0±0.4	58.0±4.5	12.3±0.1	92.0±10.0	99.5±0.2	86.0±10.0	68.0±0.3	71.3±1.0	32.0±6.0
BioSt68	18.0±7.0	95.1±2.0	55.5±4.0	10.0±0.1	91.5±2.0	66.0±6.0	18.2±5.0	96.0±2.0	62.0±0.5	61.5±0.4	72.1±0.1	51.0±10.0
BioSt69	6.0±1.4	13.0±1.0	8.0±0.5	11.0±0.1	55.4±2.0	17.0±1.2	34.3±6.5	97.0±0.2	84.0±3.0	63.0±1.0	71.2±0.2	32.0±1.5

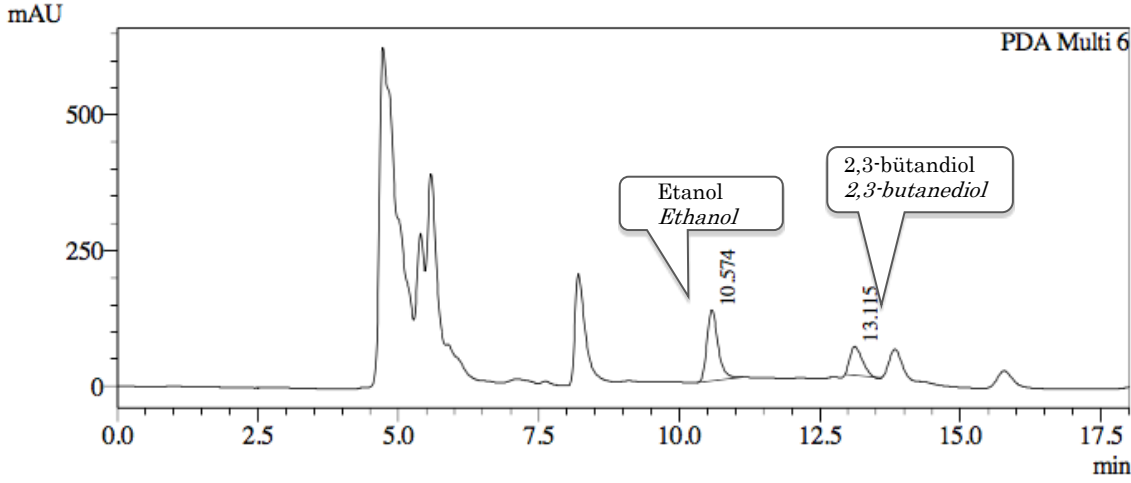
Çizelge 3. Çalışmada kullanılan *St. thermophilus* izolatlarının HPLC ile belirlenen 3-H-2-B, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir) (Devam)

Table 3. *St. thermophilus* isolates, used in the study, of 3-H-2-B and ethanol and 2,3-butanediol amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey) (Continuation)

İzolat <i>Isolate</i>	3-H-2-B (mg/kg)				Etanol (mg/kg) <i>Ethanol (mg/kg)</i>				2,3-bütandiol (mg/kg) <i>2,3-butanediol (mg/kg)</i>			
	SM17 broth				SM17 broth				SM17 broth			
	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>
BioSt70	6.4±1.0	12.1±3.0	10.3±3.0	9.0±0.3	8.5±2.0	17.5±0.1	10.0±0.0	91.0±0.4	78.0±8.0	63.0±0.2	72.5±0.1	32.0±2.4
BioSt71	8.1±2.0	12.0±2.0	11.0±3.3	7.4±0.0	66.0±3.0	37.0±8.0	90.0±6.5	87.0±1.2	66.2±8.0	64.0±0.3	73.0±0.4	31.0±3.1
BioSt74	7.5±2.0	11.3±4.0	9.4±2.1	8.0±1.2	59.0±3.0	94.5±3.2	12.0±9.3	91.0±0.2	89.2±7.0	63.3±2.1	71.5±2.0	45.0±5.2
BioSt75	22.5±0.0	40.0±0.2	37.3±0.4	63.0±0.0	13.5±0.2	4.3±0.4	28.5±0.2	24.0±0.3	1.1±0.0	2.5±0.2	22.0±0.0	19.2±0.2
BioSt76	97.0±0.0	44.0±0.0	11.0±0.0	0.2±0.2	13.1±0.0	35.3±0.3	68.3±0.3	15.2±0.2	8.0±0.0	8.5±0.2	70.2±0.0	54.3±0.1
BioSt80	1.0±0.2	2.1±0.0	6.3±0.4	1.0±0.0	75.0±0.0	16.5±0.1	2.3±0.2	2.1±0.0	26.0±0.1	17.0±0.0	8.5±0.1	5.0±0.1
BioSt81	14.2±9.2	76.1±8.2	90.0±8.1	10.0±1.0	60.0±4.3	20.1±2.0	16.0±6.0	37.0±3.3	63.3±2.4	75.0±4.0	80.4±1.0	39.0±5.3
BioSt83	4.2±0.1	40.0±0.1	4.3±0.1	12.1±0.0	3.5±0.1	27.3±0.1	3.1±0.1	42.5±0.2	73.0±0.0	15.0±0.1	60.0±0.2	21.4±0.2
BioSt108	15.0±2.1	18.0±2.1	97.2±8.0	10.5±1.2	67.0±7.4	56.0±5.0	87.0±1.1	13.0±2.0	55.1±5.2	42.0±2.0	77.0±4.2	29.0±4.1
BioSt109	14.1±1.3	15.0±8.1	17.0±9.0	11.3±1.2	14.0±2.3	18.0±0.3	14.3±10.0	15.4±5.0	78.0±7.2	91.0±4.0	70.2±2.3	18.0±8.0
BioSt110	11.5±7.3	123.0±2.0	96.0±8.0	13.0±1.2	46.4±8.0	50.4±5.4	58.0±5.0	86.0±1.2	82.4±2.0	96.3±5.0	83.0±2.0	31.0±3.4
BioSt112	14.3±6.0	127.0±8.4	95.0±2.0	13.0±2.0	40.0±2.4	56.0±1.5	49.1±2.0	19.3±6.4	87.5±2.0	93.0±4.2	86.0±4.2	30.0±5.4
BioSt115	10.2±2.5	13.0±7.2	7.0±3.2	12.3±2.0	17.0±2.5	45.0±2.0	32.0±4.0	96.0±7.2	45.0±2.4	89.0±2.4	82.5±2.4	55.4±1.2
BioSt118	16.1±1.2	17.5±10.0	10.3±3.4	13.0±1.6	31.0±3.0	55.2±1.2	76.4±5.0	14.3±2.4	41.0±3.0	94.3±3.2	31.1±1.4	52.4±5.0
BioSt119	15.2±3.4	9.4±5.0	8.1±4.0	2.1±2.0	29.0±3.0	26.0±2.0	13.2±4.4	15.1±2.0	45.4±2.4	78.0±2.4	30.0±7.0	52.5±9.0
BioSt121	9.0±4.0	10.3±7.0	17.0±1.0	11.0±1.4	28.0±2.0	67.0±1.0	71.1±1.4	12.5±1.2	70.0±2.4	95.5±2.0	92.0±7.0	43.3±7.3
BioSt123	8.0±1.0	8.4±5.0	14.3±0.5	6.5±0.1	11.3±6.1	65.0±5.5	21.2±6.0	98.0±6.0	26.0±2.0	77.0±6.2	41.2±5.0	32.0±2.2
BioSt127	5.4±4.0	6.0±1.0	13.0±3.5	11.5±2.0	70.5±4.3	60.3±4.2	25.0±8.4	99.2±4.1	13.2±7.0	38.0±7.2	56.0±5.2	2.4±0.4
BioSt132	6.4±1.0	14.3±6.0	6.4±0.5	9.0±1.0	25.0±21.0	40.0±2.0	13.5±1.3	11.5±6.4	60.0±2.4	86.3±2.0	38.4±3.2	45.0±10.1
BioSt134	6.3±4.1	5.1±2.4	14.0±8.0	8.5±0.3	16.2±8.0	3.4±9.0	41.0±4.1	93.5±6.0	89.3±1.2	29.0±6.0	72.5±0.5	29.1±3.0
BioSt161	16.0±1.5	7.0±4.5	16.0±2.3	10.0±0.4	82.0±7.0	6.0±4.3	24.0±4.0	14.0±2.0	10.0±7.5	21.0±2.0	59.0±7.1	23.0±2.4
BioSt162	11.0±2.3	11.0±9.5	15.0±3.3	11.0±1.5	40.0±4.0	30.0±2.2	49.0±5.0	97.0±3.0	79.1±4.2	76.0±3.2	71.2±9.5	22.0±2.0
BioSt164	7.0±0.5	10.0±2.0	13.0±2.0	6.0±3.0	47.0±9.0	65.0±4.0	96.0±1.0	17.0±5.4	73.0±1.4	68.2±4.2	96.0±8.4	32.4±6.0
BioSt169	14.0±0.3	2.0±0.2	24.0±1.4	5.0±1.0	27.0±4.0	76.0±6.0	72.0±4.0	-	4.3±1.0	-	10.0±4.0	39.0±8.2
BioSt171	120.0±3.0	-	15.0±2.0	4.0±0.5	88.0±1.0	-	96.0±6.1	-	4.0±0.1	-	130.0±5.2	38.0±7.0
BioSt172	122.0±2.3	-	15.0±0.3	4.0±0.5	31.6±6.2	-	27.0±11.0	-	9.5±5.5	-	31.3±11.0	42.0±1.3
BioSt173	104.0±10.0	-	15.0±0.5	5.0±1.0	42.0±1.4	-	65.0±1.5	6.0±1.3	5.0±1.2	-	10.0±5.0	40.0±3.1

Yoğurdun ekşimeye başlaması ile ortamda varlığı artmaya başlamaktadır. Yoğurtta belirli miktarda asetaldehit birikmesi sonucunda, alkol dehidrogenaz enzimi, asetaldehiti etanole indirgemeye başlar (Pinto

ve ark., 2009). Sütte NCBF2393 ve NIZO130 suşları için etanol miktarı tespit edilmemiştir. BioSt67 99.5±0.2 mg/kg ile sütte en yüksek miktardaki etanolü üretmiştir (Çizelge 3, Şekil 4).



Şekil 4. BioSt67 izolatının geliştiği süt ekstraktının 190 nm'deki kromatogramı.
Figure 4. The chromatogram at 190 nm of the milk extract that BioSt67 isolate grew.

En yüksek etanol miktarı anaerobik SM17'de 191.4±1.1 mg/kg olarak (BioSt99) tespit edilmiştir. En düşük etanol miktarı 2.1±0.0 mg/kg ile BioSt80 izolatında sütte tespit edilmiştir. Diğer bazı izolatlarda etanol miktarı tespit edilmemiştir. *Lb. bulgaricus* izolatları arasında etanol miktarı sütte, BioLb94 izolatında 76.2±3.2 mg/kg (en yüksek miktar), BioLb157 izolatında ise 20.1±7.1 mg/kg (en düşük miktar) olarak tespit edilmiştir. Pinto ve ark. (2009), 21 günlük depolama süresi sonunda, yoğurtta aerobik şartlarda 3.3-40 mg/L etanol tespit etmişlerdir. Anaerobik MRS besiyerinde, BioLb155 izolatı 95.3±5.0 mg/kg etanol (en yüksek miktar) tespit edilmiştir. En düşük miktar BioLb153 izolatında 9.1±3.0 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Terpou ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada, tüm yoğurt örneklerinde etanole rastladıklarını belirtmişlerdir. Gürsel ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada bir günlük yoğurtta 3.63 ± 0.57 mg/kg etanol tespit etmişlerdir. Etanol, maya ile bulaşma veya heterofermentatif metabolizma söz konusu olmadıkça, süt ürününün son tadına direkt katkı sağlamamaktadır. Bu da etanolün büyük bir yan ürüne dönüşmesine neden olmaktadır (Birch ve ark., 2013). Çalışmamızda kullandığımız referans suşlar, *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* izolatlarının kullanılan besiyerleri ve sütte belirlenen etanol miktar aralıklarının, tespit edilen diğer metabolit miktarlarına göre daha yüksek sayılarda olması bu şekilde açıklanabilir (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

2,3-Bütandiol. Sütte, NCBF2393 suşu için 162.1±7.4 mg/kg 2,3 bütandiol tespit edilirken, NIZO130 için 118.2±7.0 mg/kg 2,3 bütandiol tespit edilmiştir. BioSt127 izolatı için 2.4±0.4 mg/kg (en düşük değer)

tespit edilmiştir. BioSt40 için 84.0±2.5 mg/kg (en yüksek miktar) 2,3 bütandiol tespit edilmiştir. Anaerobik SM17'de BioSt75 izolatında 1.1±0.0 mg/kg (en düşük miktar) 2,3 bütandiol tespit edilmiştir. LM17 besiyerinde BioSt171 için 130.0±5.2 mg/kg (en yüksek miktar) 2,3 bütandiol tespit edilmiştir. *Lb. bulgaricus* izolatları arasında sütte 2,3-bütandiol metaboliti, en düşük 6.2±0.2 mg/kg olarak tespit edilirken (BioLb153), en yüksek 69.1±0.0 mg/kg (BioLb159) olarak tespit edilmiştir. En yüksek miktarda 2,3-bütandiol anaerobik MRS ve aerobik MRS besiyerlerinde sırasıyla 98.4±2.0 mg/kg (BioLb153) ve 98.0±5.1 mg/kg (BioLb130) olarak tespit edilmiştir. Rao ve ark. (2011), fermentasyon başlangıcında tespit ettikleri 2,3-bütandiol miktarını 41.7 g/l olarak belirtirken, fermentasyon sonrası 2,3-bütandiol miktarını 15.8 g/l olarak belirtmişlerdir. Aynı çalışmada aseton miktarı artarken 2,3-bütandiol miktarındaki azalma, bu metabolitin asetoine dönüşmüş olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamızda kullanılan referans suşların ve tüm izolatların her bir besiyeri ve sütteki 2,3-bütandiol değerleri ve miktar aralıkları, Rao ve ark. (2011)'nin çalışmasına göre oldukça düşük miktarda bulunmuştur (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmada kullanılan mikroorganizmaların spesifik besiyerlerinde, aerobik ve anaerobik şartlarda ve sütte geliştirildikten sonra HPLC analizi ile bazı aroma metabolitlerinin (format, pirüvat, aseton, etanol ve 2,3-bütandiol) miktar tayinlerinin gerçekleştirilmesi, şimdiki dek bu konuda etraflıca yapılmış ilk çalışmadır. Literatür incelendiğinde, bu

metabolitlerden bazılarına (format) dair miktar tayinine hiç rastlanmazken, bazılarının ise yalnızca yoğurttaki miktarlarının belirlendiği görülecektir. Besiyerlerinde O₂'li ve O₂'siz şartlarda geliştirmek suretiyle, sütteki değerler ile diğer ortamlardaki değerlerin karşılaştırılması ve bu hususta bir fikir yürütmek imkanı doğmuştur. Yüksek verimli teknolojiler, LAB'ini kullanarak endüstriyel yenilikler elde etmek için bize etkili yöntemler sunmaktadır. Bu sebeple, günümüzde, geniş bir aroma bileşiği çeşitliliği veya gerçek lezzet profili üretimi için çok sayıda suşun taranması mümkün olmaktadır. Son yıllarda, aroma üreten kültürlerin taranması, mevcut kültürler hakkında bilgi eksikliğinin giderilmesi hususunda önemli bir boşluğu kapatacaktır. Arzu edilen aroma oluşturuca özelliklere sahip olan suşların belirlenmesi, süt endüstrisine yeni suşların kazandırılmasını mümkün kılmaktadır.

TEŞEKKÜR

Doktora tezimin bir bölümünü oluşturan bu çalışmalara verdiği destekten ötürü TÜBİTAK'a teşekkür ederim (Proje No:110O218).

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKÇA

Biasioli F, Benozzi E, Romano A, Capozzi V, Makhoul S, Cappellin L, Khomenko I, Aprea E, Scampicchio M, Spano G, Märk TD, Gasperi F 2015. Monitoring of lactic fermentation driven by different starter cultures via direct injection mass spectrometric analysis of flavour-related volatile compounds. *Food Research International*, 76: 682-688.

Birch AN, Petersen MA, Hansen AS, 2013. The aroma profile of wheat bread crumb influenced by yeast concentration and fermentation temperature. *Food Science and Technology*, 50(2): 480-488.

Cayot N, Guichard E, Pernin K, Martin K, Cachon R, De Coninck J, Gervais P 2011. Effect of oxidoreduction potential on aroma biosynthesis by lactic acid bacteria in nonfat yogurt. *Jairy of Science*, 94:614-622.

deMan JC, Rogosa M, Sharpe M 1960. A Medium For The Cultivation of Lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23:130-135.

Derzelle S, Bolotin A, Mistou MY, Rul F 2005. Proteome analysis of *Streptococcus thermophilus* grown in milk reveals pyruvate formate lyase as the major upregulated protein. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 8597-8605.

Gezginç Y 2010. Geleneksel Yoğurtlardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Plazmit İçeriği ve Biyojenik Amin Üretimi Bakımından Gıda Endüstrisinde Kullanılabilirliğinin Araştırılması. KSÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni ABD, Doktora tezi, 245s.

Gezginç Y, Topcal F, Comertpay S, I Akyol 2015. Quantitative analysis of the lactic acid and acetaldehyde produced by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* strains isolated from traditional Turkish yogurts using HPLC. *Journal of Dairy Science*, 98 (3):1426-1434.

Gürsel A, Gürsoy A, Anlı EAK, Budak SO, Aydemir S, Durlu-Özkaya F 2016. Role of milk protein-based products in some quality attributes of goat milk yogurt. *Journal of Dairy Science*, 99 (4):1-10.

Hols P, Hancy F, Fontaine L, Grossiord B, Prozzi D, Leblond-Bourget N, Decaris B, Bolotin A, Delorme C, Dusko Ehrlich S, Guedon E, Monnet V, Renault P, Kleerebezem M 2005. New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29 : 435-463.

Horiuchi H, Sasaki Y 2012. Short communication: effect of oxygen on symbiosis between *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 2904-2909.

Imhof R, Glaetli H, Bosset JO 1995. Volatile organic compounds produced by thermophilic and mesophilic single strain dairy starter cultures. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 78-86.

Liu, SQ 2003. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 83(2):115-131.

MNNQ Izzreen, ÅS Hansen, MA Petersen 2016. Volatile compounds in whole meal bread crust: the effects of yeast level and fermentation temperature. *Food Chemistry*, 210:566-576.

Olieman C, ES de Vries 1988. Determination of d- and l-lactic acid in fermented dairy products with HPLC. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 42:111-120.

Perez PF, Deantoni GL, Anon MC 1991. Formate production by *Streptococcus thermophilus* cultures. *Journal of Dairy Science*, 74: 2850-2854.

Pinto SM, Clemente MDG, Abreu LRD 2009. Behaviour of volatile compounds during the shelf life of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 62(2):215-223.

Rabha B, Nadra RS, Ahmed B 2011. Effect of threonine on growth and acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *World Applied Sciences Journal*, 15 (2): 160-163.

Rao Z, Zhang X, Yang T, Lin Q, Xu M, Xia H, Xu Z, Li H 2011. Isolation and identification of an acetoin high production bacterium that can reverse transform 2,3-butanediol to acetoin at the decline

- phase of fermentation. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27:2785-2790.
- Shoji Oliveira, AC, Balieiro JCC, Freitas O, Thomazini M, Heinemann RJB, Okuro PK, Favaro-Trindade CS 2013. Viability of *L. acidophilus* microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt. Food and Bioproducts Processing, 91: 83-88.
- Sieuwert S, de Bok FAM, Hugenholtz J, van Hylckama V, JET 2008. Unraveling microbial interactions in food fermentations: from classical to genomics approaches. Applied and Environmental Microbiology, 74: 4997-5007.
- Tabasco R, Paarup T, Janer C, Peláez C, Requena T 2007. Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. International Dairy Journal, 17: 1107-1114.
- Terpou A, Bekatorou A, Kanellaki M, Koutinas AA, Nigam P 2017. Enhanced probiotic viability and aromatic profile of yogurts produced using wheat bran (*Triticum aestivum*) as cell immobilization carrier. Process Biochemistry, 55: 1-10.
- van Valenberg HJF, Settachaimongkon S, Nout MJR, Fernandes ECA, van Hooijdonk TCM, Zwietering MH, Smid EJ 2014. The impact of selected strains of probiotic bacteria on metabolite formation in set yoghurt. International Dairy Journal, 38:1-10.
- Yazdıç F 2017. *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* İzolatlarının Plazmitlerinin Nükleotit Dizilenmesi ve Bazı Aroma Metabolit Kapasitelerinin Belirlenmesi. KSÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik ve Bilimleri ABD, Doktora tezi, 191s.



Some Physicochemical and Microbiological Properties of Cow Milks Collected from Local Dairy Delicatessens in Erzurum, Turkey

Alper BARAN^{1*}, Mehmet Cemal ADIGÜZEL²

¹Department of Food Quality Control and Analysis, Vocational School of Erzurum, Atatürk University, Erzurum, ²Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Atatürk University, Erzurum, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-3089-6624>, ² <https://orcid.org/0000-0002-2385-9649>

✉: alper.baran@atauni.edu.tr

ABSTRACT

In this study, some physicochemical and microbiological characteristics of 50 raw milk samples sold in local dairy delicatessens in Erzurum province were determined. As a result of the research, the non-fat dry matter (%), fat (%), total dry matter (%), pH, acidity (%), and density values of the milk samples were 7.6-10.5, 1.5-6.8, 10.9-15.1, 6.46-7.33, 0.121-0.252 and 1.026-1.034, respectively. When the data were evaluated according to the related standards, it was determined that 12% of the raw milk was not suitable for fat, 6% for non-fat dry matter and 12% for total acidity. The total aerobic of mesophilic bacteria counts in 98% of the samples were > 100.000 cfu/mL⁻¹, of the total coliform bacteria counts were in the range of 5.18-5.83 log cfu/mL⁻¹ in 38%, the total Enterococcus spp. counts were in the range of 5.76-6.68 log cfu/mL⁻¹, the total number of Staphylococcus/Micrococcus spp. counts were in the range of 3.60-4.80 log cfu/mL⁻¹ in 60% and the yeast-mold counts 4.38-5.07 log cfu/mL⁻¹ in 36%. When all the results were taken into consideration, it was recognized that the samples were found to have worse microbiological quality than the chemical properties.

Research Article

Article History

Received : 15.04.2019

Accepted : 08.12.2019

Keywords

Raw milk

Physicochemical properties

Microbiological quality

Erzurum

Erzurum'da Yerel Süt/Süt Ürünleri Şarküterilerinden Toplanan İnek Sütlerinin Bazı Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri

ÖZET

Bu çalışmada Erzurum ilinde lokal süt şarküterilerinde satışa sunulan 50 adet çiğ süt örneğinin bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırma sonucunda süt örneklerinin yağsız kurumadde (%), yağ (%), toplam kurumadde (%), pH, asitlik derecesi (%), ve yoğunluk değerlerinin sırasıyla 7,6-10,5, 1,5-6,8, 10,9-15,1, 6,46-7,33, 0,121-0,252 ve 1,026-1,034 arasında değiştiği ve süt örneklerinin hepsinin karbonat testinin negatif olduğu saptanmıştır. Elde edilen veriler ilgili standartlara göre değerlendirildiğinde çiğ sütlerin %12'sinin yağ, %6'sının yağsız kurumadde, %12'sinin de asitlik değeri yönüyle uygun olmadığı saptanmıştır. Örneklerin, %98'inde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının >100.000 kob/mL⁻¹, %38'inde toplam koliform bakteri sayısının 5,18-5,83 log kob/mL⁻¹ arasında, total Enterococcus türlerinin sayısının 5,76-6,68 log kob/mL⁻¹ arasında, toplam Staphylococcus/Micrococcus türlerinin sayısının % 60'ında 3,60-4,80 log kob/mL⁻¹ arasında ve maya-küf sayısının ise %36'sında 4,38-5,07 log kob/mL⁻¹ arasında olduğu belirlenmiştir. Elde edilen tüm sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda incelenen örneklerin kimyasal özelliklerinden ziyade mikrobiyal kalitelerinin daha kötü olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 15.04.2019

Kabul Tarihi : 08.12.2019

Anahtar Kelimeler

Çiğ süt

Fizikokimyasal özellik

Mikrobiyolojik kalite

Erzurum

INTRODUCTION

Milk has an important role in nutrition in human life due to its protein, carbohydrates, vitamins and fat contents (Ullah et al., 2017). Additionally, it has beta-lactoglobulin, lactoferrin, lysozyme, galactosidase, conjugated linoleic acid, minerals, vitamins, hormones and peptides which are biologically active compounds with antiadhesive, antidiabetic, antimicrobial, angiotensin converting enzyme inhibitor, anticarcinogenic, antiobesitic, pre and probiotic properties which have important effects on human nutrition, health and metabolism (Park et al., 2013; Armas et al., 2016). In summary, milk is one of the most important animal products that contain many components needed by human metabolism in daily life in a sufficient and balanced rate (Singhal et al., 2017).

In addition to its vital importance, milk has great importance economically in terms of cattle breeding as the main agricultural activity of farmers in Turkey. The milk production rate in Turkey has increased over the years and is still upward trend due to improvements in the livestock sector. In 2000, the amount of bovine milk production, which was 8.372,00 tons, reached 18.762,000 tons in 2017. It can be observed that milk production does not only meet the needs in the country, but also contributes to the national economy when the its products are also sold in the foreign markets. For example, the rate of exports of dairy products realized in January 2019 increased by 21.06% compared to January 2018 (USK, 2019).

The type and quality of raw milk to be used in the production of dairy products are important in terms of product quality. In this respect, the physical, chemical and microbiological characteristics of raw milk is a matter to be emphasized. Qualified milk is a very important product in terms of economy and health, in this way it can make the farmer earn more money, as well as enables the industrial institutions and/or organizations to produce more and better-quality dairy products. Consumers tend to prefer the healthy milk products due to the increasing demand for hygienic and nutritionally high-quality ones (Chardon et al., 2016; Spreer, 2017).

There is a relationship between some physicochemical parameters that make up the structure of raw milk. Changes in some parameters that make up the composition also lead to a number of changes in the total content. This known situation has been put forward by many researchers. Therefore, any kind of adulteration that can be made in milk opens the door to a number of changes in the composition. When the relations of the subject matter are examined, valuable information is given about the quality of milk and the probabilities of adulteration. A similar situation is observed in microbial flops of milk (Antunac et al., 2002; Martin et al., 2004; Ropciuc, 2013).

In the production of milk and dairy products, Erzurum meets a large part of the regional production in the North-Eastern Anatolia Region. Nevertheless, it is reported that milk and dairy production is not sufficient in terms of hygiene and quality parameters (KUDAKA, 2013). Therefore, it is necessary to evaluate the current situation in milk in the the markets as a basis for the measures and activities in Erzurum province. In line with this aim, samples were taken from raw milk of the markets in Erzurum province and their physical, chemical and microbiological properties were determined. In addition, the relationships between the parameters of physicochemical and microbiological properties of the samples were evaluated.

MATERIAL and METHODS

Collection and Analysis of Milk Samples

Overall, 50 milk samples (n:50) collected from different local dairy delicatessens in Erzurum during the May-December 2018 were used as materials in this study. The raw milk samples were brought to the laboratories of the Erzurum Vocational School, Department of Food Processing under the cold chain and were subjected to analyzes on the same day.

Physicochemical and Chemical Analysis in Milk Samples

The pH of the milk samples was determined using pH meter (Hanna Orion, USA) and the acidity was determined by titrimetric method using phenolphthalein indicator (Metin and Öztürk, 2010). The fat content of milk samples was determined by using Gerber method (Metin and Öztürk, 2010) non-fat dry matter values by using refractometer, total dry matter content was determined by addition of fat content and non-fat dry matter and specific gravity values were determined by using lactodensimeter (Beykaya et al., 2017). The presence of carbonate was determined using rosolic acid (Metin and Öztürk, 2010).

Microbiological Analysis in Milk Samples

Prepared Samples for Microbiological Analyzes: 10 mL of milk samples were homogenized with 90 mL sterile physiological water (0.85%) (10^{-1} dilution) and dilutions (10^{-2} , 10^{-3} and 10^{-4}) were prepared for microbiological analysis. The logarithmic conversion to the obtained colony numbers was expressed in terms of log cfu mL⁻¹.

Total Aerobic Mesophilic Bacteria Count: Total aerobic mesophilic bacteria were enumerated on Plate Count Agar (PCA) (Merck, Germany) after incubating at 32 °C for 24-48 h in aerobic conditions (Motato et al., 2017).

Total Coliform Bacteria Count: Total coliform bacteria were enumerated on Violet Red Bile Agar (VRB) (Merck, Germany) after incubating at 35 °C for 24-48 h in aerobic condition (Asfidoajani and Scihani, 2018).

Yeast and Mold Count: Yeast and mold was enumerated on Rose Bengal Chloramphenicol Agar (RBC) (Merck, Germany) (VRB) after incubating at room temperature for 5 days (Zeng et al., 2013).

Staphylococcus/Micrococcus spp. Count: Staphylococcus/Micrococcus spp. was enumerated on Baird Parker Agar (BP) (Merck, Germany) supplemented with egg yolk tellurite emulsion after incubating at 37 °C for 24 h in aerobic conditions (Walcher et al., 2014).

Total Enterococcus spp. Count: Total Enterococcus spp. bacteria were enumerated on Kanamycin Aesculin Azide Agar (KAA) (Merck, Germany) supplemented with kanamycin after incubating at 37 °C for 24 h in aerobic conditions (Graham et al., 2017).

Statistical Analysis

Standard deviations were calculated to check the sensitivity of the examination and allow the comparison of raw milk contamination. Descriptive statistics including mean, standard deviation, variance, minimum and maximum values were obtained. To evaluate the association of psychochemical and microbiological properties in raw

milk samples, we used Pearson correlations test. SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and Minitab Software (Minitab Inc., State College, Pennsylvania, USA) was used for statistical analysis.

RESULTS and DISCUSSION

Physicochemical Properties of Milk Samples

The results of the physicochemical analysis of the samples taken from raw milk sold in Erzurum are given in Table 1.

Intensity of the correlation between analyzed some parameters in milk samples was significant. (Table 2). In this study, statistically highly significant correlation ($p<0.01$) between NFDM and F contents in relationship with TDM in milk samples were established. A negative correlation was found between TA and pH properties ($p<0.01$). Also, a negative correlation between the content of milk fat and density was established. We detected significant correlation ($p<0.05$) between density and NFDM content.

Figure 1 shows that there were three components that contribute to the quality of cow milk. Both components explain 86% variability of the quality of milk based on physicochemical analyses.

Non-Fat Dry Matter and Total Dry Matter

The non-fat dry matter in milk consists of all solids such as lactose, minerals and vitamins. Non-fat dry matter content in milk is important in terms of flavor

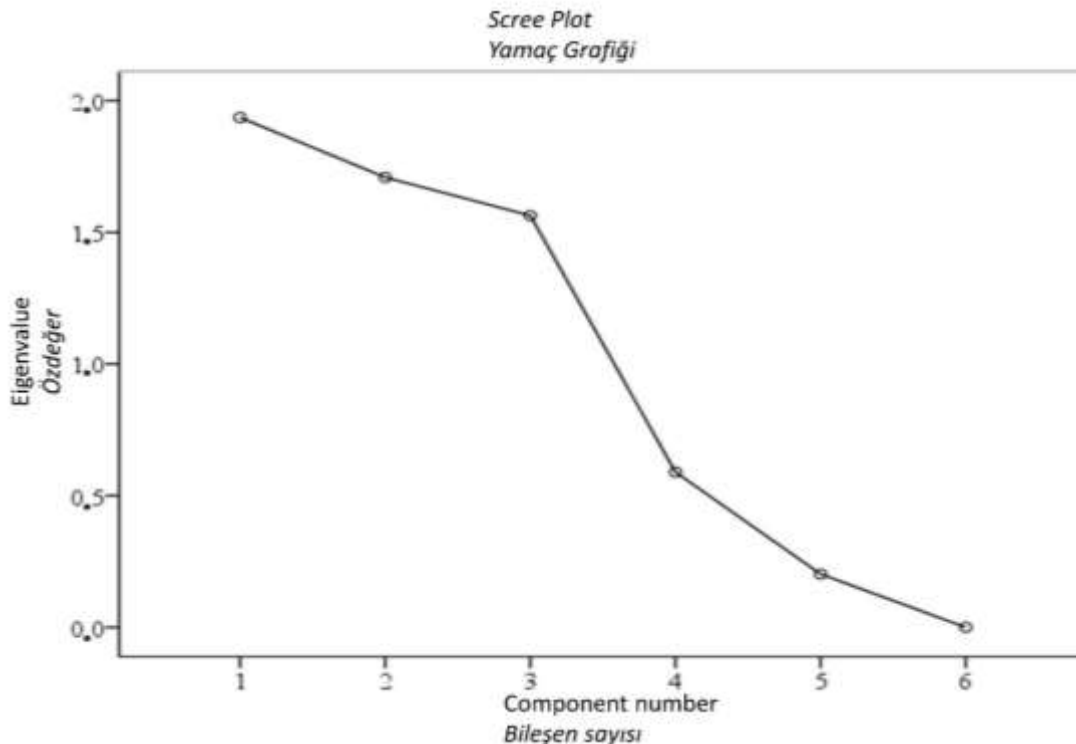


Figure 1. Factorial analyses of raw milk samples
Çizelge 1. Çiğ süt örneklerinin faktör analizi

Table 1. Some Physicochemical Properties of Raw Milk Samples (n: 50)

Tablo 1. Çiğ Süt Örneklerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri (n: 50)

Samples ID Örnek No	NFDM (%)		TDM (%)		pH	TA (LA%) Titrasyon Asitliği (LA%)	Density Yoğunluk	Carbonate Karbonat
	Yağsız Madde (%)	Kuru F (%) Yağ (%)	Toplam Kuru Madde (%)	Kuru				
s1	10.50	4.0	14.50		7.09	0.181	1.031	-
s2	10.00	4.5	14.50		6.71	0.230	1.031	-
s3	9.75	4.2	13.95		6.87	0.202	1.029	-
s4	10.50	3.5	14.00		7.01	0.179	1.031	-
s5	10.5	2.5	13.00		7.03	0.177	1.031	-
s6	9.10	3.5	12.60		6.90	0.194	1.030	-
s7	9.70	5.0	14.70		6.98	0.180	1.030	-
s8	9.30	4.7	14.00		6.85	0.186	1.029	-
s9	8.50	4.5	13.00		6.90	0.181	1.029	-
s10	9.60	4.9	14.50		6.79	0.190	1.028	-
s11	10.10	4.0	14.10		6.53	0.252	1.028	-
s12	9.30	4.1	13.40		7.03	0.178	1.031	-
s13	8.80	4.3	13.10		6.78	0.220	1.032	-
s14	8.30	3.9	12.20		6.86	0.175	1.028	-
s15	9.40	4.5	13.90		6.93	0.186	1.029	-
s16	7.60	4.0	11.60		6.66	0.225	1.029	-
s17	9.00	3.7	12.70		7.04	0.170	1.029	-
s18	8.90	3.9	12.80		6.67	0.216	1.028	-
s19	8.70	4.0	12.70		6.46	0.234	1.031	-
s20	9.30	4.0	13.30		6.50	0.250	1.030	-
s21	8.30	6.8	15.10		6.95	0.179	1.026	-
s22	8.40	4.5	12.90		6.97	0.175	1.031	-
s23	9.23	4.0	13.23		6.96	0.176	1.031	-
s24	8.90	4.4	13.30		6.83	0.160	1.030	-
s25	8.25	4.5	12.75		6.97	0.173	1.030	-
s26	8.70	3.5	12.20		7.01	0.160	1.029	-
s27	9.90	4.0	13.90		6.91	0.178	1.031	-
s28	8.70	3.5	12.20		6.87	0.170	1.031	-
s29	9.90	3.2	13.10		6.94	0.182	1.031	-
s30	9.80	3.5	13.30		7.03	0.133	1.030	-
s31	9.50	4.0	13.50		7.03	0.130	1.031	-
s32	9.90	4.5	14.40		6.94	0.179	1.030	-
s33	9.50	4.2	13.70		7.33	0.121	1.030	-
s34	9.10	3.5	12.60		6.74	0.180	1.030	-
s35	8.60	2.5	11.10		6.95	0.196	1.029	-
s36	9.80	3.5	13.30		6.73	0.190	1.030	-
s37	9.10	3.7	12.80		6.90	0.180	1.027	-
s38	10.00	3.5	13.50		6.66	0.216	1.034	-
s39	10.40	4.0	14.40		6.77	0.200	1.030	-
s40	9.40	1.5	10.90		7.01	0.138	1.032	-
s41	10.30	3.5	13.80		6.91	0.178	1.030	-
s42	9.40	4.0	13.40		6.98	0.170	1.031	-
s43	9.70	3.5	13.20		6.80	0.180	1.030	-
s44	10.30	3.0	13.30		6.73	0.192	1.031	-
s45	9.30	4.0	13.30		6.99	0.231	1.032	-
s46	8.70	4.5	13.20		7.19	0.122	1.030	-
s47	9.40	4.2	13.60		6.80	0.173	1.031	-
s48	8.70	3.5	12.20		6.82	0.180	1.031	-
s49	8.60	2.5	11.10		6.95	0.192	1.029	-
s50	9.40	3.5	12.90		7.03	0.130	1.031	-
MinV	7.60	1.5	10.90		6.46	0.121	1.026	-
MaxV	10.50	6.8	15.10		7.33	0.252	1.034	-
Variance	0.46	0.60	0.84		0.03	0.00	0.00	-
SD	0.68	0.78	0.92		0.17	0.03	0.00	-
SE	0.10	0.11	0.13		0.23	0.00	0.00	-
Mean	9.32	3.89	13.21		6.89	0.183	1.030	-

MinV: Minimum value; MaxV: Maximum value; SD: Standard Deviation; SE: Standard Error; NFDM: Non-Fat Dry Matter, F: Fat, TDM: Total Dry Matter, TA: Titratable Acidity.

Table 2. Data of correlation strength among physiochemical properties
Tablo 2. Fizikokimyasal özellikler arasındaki korelasyon gücünün verileri

	NFDM <i>Yağsız Kuru Madde</i>	F <i>Yağ</i>	TDM <i>Toplam Kuru Madde</i>	pH	TA <i>Titrasyon Asitliği</i>	Density <i>Yoğunluk</i>
NFDM <i>Yağsız Kuru Madde</i>	1					
F (Yağ)	-0.209	1				
TDM <i>Toplam Kuru Madde</i>	0.561**	0.692**	1			
pH	0.035	-0.028	0.002	1		
TA (<i>Titrasyon Asitliği</i>)	0.020	0.094	0.094	-0.792**	1	
Density (<i>Yoğunluk</i>)	0.338*	-0.376**	-0.068	0.049	-0.046	1

**Correlation is significant at the 0.01 level.

*Correlation is significant at the 0.05 level.

and nutritional value for the consumer and yield of the dairy products for producers (Liu et al., 2018). As shown in Table 1, it was determined that percentage of non-fat dry matter of the collected milk samples were between 7.6% and 10.5% and the mean value was 9.32%. Raw milk should be $\geq 8.5\%$ for non-fat dry matter in cow's raw milk in the Communiqué on the supply of raw milk to the final consumer by local retailers (Official Newspaper, 2017). When the results of the analyzes were evaluated according to this communiqué, only 6% (n:3) of the samples were found to be unsuitable. Other samples were found to be above the value in the same communiqué. The percentage of non-fat dry matter of the raw milk samples sold in our country was examined by many researchers and Türkoğlu et al. (2003), Kesenkaş and Akbulut (2010), Akın et al. (2016), Beykaya et al. (2017), Göncü et al. (2017) reported that the percentage of non-fat dry matter of milk samples was 5.70-7.56%, 8.54%, 7.62-9.25%, 7.33-9.80%, and 7.77-8.97%, respectively.

The yield of dairy products depends on the total amount of dry matter. As the dry matter content increases, the yield of the products to be obtained increases as well.. Since the payment system for raw milk in the world is based on total dry matter content, it is very important to examine this parameter economically (Draayier et al., 2009). In the present study, the total dry matter content of the milk samples was determined by collecting fat content and non-fat dry matter. In fact, in the correlation analysis, it was found that the fat and non-fat dry matter contents in milk were related to the total dry matter content. In the light of the data obtained, it was observed that 44% (n:22), 28% (n:14), 8% (n:4), and 20% (n:10) of milk samples had a total dry matter percentage of between 13-14%, 12-13%, below 12% and above 14% above, respectively. Generally, it was determined that milk samples with a high total dry matter had a high-fat content. As stated above, the total dry matter content depends on its components, such as the protein, lactose and fat content. The average total dry matter percentage in the raw milk samples offered for sale in

our country was investigated in many studies and Kavas and Akbulut (1993), Kesenkaş and Akbulut (2010), Akın et al. (2010), Beykaya et al. (2017) and Göncü et al. (2017) reported that the percentage of total dry matter of milk samples was 12.33%, 12.33-13.28%, 10.00-16.90%, and %9.35-12.39, respectively. The results are comparable with the data obtained from the current study and it is thought that the differences seen are due to the factors such as season, nutrition, geographic location, breed and age of animals.

Fat

The fat content is an important milk quality parameter that determines the nutritional value of milk. However, fat is the most variable component in bovine milk. In addition, it is easily separated from milk because it is lower than other milk components. Therefore, the amount of fat can be reduced with milk adulteration. For all these reasons, routine analysis of milk fat is critical (Kucheryavskiy et al., 2014; Zhu et al., 2015). Although the standard on raw milk is repealed according to the Turkish Food Codex Raw Milk Communiqué, it has been stated that the fat content in raw milk should be $\geq 3.4\%$ in Communiqué on the supply of raw milk to the final consumer by local retailers (Official Newspaper, 2017).

In the present study, the fat content of raw milk samples were varied from 1.5%, to 6.8% (Table 1). When raw milk is evaluated by Communiqué on the supply of raw milk to the final consumer by local retailers, it is observed that 12% (n:6) is below 3.4% and is not in compliance with the standard. Beykaya et al. (2017) analyzed the average fat content of raw milk samples in Sivas province as 3.89%, while Kesenkaş and Akbulut (2010) reported that this percentage was about 3.79% in İzmir province. The percentage of fat in milk samples reported in these studies are consistent with the current study data. On the other hand, the fat content of raw milk samples was determined by Sezgin and Koçak (1982) (3.34%),

Sezgin and Bektaş (1988) (3.0%), Kavas and Akbulut (1993) (3.30%) and Türkoğlu et al. (2003) (3.20%) was found to be higher than the values they found. It is predicted that the difference of fat content of raw milk is derived from the factors such as the type and body condition of the cattle, feeding, lactation stage, season and ambient temperature.

On the other hand, we found a positive correlation between total solid and fat content in milk samples. Indeed, Luliana et al. (2014) and Khatun et al. (2018) reported that they had found a strong correlation between fat and total solid contents in milk.

pH and Acidity

Acidity of milk, which is naturally an acidic animal product, is of vital important parameter to determine the milk quality in dairy farms. In the subsequent stages of milk processing, pH also becomes an important component. Examination of both parameters provides information on the total acid concentration in the milk (Isildak and Gones, 2018). As is known, there is a negative correlation between pH and titratable acidity in raw milk (Fava et al., 2014). In fact, the statistical analysis obtained in the present study proves the accuracy of this relationship. Measurement of milk pH is important in tests of impurity, deterioration and mastitis infection symptoms. The pH of fresh milk is about 6.7. When the pH of the milk drops below pH 6.7, it typically shows deterioration by bacterial degradation. An acidic pH in milk is transformed into "sour milk" in which coagulation or curl occurs with its characteristic odor and taste (Kurwijila, 2006). Milk with a pH higher than 6.7 indicates that milk is from cows infected with mastitis. Typically, in milk, a somatic cell count is performed to detect mastitis infection, but a pH measurement is a rapid pathway for infection screening (Anema, 1998). The pH values of the raw milk samples taken in the study are given in Table 1. As shown in the Table 1, the pH values of raw milk samples ranged from 6.46 to 7.33 and found to be 6.89 on average. There is no standard regarding the pH values of raw milk in Turkish Food Codex. With regard to the pH of raw milk in different regions of Turkey, pH values were found to be 4.89-6.70, 6.30-7.00, 6.41-6.63, and 6.37-6.62 by Beykaya et al. (2017), Kesenkaş and Akbulut (2010), Akın et al. (2010), and Göncü et al. (2017), respectively.

In dairy technology, acidity is often expressed and evaluated in terms of lactic acid and SH° (Soxhlet Henkel). As it is known, a multiplication of 0.0225 coefficients is applied in order to convert the SH° degree to lactic acid%. The total acidity values of the raw milk samples examined in the present study were found between 0.120% and 0.252%. Turkish Food Codex "Communiqué on Raw milk and Heat-Treated Drinking Milk" reported that the acidity of the raw

milk should be between 0.125-0.200% in terms of lactic acid (Türk Gıda Kodeksi, 2000). According to the Turkish Food Codex in terms of acidity, 84% (n:42) of the milk samples examined were found to be suitable, and 12% (n:6) were found to have high titratable acidity. 4% (n:2) was found to have low titration acidity. In 6 (12%) of the raw milk samples analyzed, it was observed that the pH was below 6.7. It was observed that there was a harmony between the pH values of the milk samples and the acidity values. Sezgin and Bektaş (1988) reported that 69% of the milk sold in Trabzon, Beykaya et al. (2017) reported that 60% of the milk from dairy farms in Sivas showed a high degree of acidity. In another study, Türkoğlu et al. (2003) stated that the acidity of the milk sold in Sanliurfa ranged from 4.2 to 9.65 SH° and 73.7% of the milk samples examined were in accordance with the values given in the Turkish Food Codex, and 10.5% were below, 10.5% were above these values. On the other hand, Kesenkaş and Akbulut (2010) reported that 2% of the raw milk samples they examined had acidity below 0.135. Titratable acidity in raw milk with related studies conducted in different regions of Turkey, Göncü et al. (2017) and Akın et al. (2010) reported that titration acidity was varied between 0.142-0.258% and 0.164-0.220%, respectively. On the average of raw milk examined by this value, Sezgin and Bektaş (1988) and Türkoğlu et al. (2003) stated that 0.196% and 0.162%, respectively. Although there are some differences between the reported results and the data in the current study, there are some relatively compatible results.

Density

Determining the density of milk is one of the important methods that give insight into the adulteration of milk. Milk density varies with the effect of all substances in its composition. While the density decreases with increasing the amount of fat, raises with increasing protein, lactose and mineral content and/or decreasing fat content. When the correlation analysis was performed on the data obtained from this study, it was observed that there was a negative relationship between fat content and density of raw milk samples. As a matter of fact, as stated in the previous sentence, this shows that the specific gravity of fat in milk is low. Hence, adulteration such as weaning, water and/or starch /sugar addition may lead to a change in density (Luther et al., 2017). It has been stated in Turkish Food Codex "Communiqué on Raw milk and Heat-Treated Drinking Milk" that the density should be between 1.028 and 1.037 g/cm³ (Turkish Food Codex, 2000). In the current study, the specific density of the raw milk samples changed between 1.0260 and 1.0340 g/cm³, with an average of 1.030 g/cm³ (Table 1). It was determined that the density of the milk samples examined was within the range specified in the

legislation. Beykaya et al. (2017), Türkoğlu et al. (2003), Yaylak et al. (2007), Tasci (2011), Diler and Baran (2014) and Göncü et al. (2017) reported that density of raw milk samples was varied between 1.0230-1.0312 g/cm³, 1.0212-1.0401 g/cm³, 1.0278-1.028 g/cm³, 1.016-1.034 g/cm³, 1.0283-1.0291 g/cm³ and 1.0283-1.0323 g/cm³, respectively.

Carbonate Test

NaOH (Caustic soda) is used to milk adulteration to neutralize the acidic effect. Caustic soda containing sodium can cause danger for individuals with hypertension and heart diseases. In addition, caustic soda deprives lysine in the milk, which is essential for the growth of infants. Such a milk adulteration is dangerous for all sections of society, but is more harmful for pregnant women. Addition of carbonate and bicarbonate to milk may cause deterioration of the hormone signals regulating development and reproduction. Carbonates also causes gastrointestinal problems such as stomach ulcers, diarrhea, colon ulcers and electrolyte discomfort (Reddy et al., 2017). As seen in Table 1, carbonate test was found negative in all milk samples examined. This means that the raw milk samples that are sold local dairy delicatessens in Erzurum do not include caustic soda to reduce acidity.

Microbiological Properties of Raw Milk Samples

The results of the microbiological analysis of the samples taken from raw milk offered for sale in Erzurum are given in Table 3.

Intensity of the correlation between analyzed some microbiological parameters in milk samples was found significantly in Table 4. In this study, statistically highly significant correlation ($p < 0.01$) between TAMB and TC and TE in milk samples were established. A positive correlation was found between TE and S-M count ($p < 0.01$). Also, positive correlation between the Y&M and S-M count was established. We detected significant correlation ($p < 0.05$) between number of TE and Y&M.

Total Aerobic Mesophilic Bacteria (TAMB)

The high total bacterial count (10^8 log cfu mL⁻¹) in raw milk can indicate the presence of various pathogenic microorganisms, and it is an important health hazard that the consumption of pasteurized or boiled milk from this milk may cause swallowing of heat-resistant toxins from microorganisms. The high total number of bacteria does not only pose a threat to public health, but is also a source of great concern as it causes regional economic losses. It is accepted that milk with high total bacterial counts is not maintained and stored under hygienic conditions (Millogo et al., 2010; Oliveira et al., 2011).

The lowest, highest and average aerobic mesophilic

bacteria (TAMB) count were 5.00 log cfu mL⁻¹, 8.42 log cfu mL⁻¹ and 6.96 log cfu mL⁻¹, respectively. It has been reported that the total number of aerobic mesophilic bacteria in raw cow's milk should be 100.000 cfm mL⁻¹ in the Turkish Food Codex "Communiqué on Raw milk and Heat-Treated Drinking Milk" (Turkish Food Codex, 2000). This value is 5 when logarithmic transformation is performed. When this value is taken as a base, it is determined that only 1 of the milk samples is suitable for the communiqué and the remaining 49 is above the value specified in the communiqué (Table 3). This situation shows that the bacteriological quality of 98% of the raw milk samples is very bad. This situation indicates the presence of problems related to milking practices, milk transportation and holding. Göncü et al. (2017) reported that the number of TAMB in street milk sold in Şanlıurfa was between 6.06-7.74 log cfu mL⁻¹. According to the results of the same study, it was found that TAMB in all the raw milk samples analyzed was not suitable for the Turkish Food Codex. In this respect, it is compatible with the data of our current study. The analysis performed in raw milk in different parts of Turkey; Kesenkaş and Akbulut (2010), Diler and Baran (2014), and Akın et al. (2010) reported that the TAMB count were 4.2-7.4 log cfu mL⁻¹, 2.8-6.8 log cfu mL⁻¹, and 4.89-7.94 log cfu mL⁻¹, respectively.

The number of TAMBs gives information about the microorganism load of the milk which changes depending on the natural or rough factors. In fact, as given in this study, total coliform and total Enterococcus spp. numbers were correlated with the increase in the number of TAMB. The high number of microorganisms in this group, which is an important hygiene indicator, shows that milk is contaminated in environments where milk is obtained, stored and sold with an increase proportional to the number of TAMBs. Similar findings have been identified by different researchers (Torkar and Teger, 2008; Mohamed et al., 2017).

Total Coliform

Coliforms are defined as microorganisms that are aerobic or facultatively anaerobic, Gram-negative, non-spore-forming rods capable of fermenting lactose with the production of acid and gas at 32-35 °C (Martin et al., 2016). Detection of coliforms plays an important role in the dairy industry because coliforms reflect contamination in milk, soil and water, and poor hygiene practices. Therefore, legal limits have been set by many countries for the presence of coliforms in milk and dairy products. The high coliform number also indicates that contaminated milk by pathogenic bacteria important to public health, such as *Escherichia coli* (Masiello et al., 2016). As show in Table 3, the lowest, highest and average total coliform count were < 2 log cfu/mL⁻¹, 6.48 log cfu/mL⁻¹ and 5.47

Table 3. Microbiological properties of raw milk samples
Tablo 3. Çiğ süt örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri

Samples ID Örnek no	TAMB (Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri)	TC (Toplam Koliform)	TE (Toplam Enterokok)	S-M Stafilokok-Mikrokok	Y&M Maya&Küf
s1	7.91	5.94	6.19	4.91	5.88
s2	8.42	6.48	6.74	4.86	4.70
s3	7.49	5.81	5.94	5.30	5.18
s4	6.25	<2	6.41	5.02	4.78
s5	6.11	<2	6.04	5.02	3.60
s6	7.75	6.26	5.05	4.40	4.89
s7	7.45	6.45	6.13	4.81	5.97
s8	7.41	5.63	6.16	4.30	4.33
s9	7.83	5.68	6.72	4.76	5.20
s10	6.71	5.51	5.51	4.50	4.08
s11	7.40	6.06	6.06	4.32	4.37
s12	5.90	3.88	3.00	3.78	4.10
s13	6.18	4.85	3.48	<2	3.30
s14	7.30	5.84	5.60	3.60	4.08
s15	5.30	4.90	3.00	3.30	3.93
s16	5.11	5.94	5.60	4.60	4.60
s17	6.34	5.81	3.30	3.00	4.60
s18	7.54	6.13	4.98	4.45	5.32
s19	7.90	6.02	6.03	4.04	4.76
s20	7.81	5.52	6.02	3.00	3.70
s21	6.19	4.73	4.30	3.90	3.88
s22	7.65	5.72	6.13	4.46	5.36
s23	7.20	5.38	5.98	4.34	4.28
s24	7.49	5.62	5.98	4.00	5.78
s25	7.83	4.08	5.92	4.30	5.26
s26	6.60	5.26	5.80	4.48	3.85
s27	7.98	5.98	5.68	4.48	4.70
s28	7.18	5.13	6.20	4.48	3.90
s29	7.75	4.32	6.03	3.70	3.81
s30	6.13	5.89	5.66	3.00	5.15
s31	6.60	5.66	4.99	4.00	3.85
s32	6.90	6.00	5.70	5.87	4.48
s33	5.60	6.15	3.30	4.90	4.48
s34	6.90	6.00	5.70	5.87	4.48
s35	6.78	5.66	5.62	4.26	5.20
s36	7.67	5.51	5.72	4.40	4.00
s37	5.00	4.48	4.70	4.28	5.88
s38	6.79	5.56	4.30	4.52	4.00
s39	7.95	4.40	6.23	<2	3.00
s40	8.10	5.11	<2	<2	3.00
s41	6.30	4.00	5.03	3.95	4.60
s42	5.30	<2	<2	3.30	4.48
s43	6.23	4.30	5.48	4.30	5.04
s44	7.59	5.30	4.78	4.60	4.95
s45	8.18	5.73	5.88	4.90	4.85
s46	6.00	5.60	6.23	4.70	4.90
s47	6.30	5.05	5.72	4.00	5.77
s48	7.76	6.41	5.97	4.60	5.53
s49	6.49	5.59	4.30	5.30	5.00
s50	7.56	5.54	5.94	5.18	4.78
MinV	5.00	<2	<2	<2	3.00
MaxV	8.42	6.48	6.74	5.87	5.97
Variance	0.87	1.62	2.53	1.84	0.60
SD	0.93	1.27	1.59	1.36	0.77
SE	0.13	0.21	0.20	0.17	0.10
Mean	6.96	5.47	5.44	4.38	4.59

MinV: Minimum value; MaxV: Maximum value; SD: Standard Deviation; SE: Standard Error; TAMB: Total Aerobic Mesophilic Bacteria, TC: Total Coliform, TE: Total Enterococcus spp., S-M: Staphylococcus/Micrococcus spp., Y&M: Yeast and Mold

Table 4. Data of correlation strength among microbiological properties
 Tablo 4. Mikrobiyolojik özellikler arasındaki korelasyon gücünün verileri

	TAMB <i>Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri</i>	TC <i>Toplam Koliform</i>	TE <i>Toplam Enterokok</i>	S-M <i>Stafilokok-Mikrokok</i>	Y&M <i>Maya&Küf</i>
TAMB <i>Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri</i>	1				
TC <i>Toplam Koliform</i>	0.404**	1			
TE <i>Toplam Enterokok</i>	0.409**	0.272	1		
S-M <i>Stafilokok-Mikrokok</i>	-0.004	0.111	0.472**	1	
Y&M <i>Maya&Küf</i>	0.046	0.229	0.324*	0.537**	1

**Correlation is significant at the 0.01 level.

*Correlation is significant at the 0.05 level.

log cfu/mL⁻¹. The coliform count, which are seen as general hygiene indicator in obtaining raw milk and found in our present study, reinforce the existence of problems related to non-hygienic milking and unsuitable milk holding practices in Erzurum. In studies conducted in order to reveal the microbiological quality of the raw milk samples which are offered for sale in different provinces, the count of coliforms was reported as 0.75-6.0 log cfu/mL⁻¹, 4.31-6.21 log cfu/mL⁻¹, 3.03 log cfu/mL⁻¹ by Kesenkaş and Akbulut (2010), Göncü et al. (2017) and Diler and Baran (2014), respectively.

Enterococcus spp.

The bacteria of the genus *Enterococcus spp.*, also known as enterococci, constitute an important part of environmental, food and clinical microbiology. Depending on the strain, they are considered as indicator, distortion or potentially pathogenic organisms. They contaminate the milk and milk products via water, equipment, unhealthy and unhygienic production conditions. They are blamed as direct or indirect disease agents caused by milk and dairy products (Garg et al., 1991). On the other hand, some types of *Enterococcus spp.* are also known for their probiotic roles as they contribute to human digestibility (Franz et al., 2003). Because they are of faecal origin, their presence in milk is seen as an indicator for hygiene practices. As seen in Table 3, the total number of *Enterococcus spp.* in raw milk samples was <2 log cfu/mL⁻¹, 6.00 log cfu/mL⁻¹ and 5.44 log cfu/mL⁻¹. 42% of the raw milk samples had a total *Enterococcus spp.* number between 5.76-6.68 log cfu/mL⁻¹.

The correlation of the number of coliforms and *Enterococcus spp.* with total bacterial count was understandable, they represented a part of the total bacterial count, because a lot of coliform and *Enterococcus spp.* bacteria are capable to growth at

low temperatures (Torkar and Teger, 2008). *Enterococcus spp.* are resistant to heat stress and have a good specific competitiveness in environment with complex microflora, hence, they can easily adapt to the hot climate prevailing in the regions from where most of our samples were taken. Foschino et al. (2002) report that *Enterococcus spp.* did not correlate with any variable their investigated. For this reason, they emphasised that finding of *Enterococcus spp.* does not appear to be associated directly with faecal contamination or poor hygiene. On the contrary our results showed that there was the relation between total *Enterococcus spp.* and *Staphylococcus/Micrococcus spp.* or yeast and mold number. These results suggest that *Enterococcus spp.* would be faecal contamination in this study.

Tasci (2011) reported that the lowest, highest and average total number of *Enterococcus spp.* was found to be <10² cfu/mL⁻¹, 6.6x10⁶ cfu/mL⁻¹ and 3.2x10⁴ cfu/mL⁻¹ in the raw milk samples in Burdur province. When the logarithmic transformation is made, it is seen that the data obtained in this study is lower than the data obtained in the current study.

Staphylococcus/Micrococcus spp.

Staphylococcus species, which is a member of Micrococcaceae family, are Gram positive, 0.5-1.5 µm diameter cove-shaped, non-spore forming, non-motile, catalase positive, facultative anaerobic bacteria. There are 28 species and 32 subspecies in this genus. *Staphylococci* contamination is particularly alarming given the fact that many isolates can produce thermostable enterotoxin and consequently cause food-borne intoxication in consumers. The presence of *Staphylococcus aureus*, the most important member of this group, in raw milk is usually due to cow mastitis, handler or insufficient hygiene. When found in milk, it can quickly reach a high number under favorable conditions (de Oliveira et al., 2011). In view of this

situation, according to the Turkish Food Codex “Communiqué on Raw milk and Heat-Treated Drinking Milk”, the number of *Staphylococcus aureus* should be maximum 5.0×10^2 cfu/mL⁻¹ in 2 and 1.00×10^2 cfu/mL⁻¹ in 3 of the raw milk samples (Türk Gıda Kodeksi, 2000).

As seen in Table 3, the total number of *Staphylococcus/Micrococcus* spp. in raw milk samples was <2 log cfu/mL⁻¹, 5.87 log cfu/mL⁻¹ and 4.38 log cfu/mL⁻¹, respectively. Overall, 60% of the raw milk samples had *Staphylococcus/Micrococcus* spp. number between 3.60 and 4.80 log cfu/mL⁻¹. Kesenkaş and Akbulut (2010) reported that almost all of the raw milk samples examined had values between 3.0 and 5.4 log cfu/mL⁻¹. In another study, Tasci (2011) reported that lowest, highest and average number of *Staphylococcus/Micrococcus* spp. was <2 cfu/mL⁻¹, 1.3×10^6 cfu/mL⁻¹, and 2.45×10^4 cfu/mL⁻¹, respectively in the raw milk samples in Burdur province. Diler and Baran (2014) reported that the number of *Staphylococcus/Micrococcus* spp. in their raw milk samples was 3.7 log cfu/mL⁻¹. The data obtained in the aforementioned studies are seen to be lower than those of current study.

We also found *Staphylococcus/Micrococcus* spp. had a positive correlation with yeast and mold number suggesting that there is necessarily exist a relationship between the *Staphylococci* and yeast in heavily contaminated milk.

Yeast and Mold

Milk provides all the nutrients and conditions necessary for growth, because raw milk is often considered an ideal growth medium for microorganisms, including many fungal species. Microscopic fungus formation in raw milk can occur during milking, transport, storage and other pretreatment activities; it is also affected by the physiological state of the animal, air and reproductive conditions. These microorganisms may pose a risk of deterioration in raw milk as well as the risk of public health due to mycotoxins which are secondary metabolites of fungus (Engin et al, 2009). However, there is no information on the number of yeast-molds required to be present in raw milk in the Turkish Food Codex.

The lowest, highest and average yeast-mold numbers of the raw milk samples were found to be 3.00 log cfu/mL⁻¹, 5.97 log cfu/mL⁻¹ and 4.59 log cfu/mL⁻¹, respectively (Table 3). In 18 samples (36%), yeast mold-number was determined to be between 4.38 - 5.07 log cfu/mL⁻¹. The high number of yeast-molds determined indicates that the milk does not comply with the hygiene and sanitation rules during the milking stages and conditions. Similarly, Engin et al. (2009), Kesenkaş and Akbulut (2010), Göncü et al. (2017), and Beykaya et al. (2017) reported that the

number of yeast mold in raw milk samples was 4.14 - 5.96 log cfu/mL⁻¹, 0.60 - 5.40 log cfu/mL⁻¹, 3.89 - 6.33 log cfu/mL⁻¹, <1 - 9.6×10^6 cfu/mL⁻¹

CONCLUSION

The highest value in the production of agricultural products in Turkey belongs to raw milk for last 10 years. In 2013, the production of raw milk in the agricultural production valued of 190 billion Turkish liras (TL) in Turkey. When only these values are considered, it will be seen that the milk and dairy products sector is a very important sub-sector in terms of the added value provides to the country's economy and the realization of rural development. In spite of all these reasons, small and scattered dairy farms and low quality of milk cause problems in domestic and foreign trade of milk. Milk enterprises should be safeguarded both in terms of market conditions and global realities, as well as their competitiveness in terms of public health. To this end, it is also necessary to fulfill the closing criteria of the “Food Safety, Veterinary and Phytosanitary” chapter, which is still open for negotiations with the EU. For this reason, rather than supporting the enterprises in different ways, the necessary improvements should be made in agriculture and livestock sectors which are the raw material source of the sector and milk supply should be provided as safe raw materials.

Although the physicochemical parameters of 50 milk samples collected from the Erzurum region examined in this study show that they are suitable in terms of quality, microbial analysis shows that their quality is not sufficient and a significant portion of them do not comply with the Turkish Food Codex.

We also notice a very significant positive correlation index between NFD and fat content in relationship with TDM. Density is significantly negatively correlated with the fat content. As expected, a negative correlation was found between pH and TA (LA%). Similar correlations have been observed in some microbiological parameters and the increase in the number of TAMBs together with microorganisms known as hygiene indicators have shown that raw milk is contaminated at any stage of production.

The quality and composition of raw cow milk depends on the changing physico-chemical parameters of small, medium or large-scale farms. It is also influenced by various factors such as breed, feed intake, dietary patterns, milking incidence, milking process, seasonal changes, lactation time and adulteration. On the other hand, the high level of microbial loads in the raw milk provided by the farmers in the dairy industry under unhygienic conditions reduces the milk quality. Considering all these factors, the following should be done to improve the qualities of raw milk offered for sale in our province:

- Controls carried out by authorized units regarding the supply of raw milk should be made frequent and continuous.
- An effective control mechanism should be established and the milk coming from local farms should be recorded.
- The effects of possible damages on the individual and therefore on public health of raw milk reaching the consumer from the producer in unhealthy conditions should be explained by using non-formal education facilities. In this regard, universities, the media, the relevant ministries should work in coordination and provide awareness to the individuals and/or enterprises responsible for the primary processes until they reach the consumer.
- In order to increase the consumption of healthy and safe milk, national campaigns should be initiated and all groups, especially the younger generation, should be involved in this campaign.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Akın MS, Yapık Ö, Akın, MB 2016. Adıyaman ilinde süt üretim çiftliklerinden ve toplayıcılardan sağlanan sütlerin bazı özellikleri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 20(4): 253-265.
- Anema SG 1998. Effect of milk concentration on heat-induced, pH-dependent dissociation of casein from micelles in reconstituted skim milk at temperatures between 20 and 120 C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(6): 2299-2305.
- Armas LA, Frye CP, Heaney RP 2016. Effect of Cow's Milk on Human Health. (Beverage Impacts on Health and Nutrition, Springer, Switzerland: Ed. Wilson T, Temple Norman J) 131-150.
- Asfidoajani FA, Sichani MM 2018. Comparison of Coliform Contamination and Endotoxin Levels in Raw Cow's Milk. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 20(5): e59333.
- Beykaya M, Özbey A, Yıldırım Z 2017. Determination of physical, chemical and microbiological properties of milk from some dairy plants in Sivas Province. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5(4): 388-396.
- Chardon J, Swart A 2016. Food consumption and handling survey for quantitative microbiological consumer phase risk assessments. *Journal of Food Protection*, 79(7): 1221-1233.
- de Oliveira LP, Silva V, Cirqueira M 2011. Study of *Staphylococcus aureus* in raw and pasteurized milk consumed in the Reconcavo area of the State of Bahia, Brazil. *Journal of Food Processing and Technology*, 2(6): 2-6.
- Diler A, Baran A 2014. Erzurum'un Hınıs ilçesi çevresindeki küçük ölçekli işletme tank sütlerinden alınan çiğ süt örneklerinin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Alınları Zirai Bilimler Dergisi*, 26(1): 18-24.
- Draaiyer J, Dugdill B, Bennett A, Mounsey J 2009. Milk testing and payment systems. Resource book: a practical guide to assist milk producer groups. Milk testing and payment systems. Resource book: a practical guide to assist milk producer groups.
- Engin B, Güneser O, Yüceer YK 2009. Ultraviyole ışınlarının sütün mikrobiyel özellikleri üzerine etkisi. *GIDA/The Journal of Food*, 34(5): 303-308.
- Fava LW, Kulkamp-Guerreiro IC, Pinto AT 2014. Evaluation of physico-chemical characteristics of fresh, refrigerated and frozen Lacaune ewes' milk. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 66: 1924-1930.
- Franz CM, Stiles ME, Schleifer KH, Holzapfel WH 2003. Enterococci in foods--a conundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2-3): 105-122.
- Garg SK, Mital BK 1991. Enterococci in milk and milk products. *Critical Reviews in Microbiology*, 18(1): 15-45.
- Graham K, Rea R, Simpson P, Stack H 2017. Development of a rapid, one-step screening method for the isolation of presumptive proteolytic enterococci. *Journal of Microbiological Methods*, 132: 99-105.
- Göncü BG, Çelikel A, Akın MB, Akın MS 2017. Şanlıurfa'da satışa sunulan sokak sütlerinin bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Harran Üniversitesi Mühendislik Dergisi*, 2(2): 15-23
- Gulbe G, Valdovska A 2014. Diversity of microscopic fungi in the raw milk from Latvian organic farms. *Proceedings of the Latvia University of Agriculture*, 31(1): 46-53.
- Isildak I, Gones AG 2018. Simultaneous SIA analysis of pH and total acidity measurements in milk. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(1): 403-411.
- Kavas G, Akbulut N 1993. İzmir ilinde satılan sokak sütlerinin fiziksel-kimyasal özellikleri üzerinde bir araştırma. *EÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30(1-2): 81-88.
- Kesenkaş H, Akbulut N 2010. İzmir ilinde satılan sokak sütleri ile orta ve büyük ölçekli çiftliklerde üretilen sütlerin özelliklerinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 47(2): 161-169.
- Khatun MA, Roy BK, Hossain A, Rahman A, Munshi K, Islam M, Hossain A, Bhuiya MAI, Rahman M, Huque R 2018. Biochemical and Microbial Quality Attributes of Cow's Milk in Respect to Regional Discrimination in Bangladesh. *Archives of Current*

- Research International, 12(4): 1-12.
- Kucheryavskiy S, Melenteva A, Bogomolov A 2014. Determination of fat and total protein content in milk using conventional digital imaging. *Talanta*, 121: 144-152.
- Kurwijila LR 2006. Hygienic milk handling, processing and marketing: reference guide for training and certification of small-scale milk traders in Eastern Africa. Regal Press Kenya Limited, Nairobi, Kenya.
- Kuzeydoğu Anadolu Kalkınma Ajansı (KUDAKA) 2013. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Süt Ve Süt Ürünleri Sektörü. https://www.kudaka.org.tr/ekler/907ac-kuzeydogu_anadolu_bolgesi_sut_ve_sut_urunleri_sektoru.pdf (Accessed date: 10/02/2019)
- Liu Q, Guo W, He H, Zhu X 2018. Effect of solids-not-fat content on dielectric properties of skim milk. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(11): 2560-2566.
- Luliana G, Gabriel G, Mimi D, Gabriel C 2014. Determination of relationships between milk composition and cheese yield using principal component analysis and logit model. *Bulletin UASVM Veterinary Medicine*, 71(1): 62-65.
- Luther Jamie L, Henry de Frahan V, Lieberman M 2017. Paper test card for detection of adulterated milk. *Analytical Methods*, 9(38): 5674-5683.
- Martin NH, Trmčić A, Hsieh TH, Boor KJ, Wiedmann M 2016. The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Frontiers in Microbiology*, 7(1549): eCollection 2016.
- Masiello SN, Martin NH, Trmčić A, Wiedmann M, Boor KJ 2016. Identification and characterization of psychrotolerant coliform bacteria isolated from pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy Science*, 99(1): 130-140.
- Metin M, Öztürk GF 2010. Süt ve mamülleri analiz yöntemleri: (duyusal, fiziksel ve kimyasal analizler). Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, Türkiye.
- Millogo V, Svennersten Sjaunja K, Ouédraogo GA, Agenäs S 2010. Raw milk hygiene at farms, processing units and local markets in Burkina Faso. *Food Control*, 21(7): 1070-1074.
- Mohamed AF, Fourreh AE, Okieh AA, Said CN, Mérito A 2017. Evaluation of Microbiological Quality of Raw Milk from Farmers and Dairy Producers in Six Districts of Djibouti. *Journal of Food Microbiology Safety and Hygiene*, 2, 124.
- Motato KE, Milani C, Ventura M, Valencia FE, Ruas-Madiedo P, Delgado SA 2017. Bacterial diversity of the Colombian fermented milk "Suero Costeño" assessed by culturing and high-throughput sequencing and DGGE analysis of 16S rRNA gene amplicons. *Food Microbiology*, 68: 129-136.
- Oliveira CJB, Hisrich ER, Moura JFP, Givisiez PEN, Costa RG, Gebreyes WA 2011. On farm risk factors associated with goat milk quality in Northeast Brazil. *Small Ruminant Research*, 98(1): 64-69.
- Park YW, Albenzio M, Sevi A, Haenlein GF 2013. Milk Quality Standards and Controls. (Milk and dairy products in human nutrition: production, composition and health, John Wiley & Sons, USA: Ed. Park YW, Haenlein GF) 261-287.
- Reddy DM, Venkatesh K, Reddy CVS 2017. Adulteration of milk and its detection: a review. *International Journal of Chemical Studies*, 5(4): 613-617.
- Sezgin E, Koçak C 1982. Ankara'da satılan sokak sütlerinin bazı nitelikleri üzerinde araştırmalar. *Gıda/The Journal of Food*, 7(6): 281-287.
- Sezgin E, Bektaş S 1988. Trabzon'da satılan sokak sütlerinin bazı nitelikleri üzerinde araştırmalar. *Gıda/The Journal of Food*, 13(6): 399-408.
- Singhal S, Baker RD, Baker SS 2017. A Comparison of the Nutritional Value of Cow's Milk and Nondairy Beverages. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 64(5): 799-805.
- Spreer E 2017. Milk and dairy product technology. Routledge, UK, p59.
- Tasci F 2011. Microbiological and chemical properties of raw milk consumed in Burdur. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(5): 635-641.
- TC Resmi Gazete 2017. Çiğ Sütün Arzına Dair Tebliğ. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/04/20170427-2.htm> (Accessed date: 10/12/2018)
- Türk Gıda Kodeksi 2000. Çiğ süt ve ısıl işlem görmüş içme sütleri tebliği. Resmi Gazete, 14(23964). <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2019/02/20190227-5.htm> (Accessed date: 21/12/2018)
- Türkoğlu H, Atasoy F, Özer B 2003. Şanlıurfa ilinde üretilen ve satışa sunulan süt, yoğurt ve urfa peynirlerinin bazı kimyasal özellikleri. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 7(3-4): 69-76.
- Torkar KG and Teger SG 2008. The microbiological quality of raw milk after introducing the two day's milk collecting system. *Acta Agriculturae Slovenica*, 92(1): 61-74.
- Ullah R, Khan S, Ali H, Bilal M, Saleem M 2017. Identification of cow and buffalo milk based on Beta carotene and vitamin-A concentration using fluorescence spectroscopy. *PLOS ONE*, 12(5): e0178055.
- Ulusal Süt Konseyi (USK) 2019. Türkiye Süt Sektör İstatistikleri Özet Raporu. <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/turkiye-sut-sektor-istatistikleri-ozet-raporu-2450/> (Accessed date: 10/02/2019)
- Walcher G, Gonano M, Kummel J, Barker GC, Bereuter O, Ehling-Schulz M, Wagner M, Stessl B 2014. Staphylococcus aureus reservoirs during traditional Austrian raw milk cheese production. *The Journal of Dairy Research*, 81(4): 462-470.
- Yaylak E, Alçıçek A, Konca Y, Uysal H 2007. İzmir ilçelerinde mandıralarca kış aylarında toplanan

- sütlerde bazı besin madde ve fiziksel özelliklere ait değişimlerin saptanması. Hayvansal Üretim, 48(1): 26-32.
- Zeng X, Xia W, Jiang Q, Yang F 2013. Effect of autochthonous starter cultures on microbiological and physico-chemical characteristics of Suan yu, a traditional Chinese low salt fermented fish. Food Control, 33(2): 344-351.
- Zhu X, Guo W, Liang Z 2015. Determination of the fat content in cow's milk based on dielectric properties. Food and Bioprocess Technology, 8(7): 1485-1494.



The Effects of Using Different Levels of Calcium Carbonate (CaCO₃) on Growth, Survival, Molting Frequency and Body Composition of Freshwater Crayfish Juvenile, *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)

Yavuz MAZLUM^{1*}, Sinem ŞİRİN²

Faculty of Marine Science and Technology, Iskenderun Technical University, Iskenderun, Turkey

¹ <https://orcid.org/0000-0003-0468-7295>, ² <https://orcid.org/0000-0002-9547-0966>

✉: yavuz.mazlum@iste.edu.tr

ABSTRACT

The present study was conducted to determine different calcium carbonate (CaCO₃) level effects on growth, survival, molting frequency and body composition of freshwater crayfish juvenile, *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). Initial mean weight and length juvenile crayfish were measured to be 0.53±0.01 g and 22.0±0.05 mm, respectively. Crayfish were stocked randomly in twelve aquariums in area of 0.2 m² at the rate of 50 crayfish/m². The different level of CaCO₃ was added into a commercial trout diet (Control), 3%, 6% and 12% for feeding the juvenile crayfish. After 90-day study, supplementation of CaCO₃ significantly (P<0.05) did affect growth rate, specific growth rate, feed intake, molting frequency, biomass, but reduced survival of crayfish at level of 6% diet as compared to the other groups. The proximate composition of tail meat of crayfish was unaffected by the diet. These results indicated that the calcium carbonate addition is required for crayfish. At the end of the experiment, 6% of calcium carbonate was suggested to be used in formulated diets for crayfish juvenile.

Research Article

Article History

Received : 03.09.2019

Accepted : 28.11.2019

Keywords

Pontastacus leptodactylus

Calcium carbonate

Freshwater crayfish

Growth

Survival

Farklı Seviyelerde Kalsiyum Karbonat (CaCO₃) Kullanımının Yavru Tatlısu İstakozu *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)'lerinin Büyümesi, Hayatta Kalması, Kabuk Değişimi ve Vücut Kompozisyonları Üzerine Etkileri

ÖZET

Bu çalışmada, farklı seviyelerde kalsiyum karbonat kullanımının yavru tatlısu istakozu *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)'lerinin büyümesi, hayatta kalması, kabuk değişimi ve vücut kompozisyonları üzerine etkileri incelenmiştir. *P. leptodactylus* yavrularının başlangıç ortalama ağırlıkları ve uzunlukları sırasıyla 0,53±0,01 g ve 22,0±0,05 mm olarak hesaplanmıştır. Kerevitler, rastgele metrekareye 50 adet 0,2 m² alana sahip on iki akvaryuma stoklanmıştır. Yavru kerevitleri beslemek için farklı seviyelerde CaCO₃ ticari alabalık yemine (Kontrol), % 3, % 6 ve % 12 olacak şekilde ilave edilmiştir. 90 günlük çalışmadan sonra, yemlere %6 oranında CaCO₃'ün ilave edilmesi diğer gruplarla kıyaslandığında, büyüme hızını, spesifik büyüme hızını, yem alımını, kabuk değişim sıklığını, biyoması önemli ölçüde (P<0.05) etkilemiş, ancak kerevitlerin hayatta kalma oranını azalttığını göstermiştir. Kerevitlerin kuyruk etinden alınan örnekler sonucunda, protein, yağ, nem ve kül içeriklerinin muamele grupları arasında istatistiki olarak farklı olmadığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar, diyet kalsiyum karbonat takviyesinin kerevit için gerekli olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, deneyin sonunda tatlı su istakoz yavruları için formüle edilmiş diyetlerde % 6 kalsiyum karbonat kullanılması önerilir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 03.09.2019

Kabul Tarihi : 28.11.2019

Anahtar Kelimeler

Pontastacus leptodactylus

Kalsiyum karbonat

Tatlısu istakozu

Büyüme

Hayatta kalma

To Cite : Mazlum Y, Şirin S 2020. Farklı Seviyelerde Kalsiyum Karbonat (CaCO₃) Kullanımının Yavru Tatlısu İstakozu *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)'lerinin Büyümesi, Hayatta Kalması, Kabuk Değişimi ve Vücut Kompozisyonları Üzerine Etkileri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 23 (2): 506-514. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.614826

INTRODUCTION

Astacid crayfish have a wide distribution and production potential in Europe. *Astacus leptodactylus* is naturally found in our country and in Europe and is of commercial importance (Mazlum and Yılmaz, 2012). Recent studies have reported that this species is genetically named *Pontastacus leptodactylus* (Akhan et al., 2014; Crandall and De Grave, 2017). *P. leptodactylus* is a cold water species like other European crayfish. Crayfish has played a significant role as export products in Turkey until 1984.

After 1986, however, the production of crayfish decreased significantly from 5000 tons to 200 tons in most lakes and dams reservoirs due to crayfish plague *Aphanomyces astaci* Schikora, 1903, and through overhunting, agricultural irrigation and water pollution. In 2016, the amount of crayfish production decreased to 544 tons (TUIK, 2017). Although plague is still observed in some lakes in Turkey, additional stocks in natural lakes or dams did not an increase in the amount of *P. leptodactylus* (Diler and Bolat, 2001). The total amount of crayfish obtained by hunting was about 1030, 609.6 and 544 tons for 2010, 2011, and in 2016, respectively (TUIK, 2017). When the fluctuations in crayfish production are examined in recent years, it is obvious that the amount of crayfish production continues to decrease. Until now, there were no crayfish aquaculture production facilities in Turkey (Mazlum, 2007). However, in 2015, crayfish hatchery was built in Egirdir Institute which is the first and only closed recirculating system. In Turkey crayfish production is based on only hunting, it is not implemented any alternative methods to increase its production. However, the different strategies such as monoculture and rotational systems were used in the world to increase crayfish production (Mazlum and Yılmaz, 2012).

Crayfish are invertebrates and have polytrophic feeding habits. Crayfish are classified as herbivorous, detritivorous, omnivorous and sometimes mandatory carnivores (Momot, 1995; Correia, 2003; Nystrom, 2002; Mazlum and Yılmaz, 2012). They are capable of living in many habitats in terms of physiological, morphological and behavioral characteristics. Crayfish are abundant and predominantly found among all invertebrates. This organism play an important role in the freshwater food chain by feeding on the residues and detritus of thousands of animals, from living and rotten plants, cereals, algae and vertebrates to smaller vertebrates such as small fish species (Matsuzaki et al., 2009; Lodge et al., 2012; Twardochleb et al., 2013). Cannibalism is one of the most important problems in its culture. As the exoskeleton in crayfish normally limits growth, crayfish must molt and throw an outer shell to grow.

Crayfish are immobile and vulnerable during shell changes. While crayfish prepare for shell change, they stop feeding and decrease their activity (Romano and Zeng, 2017; Marshall et al., 2005; Reynolds, 2002).

In aquatic organisms, calcium (Ca) is considered one of the most important minerals (Liang et al., 2018) and is required for normal growth, skeletal development and various physiological processes in aquatic species (NRC, 2011; Lall, 2002). The main sources of calcium in crustaceans and crayfish are water and nutrients containing ionic calcium in water (Zanotto and Wheatly, 2002; Hessen et al., 1991). Therefore, calcium is a critical macro element for crusted ecophysiological activities (Roy et al., 2009; Tavabe et al., 2013). All aquatic organisms require inorganic elements or minerals for their normal life processes (Chanda et al., 2015). Calcium is the primary inorganic component present in the shell and exoskeleton of crayfish (Luquet et al., 2016; Greenaway, 1993). Calcium concentrations vary commonly in aquatic ecosystems (Greenaway, 1993). That is, low calcium concentrations can limit growth and production (Hessen et al., 1991). Therefore, adequate calcium is required after each shell change (Rukke, 2002). Incomplete calcification reasons elongated soft external skeletons, and then freshwater crustaceans cause carnivore organisms (Stein, 1977), cannibalism (Dick, 1995) and external injuries (France, 1987). For example, the outer skeleton of red swamp crayfish, *P. clarkii*, contains 25 to 30% calcium. They need calcium every 7 to 10 days to change the shell of the crayfish. Therefore, calcification of the exoskeleton is necessary for all crustaceans. Crayfish and other crustaceans can use ionic calcium during mineralization of the new exoskeleton by obtaining water or body reserves at the time of shell change. The storage sites of calcium that can be used in the early stages of the mineralization of the new exoskeleton include gastroliths (gastric stones) and the midgut gland (hepatopancreas). Adequate calcium in water or diet will prevent both cannibalism and injury of crayfish. The use of calcium carbonate in the diet of *P. leptodactylus* is important not only for growth but also for the molting frequency and survival.

Therefore, in this study, we determined the effects of the use of different calcium carbonate (CaCO₃) levels in diets on the growth, survival, molting frequency and body composition of freshwater crayfish.

MATERIAL and METHOD

Ovigerous female *P. leptodactylus* were obtained natural crayfish stocks from Seydişehir Suğla Dam and in Konya. Freshwater crayfish were placed in the box and transferred to the Aquaculture Research Facilities at Mustafa Kemal University where

spawning took place. The crayfish were kept in circular fiberglass tanks provided with shelter (onion sacks and pieces of polyvinyl chloride pipe), and well-aerated water was used in the flow-through system. Crayfish were fed with commercial trout diet to develop and shed eggs.

In this experiment, 12 aquariums with dimensions of 80 x 40 x 25 cm (length x width x height) and 0.2 m² surface area were used. The bottom of each tank was provided plastic pipes of different diameters and mesh pieces for shelter. The temperature of the water used in the experiment was sustained 13.9-24.3°C, the oxygen content was between 4.3-7.8 mg /l and salinity was determined as 1%. During the experiment, water temperature (°C) and dissolved oxygen content (mg / l) in water were measured daily (08:00) daily using YSI 55 model oxygen meter. pH (YSI 60 model pH meter) values were measured weekly. Nitrite, nitrate, and ammonia was measured monthly and samples was read on the spectrophotometer in the central laboratory. Water salinity (YSI 85 model salinometer) was measured monthly.

The mean length and weight of juvenile crayfish were measured (22.0 ± 0.05 mm length and 0.53 ± 0.01 g) and randomly stocked into twelve aquariums without statistical difference with a stock density of 50 pieces / m² crayfish. Diets were prepared by adding control (0%), 3%, 6% and 12% CaCO₃ based on a commercial trout larvae diet containing 55% protein and 12%

lipid. Each diet group was planned to consist of 3 replications. Different levels of CaCO₃ were blended in a food processor for homogeneous mixing and then adequate water was added to the mixture to form a soft dough. The dough was passed through a mincing machine with a pellet mold of 2 mm diameter. The pellets were air-dried at 40 ° C in an oven and stored at 4 ° C during the experiment. Crayfish were fed two times a day at a rate of 5% of the bodyweight for 90 days.

The experiment was conducted for 90 days and the growth, survival, molting frequency and feed conversion ratio were evaluated for each treatment group on the 30th, 60th and 90th days of the experiment. In each measurement, the crayfish in the aquarium were counted and their length and weight were measured. The length of the crayfish were measured with a 0.1 mm from the tip of the rostrum to the tip of the telson. The weight of the crayfish was measured by means of digital scales with a sensitivity of 0.01 g.

At the end of the study, biological parameters used to estimate growth, survival, molting frequency and feed conversion rate (FCR) were calculated as follows: In the study as growth parameters;

Growth was calculated at 30-day intervals over the 90-day study period. At the end of the growth trial, crayfish were counted and weighed. Average growth per day or specific growth rate (SGR) was calculated using the formula:

$$\text{Survival rate (SR)(\%)} = \frac{\text{Total number of crayfish harvested}}{\text{Total number of fish stocked}} \times 100$$

$$\text{Feed conversion ratio (FCR)} = \frac{\text{Quantity of feed supplied (g)}}{\text{crayfish yield (g)}}$$

$$\text{Harvest rate (HR) (g)} = \frac{(\text{Harvest weight (g)} - \text{Stocked weight (g)})}{\text{Rearing (90 days)}}$$

$$\text{Specific growth rate (SGR)} = \frac{(\ln \text{ final mass} - \ln \text{ initial mass})}{\text{Rearing (90 days)}} \times 100$$

$$\text{Daily growth rate (DGR)(g/crayfish/day)} = \frac{(\text{average final mass(g)} - \text{average stock mass(g)})}{\text{Rearing (90 days)}}$$

$$\text{Molting frequency (MF)} = \frac{(\text{Number of molt})}{\text{total crayfish}} \times 100$$

At the end of the experiment, all crayfish collected and weight. Subsamples (n=12 crayfish) were taken and kept for analysis of crude protein, crude lipid, moisture, and crude ash. The final length, SGR, FCR, molting frequency, survival rate, moisture content and proximate composition of *P. leptodactylus* were statistically analyzed with one-way analysis of variance (ANOVA) to determine significant differences among the dietary treatments by using the SPSS software (Version 16.0; SPSS; Chicago, IL,

USA). A post hoc Duncan's multiple range test was used to determine the differences among the treatments. Differences were considered significant at the 95% confidence level (P<0.05). All means were presented with ± standard deviation (SD).

RESULTS

After a 90-day study, the effects of calcium carbonate (CaCO₃) levels on the growth, survival, molting frequency and body composition of juvenile

freshwater crayfish *P. leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) were determined. Water quality parameter values used in the experiment were found to be acceptable for crayfish culture (Köksal, 1988; Mazlum, 2007). No statistical differences were observed in the mean water temperature, dissolved oxygen, pH and NO₃-N (P>0.05). The temperature of the water used during the experiment was averaged 19.9 °C (19.77-20.30°C) and the dissolved oxygen level varied between 4.8-8.6 mg / l depending on the water temperature during the 90-day experimental period. As a result of the weekly measurements, it was observed that the pH value was changed between

8.61-8.68, while the (NO₃-N) averaged 0.017mg/l, and ammonia averaged 0.06 mg/l during the experiment.

Average final wet weight of the freshwater crayfish fed with calcium carbonate was between 1.20 ± 0.21–2.47 ± 0.65 g and average length measurements were 33.3 ± 0.81–44.7 ± 1.31 mm. we observed that there was significant differences between in length and weight in the experimental groups. The average final length and weight fed with 6% calcium carbonate group was found to be different than the other groups (P <0.05) (Table 1). At the end of the experiment, the best growth (weight and length) was achieved in the group fed with 6% calcium carbonate.

Table 1. Mean ± SD values of some growth parameters of *P. leptodactylus* during the experiment period of 90 days.

Çizelge 1. 90 günlük deneme süresi boyunca *P. leptodactylus*'un bazı büyüme parametrelerinin ortalama ± standart sapma değerleri.

Growth parameters	Treatments			
	Control	3% CaCO ₃	6% CaCO ₃	12% CaCO ₃
Initial wet weight(g)	0.53±0.01	0.53±0.01	0.53±0.01	0.53±0.01
Final wet weight (g)	1.33±0.20 ^a	1.20±0.21 ^a	2.47±0.65 ^b	1.22±0.21 ^a
Initial total length (mm)	22.0±0.05 ^a	22.0±0.01 ^a	22.0±0.05 ^a	22.0±0.05 ^a
Final total length (mm)	35.6±0.80 ^a	33.3±0.81 ^a	44.7±1.31 ^b	34.7±0.80 ^a
SGR(% per day)	0.53±0.80 ^a	0.45±0.81 ^a	0.78±1.31 ^b	0.50±0.80 ^a
Final wet mass (g)	11.64±1.49 ^a	9.48±1.19 ^a	19.47±3.51 ^b	10.54±1.42 ^a
SR (%)	92.45±5.34	87.47±7.26	85.00±8.66	91.62±5.19
MF (%)	57.6±0.11 ^a	61.3±0.14 ^a	73.6±0.13 ^b	58.3±0.10 ^a
FCR	1.17±0.33	1.33±0.31	0.89±0.40	1.50±0.51

Mean values with the same superscript letters in the same row are not significantly different (p>0.05)

Aynı satırda aynı harflere sahip olan ortalama değerler belirgin ölçüde farklı değildir (p> 0,05)

SGR: Specific growth rate, SR: Survival rate, MF: Molting frequency, FCR: Feed conversion ratio , CaCO₃: Kalsiyum karbonat

SGR: Spesifik büyüme oranı, SR: Hayatta kalma oranı, MF: Kabuk değişim sıklığı, FCR: Yem değerlendirme oranı, CaCO₃: Kalsiyum karbonat

Survival rate of juvenile crayfish ranged between 85-92.45%. No statistically significant difference was found in survival rates among the treatments groups (P> 0.05) (Table 1). At the end of the experiment, the highest survival rate according to the measurement periods was observed in the control group with 96.66% on the 60th day.

The molting frequency was 73.6% in the group fed with 6% calcium carbonate supplemented feed, 61.3% in the group fed with 3% calcium carbonate supplemented feed, 58.3% in the group fed with 12% calcium carbonate supplemented feed and control 57.6% in the group (Table 1). The group fed with 6% calcium carbonate supplementation was statistically different from the others (P <0.05).

At the end of the experiment, the highest specific growth rate was calculated in the group fed with 6% calcium carbonate supplemented feed with 0.78 value and the lowest specific growth rate was calculated in the group fed with 3% calcium carbonate supplemented feed with 0.45 value. Specific growth rates, the group fed with 6% calcium carbonate supplementation was different from the other groups

(P <0.05) (Table 1). According to the sampling periods, the highest specific growth rate was obtained from the feed fed group with 6% calcium carbonate added at 1.25 day 60. This was followed by control, feeding with 12% and 3% calcium carbonate supplemented feed with 0.85, 0.77 and 0.76 values in the same period, respectively.

At the end of the experiment, feed conversion ratio in the groups fed with control, 3%, 6%, and 12% calcium carbonate supplemented feed were found to be 1.17, 1.33, 0.89 and 1.50 respectively. In terms of feed conversion ratio, it was found that although the group fed with 6% calcium carbonate supplemented feed had a better feed conversion ratio, but it was not found different from other groups (P> 0.05) (Table 1).

There was a significant difference among the groups in terms of final wet mass (P <0.05). At the end of the experiment, the highest product amount was obtained as 19.47 g from the feed fed the group with 6% calcium carbonate addition, the group fed with control was 11.64 g, the group fed with 12% 10.54 g and the group 9 fed with 3% 48 g (Table 1).

Table 2. Mean \pm SD of the proximate composition (%) of the crayfish (*P. leptodactylus*) at the end of the experimental period of 90 days.

Çizelge 2. 90 günlük deneme periyodu sonunda *P. leptodactylus* istakozunun proximate kompozisyonunun (%) ortalama \pm standart sapması.

Parameters	Treatments			
	Control	3 % CaCO ₃	6% CaCO ₃	12% CaCO ₃
Moisture (%)	79.74 \pm 0.22	80.69 \pm 0.42	80.63 \pm 0.51	81.59 \pm 0.28
Protein (%)	17.94 \pm 0.27	16.64 \pm 1.01	16.21 \pm 0.07	16.48 \pm 0.42
Lipid (%)	0.99 \pm 0.42	1.52 \pm 0.27	1.89 \pm 0.51	0.89 \pm 0.45
Total ash (%)	1.33 \pm 0.03	1.15 \pm 0.11	1.27 \pm 0.04	1.04 \pm 0.08

Mean values with the same superscript letters in the same row are not significantly different ($P>0.05$).

Aynı satırda aynı harflere sahip olan ortalama değerler belirgin ölçüde farklı değildir ($p>0,05$)

CaCO₃: Kalsiyum karbonat

The body composition values of the different calcium carbonate added feeds are given in Table 2. As a result of the samples taken from tail meat of crayfish, it was observed that protein, fat, moisture and ash contents were not statistically different among the treatment groups.

DISCUSSION

Environmental factors (light transmittance, photoperiod and stock density) water quality parameters (water temperature, dissolved oxygen, pH, calcium, and magnesium) play an important role in the growth and survival of crayfish. (Nyström, 1994; Jover et al., 1999; Paglianti and Gherardi, 2004; Ramalho et al., 2008). In particular, calcium contains a wide range of biological functions (growth and molting) and has an important structural role in crayfish (Muyssen et al., 2009). In other words, crayfish need calcium to be able to harden the new shell after molting and they have to supply calcium from either water or feed (Hammond et al., 2006). Hammond et al. (2006) showed that increases in calcium concentration in water reduces cannibalism in crayfish. The effects of different concentrations of calcium on the survival, growth and molt of crayfish have been shown in previous studies (Türel and Berber, 2016; Sirin and Mazlum, 2017; Holdich, 2002). However, studies with calcium have been limited so far. Therefore, calcium carbonate was added to feeds in order to minimize losses due to cannibalism in the larval stage. Sirin and Mazlum (2017) indicated that when crayfish fed with calcium carbonate supplemented feeds had more gastroliths than fed with with calcium chloride in stomachs. They also observed that new molt and soft crayfish had larger and heavier gastroliths. Because, after the molting crayfish can not use gastroliths. At that time calcium carbonate is used for the formation of mouth and shell.

In this study, we investigated the effects of calcium carbonate on juvenile freshwater crayfish growth, survival and molting frequency. Crayfish with an average length of 22 mm and weight of 0.53 g were

used. At the end of the experiment, different concentrations of calcium carbonate significantly influenced the survival of crayfish. Thus, the highest survival rate was observed in 12% calcium carbonate supplemented feed groups, followed by control, 3%, and 6%, respectively. These results are in parallel with the other studies. For example, Fotedar et al. (1999) found that the survival rate was 80%. In this study, the survival rate of crayfish was found to be 93.6%. Similarly, previous studies have shown that the survival of crayfish is proportional to the increase in calcium concentration in water, but is partly reduced by death due to molting (Taugbol et al., 1996). Again, Hammond et al. (2006) in a study on *Paranephrops zealandicus* crayfish survival in the amount of calcium in the water (up to 10 mg / L) is proportional to the increase in the amount of water, but the increase in certain amounts of calcium (eg 80 mg / L) have observed that the growth rate does not change. Moreover, some studies have shown that neither high nor low calcium concentration has a positive effect on growth.

The best growth was found to be 2.47 g in crayfish fed with 6% calcium carbonate supplemented feeds. Winkler (1986) in his study indicated that the lack of calcium in water affects crayfish molt, metabolic activity, and growth, although the high concentration of calcium in the water can be make toxic effects on crayfish. In this study, the frequency of molting was found to be highest in groups containing 6% calcium carbonate (73.6%). This value was found to be different from other groups. Similar studies on *Penaeus/Litopenaeus vannamei* showed that when Ca / Mg was 1: 3, survival and growth rates increased with increasing calcium and magnesium ions, but when calcium concentration reached 30 mg / L, growth and survival rates decreased with increasing calcium and magnesium ions. (Yue et al., 2009).

The calcium level in aquatic environments has an important role in the growth of freshwater crayfish (France, 1987). Calcium accumulates in the outer crust of many crustaceans and, as in freshwater crayfish, a sufficient amount of calcium is needed at each molt (Rukke, 2002). In the decency of calcium,

molting activity progresses more slowly. Therefore, the soft shell period lasts longer and during this period, crayfish are vulnerable to predator attacks because they are vulnerable (Stein, 1977). Cannibalism also increases in this period (France, 1987). Rapid growth, frequent molt increases cannibalism and predators more (Lutz, 1983). No significant difference was observed our study groups.

Zahmetkesh et al. (2007), in their experiment, they studied the growth and survival rates of crayfish fed with different amounts of calcium supplementary feed (0, 1, 2, 3, and 4). As a result of the research, the best weight and length increase was observed in the feed group with 3-4% calcium content, but no significant difference was found in our experiment groups. The highest growth (11.65 g) was observed in the group fed with 4% calcium feed. The lowest survival rate (30%) was seen in 2% calcium fed group. In this study, it was determined that there was a significant increase in growth due to different concentrations of calcium carbonate. And the best growth and molting occurred in the group fed with 6% calcium carbonate supplemented feeds. The best temperature of growth activity of this species was determined as 21.8 °C (Nyström, 2002). *A. leptodactylus* species to grow under culture conditions, the most suitable water temperature values between 20-25 °C have been determined (Köksal, 1988). It is not correct to link these results to calcium compounds only. Because the temperature of water molting, survival, feeding, and growth is the first-degree factor in crayfish (Lowery, 1988; Whitley and Rabeni, 2003). Generally, low temperatures are recommended for the survival of juvenile crayfish and high temperatures are recommended for rapid growth. Different researchers working with astacids and other family crayfish have reported an increase in survival rates in crayfish maintained at temperatures of 15 °C or lower, although temperatures of 20 °C or higher provide the best results for growth of crayfish (Westman et al., 1993; Gydemo and Westin, 1989; Mazlum, 2007). During this study, the water temperature was 19.9 °C. Another factor effective in the growth of freshwater crayfish such as pH level (Bradford et al., 1998). The acidity of lakes or waters can lead to significant calcification and reduced hardness of the outer shell. In acidic waters, calcium is almost negligible (Seiler and Turner, 2004). Even in this case, the crayfish can survive and reproduce. The pH of the water also affects the oxygen demand of the water. Optimal 6.5-8 pH levels have been reported to be suitable for *A. leptodactylus* (Köksal, 1988). In this study, pH values ranged between 8-8.7. Low dissolved oxygen concentration and sudden rise and fall, freshwater crayfish is one of the main problems seen in natural and growing environments (Huner, 1988). Oxygen content is a limiting factor in the growth of

freshwater crayfish. In general, crayfish exposed to constant low oxygen levels are slowing growth and feeding (Chien and Avault, 1983).

In aquaculture, freshwater crayfish are stressed at oxygen levels below 3 mg / L. It has been determined that *P. leptodactylus*, which is naturally distributed in our country, can tolerate a minimum of 3.97 mg / L, and optimally needs oxygen concentration higher than 6 mg / L (Nyström, 2002; Wingfield, 2000). Oxygen values observed during the research were at the desired level and did not constitute a problem during the trial period.

At the end of the experiment, it was observed that the protein, fat, moisture and ash contents of the crayfish fed by adding different levels of calcium carbonate to the feed were not different among the treatment groups. Previous studies indicated that the moisture content of crayfish was 81% (Yıldırım et al., 1997) and 79-79.7% (Gürel and Patir, 2001). The results obtained in this study showed similar with other studies. Protein value of crayfish in the study of Yıldırım et al., (1997) was 14.2%, Gürel and Patir (2001) was 16.4-17.1%, Huner (1995) 16.79% and Mazlum (2007) found to be 16.5%. The values obtained in this study support these studies. In the study of Yıldırım et al. (1997) fat values between 1.26-1.51%, Gürel and Patir (2001) found the oil values between 0.40-0.50 %. These values are in comparable with our study. Although the meat yield of crayfish is low, the crude protein content is high. Meat yield and protein contents of crayfish were changed seasonally. Oil ratio of crayfish varies significantly depending on the reproduction period and nutrient multiplicity (Eversole and Türker, 1999; Eversole et al., 2002).

Crayfish have gastroliths called stomach stones. They are located on both sides of the cardiac stomach and contain calcium carbonate. During the molt, some of the calcium carbonates in the old shell accumulate in gastroliths. As a result of this experiment, the highest gastrolith accumulation was observed in crayfish in groups fed with 12% feed. Thus, calcium or its compounds in water or feed have a significant effect on the hardening of the shell of crayfish. Taugbol et al. (1996) stated that 10-20% calcium is required in the hardening of new crust and storage of gastric stone. Another result obtained from this study was that gastroliths were found to be larger and heavier in freshly shelled softshell crayfish. One of the most important reasons for this is that the newly changed individuals have not been able to use gastrolith. Because during the shell change calcium carbonate in the stomach is brought back into dissolved form and used in the formation of the mouth and outer shell. 1/3 of the amount of calcium carbonate required for the development of new crust is provided from the stomach, hepatopancreas, and blood (Taugbol et al., 1996; Holdich, 2002). Cerenius and Söderhall (1984),

found that *Aphanomyces astacii*, the causative agent of crayfish plague, has an antagonistic effect of calcium and magnesium content in the water on zoospore production. Therefore, the calcium content of the waters to be cultured in crayfish should be at a certain level, otherwise, it has an encouraging effect on the high production of zoospores.

As a result, it was observed that calcium carbonate supplemented feeds had significant effects on survival, growth and molting frequency of juvenile crayfish. At the end of the 90-day trial period, the best growth (weight and length) was achieved in the feed fed group with 6% calcium carbonate supplementation. At the end of the experiment, the highest survival rate was obtained from only 12% group with 93.33%, while the lowest survival rate was found in the group of 81.11% and 6%. When specific growth rates are evaluated the highest value was 1.39 g in the group fed with 6% calcium carbonate supplementation and the lowest value was in the group fed with 0.84 g with 3% calcium carbonate supplemented feed.

In the 90-day period, it was found that the group fed with 6% calcium carbonate added feed had a better feed conversion rate and did not differ from the other groups. Among the treatment groups, the frequency of crust change was 80.6% in the group fed with 6% calcium carbonate supplemented feed, 48.6% in the control group, 49.0% in the group fed with 3% calcium carbonate supplemented feed and 12% in the group fed with calcium carbonate 43.3%, respectively. The highest amount of product was obtained from the group fed with 6% calcium carbonate supplemented feed with 20.26 g, the control group 11.64 g, the group fed with 12% calcium carbonate added to feed and the group fed with 11.54 g and 3% calcium carbonate was 9.62g, respectively. As a result of the samples taken from tail meat of crayfish, it was observed that protein, fat, moisture and ash contents were not statistically different among the treatment groups.

CONCLUSION

After 90-day study, supplementation of CaCO₃ significantly affected growth rate, specific growth rate, feed intake, molting frequency and biomass. However, survival of crayfish at level of 6% diet group was found lower when compared to the other treatment groups.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by funding from the Scientific Project Office of Mustafa Kemal University (Project No: 04 Y 1 0121). This study result is based on a part of the master thesis. The authors would like to thank the Faculty of Marine Sciences and Technology staff for their assistance during the study.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Akhan S, Bektas Y, Berber S, Kalayci G 2014. Population structure and genetic analysis of narrow-clawed crayfish (*Astacus leptodactylus*) populations in Turkey. *Genetica*, 142: 381–395.
- Bradford DF, Cooper SD, Jenkins TM, Krantz JrK, Sarnelle O, Brown AD 1998. Influences of natural acidity and introduced fish on faunal assemblages in California alpine lakes. *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Sciences*, 55: 2478-2491.
- Cerenius L, Söderhall K 1984. Repeated zoospore emergence from isolated spore cysts of parasitism in *Aphanomyces astaci*. *Exp. Mycol.*, 8: 370-377.
- Chanda S, Paul B.N. Ghosh K. Giri S.S 2015. Dietary essentiality of trace minerals in aquaculture-A Review. *Agric. Rev.*, 36 (2), pp. 100-112.
- Chien YC, Avault JW Jr 1983. Effects of flooding dates and type of disposal of rice straw on the initial survival and growth of caged juvenile crayfish, *Procambarus clarkii* in ponds. *Freshwater Crayfish*, 5: 344-350.
- Correia A M 2003. Food choice by the introduced crayfish *Procambarus clarkii*. *Annales Zoologici Fennici* 40:517-528.
- Crandall K.A, De Grave S 2017. An updated classification of the freshwater crayfishes (Decapoda: Astacidea) of the world, with a complete species list. *Journal of Crustacean Biology*, 37(5) :615–653.
- Eversole AG, Mazlum Y, Fontenot QC, Turker H 2002. Evaluation of a non-invasive technique for predicting reproductive success in white river crayfish. *Freshwater Crayfish*, 13: 303–308.
- Eversole AG, Türker H 1999. Lipid content of *Procambarus acutus acutus* (Girard). *Freshwater Crayfish*, 12: 194-204.
- Dick JTA 1995. The cannibalistic behaviour of two *Gammarus* species (Crustacea: Amphipoda) *Journal of Zoology*, 236: 697 – 706.
- France RL 1987. Calcium and trace metal composition of crayfish (*Orconectes virilis*) in relation to experimental lake acidification. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Science*, 44:107–113.
- Fotadar RKK, Knott B, Evans LH 1999. Effect of a diet supplemented with cod liver oil and sunflower oil on growth, survival and condition indices of juvenile *Cherax tenuimanus* *Freshwater Crayfish*, 12: 478–493.

- Hammond KS, Hollows JW, Townsend CR, Lokman PM 2006. Effects of temperature and water calcium concentration on growth, survival and molting of freshwater crayfish, *Paranephrops zealandicus*. *Aquaculture*, 251: 271–279.
- Hessen D, Kristiansen G and Lid I 1991. Calcium uptake from food and water in the crayfish *Astacus astacus* (L. 1758), measured by radioactive ⁴⁵Ca (Decapoda, Astacidea). *Crustaceana*, 60(1):76–83.
- Holdich DM 2002. General Biology-Background and Functional Morphology. (Biology of Freshwater Crayfish, Holdich, DM) 3-30.
- Huner JV 1995. Ecological observations of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852), and white river crayfish, *Procambarus zonangulus* (Hobbs & Hobbs, 1990), as regards their cultivation in earthen ponds. *Freshwater Crayfish*, 10: 456-468.
- Greenaway P 1993. Calcium and magnesium balance during molting in land crabs. *Journal of Crustacean Biology*, 13: 191–197.
- Gürel A, Patır B 2001. Meat Yield and Chemical Quality of Crayfish (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz, 1823) in Keban Dame Lake. *The Journal of Veterinary Science*, 17(2): 23-30.
- Gydemo R and Westin L, 1989. Growth and survival of juvenile *Astacus astacus* L. At optimized water temperature, (Aquaculture: a biotechnology in progress, De Pauw, N) 383-391.
- Jover M, Fernandez-Carmona J, Del Rio MC, Soler M 1999. Effect of feeding cooked-extruded diets, containing different levels of protein, lipid and carbohydrate on growth of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Aquaculture*, 178:127–137.
- Köksal G 1988. *Astacus leptodactylus* in Europe. (Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation, Croom Helm, London: Holdich, DM and Lowery, RS) 365–400.
- Lall SP 2002. The minerals. (Fish Nutrition, CA: Ed. Halver JE, Hardy RW) 259-308.
- Liang H, Mi, Ke, Ji Ke, G X, Ren M, Xie J 2018. Effects of Dietary Calcium Levels on Growth Performance, Blood Biochemistry and Whole Body Composition in Juvenile Bighead Carp (*Aristichthys nobilis*) *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18: 623-631.
- Lodge DM, Deines A, Gherardi F, Yeo DCJ, Arcella T, Baldrige AK, Barnes M A. Chadderton WL, Feder JL, Gantz CA, Howard GW, Jerde C L, Peters BW, Peters J, Sargent LR, Turner C R, Wittmann ME, Zeng, Y 2012. Global introductions of crayfishes: evaluating the impact of species invasions on ecosystem services. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43:449–472.
- Luquet G., Dauphin Y, Percot A, Salomé M, Ziegler A, Fernandez M.S, Arias J.L 2016. Calcium Deposits in the Crayfish, *Cherax quadricarinatus*: Microstructure versus elemental distribution. *Microsc. Microanal*, 22, 22-38.
- Lutz CG 1983. Population dynamics of red swamp crawfish (*Procambarus clarkii*) and white river crawfish (*Procambarus acutus acutus*) in two commercial ponds. Master's thesis, Louisiana State University, Baton Rouge, LA, USA.
- Matsuzaki SS, Usio N, Takamura N, Washitani I 2009. Contrasting impacts of invasive engineers on freshwater ecosystems: an experiment and meta-analysis. *Oecologia* (Berlin), 158: 673–686.
- Mazlum Y 2007. Stocking density affects the growth, survival, and cheliped injuries of third instars of narrow-clawed crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 juveniles. *Crustaceana*, 80:803–815.
- Mazlum Y, Yılmaz E, 2012 Kerevitlerin Biyolojisi ve Yetiştiriciliği. Mustafa Kemal Üniversitesi Yayınları, Hatay, 120 p.
- Momot WT 1995. Redefining the Role of Crayfish in Aquatic Ecosystems. *Reviews in Fisheries Science*, 3(1): 33–63.
- Muyssen, BTA, De Schampelaere KAC, Janssen CR 2009. Calcium accumulation and regulation in *Daphnia magna*: Links with feeding, growth and reproduction. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 152(1): 3–57.
- National Research Council (NRC) 2011. Nutrient requirement of fish and shrimp. National Academy Press, Washington, DC.
- Nyström P 2002. Ecology. (Biology of Freshwater Crayfish, Oxford, UK : Ed. Holdich, DM) 192–235.
- Paglianti A, Gherardi F 2004. Combined effects of temperature and diet on growth and survival of young-of-year crayfish: a comparison between indigenous and invasive species. *Journal of Crustacean Biology*, 24:140–148.
- Ramalho RO, Correia AM, Anastacio PM. 2008. Effects of density on growth and survival of juvenile Red Swamp Crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard), reared under laboratory conditions. *Aquaculture and Research*, 39:577–586.
- Reynolds JD, Gouin N, Pain S, Grandjean F, Demers A, Souty-Grosset C 2002. Irish crayfish populations: ecological survey and preliminary genetic findings *Freshwater Crayfish*, 13:551-61.
- Romano N, Zeng C 2017. Cannibalism of Decapod Crustaceans and Implications for Their Aquaculture: A Review of its Prevalence, Influencing Factors, and Mitigating Methods, *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 25(1): 42-69.
- Roy LA, Davis DA, Nguyen TN, Saoud IP 2009. Supplementation of chelated magnesium to diets of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters of West

- Alabama. Journal of the World Aquaculture Society, 40:248–25.
- Rukke NA 2002. Effects of low calcium concentration on two common freshwater crustaceans, *Gammarus lacustris* and *Astacus astacus*. Functional Ecology, 16: 357 – 366.
- Seiler SM, Turner AM 2004. Growth and population size of crayfish in headwater streams: individual and higher-level consequences of acidification, Freshwater Biology, 49: 870-881.
- Sirin S, Mazlum Y 2017. Effect of dietary supplementation of calcium chloride on growth, survival, moulting frequency and body composition of narrow-clawed crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). Aquaculture Nutrition, 23(4):805-813.
- Stein RA 1977. Selective predation, optimal foraging and the predator-prey interaction between fish and crayfish. Ecology, 58:1237 – 1253.
- Tavabe KR, Rafiee G, Frinsko M, Daniels H 2013. Effects of different calcium and magnesium concentrations separately and in combination on *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) larvi culture. Aquaculture, Amsterdam, 412: 160–166.
- Twardochleb L Olden J, Larson E 2013. A global meta-analysis of the ecological impacts of nonnative crayfish. Freshwater Science 32: 1367–1382.
- Taugbol, T, Skurdal J, Fjeld E 1996. Maturity and fecundity of *Astacus astacus* females in Norway. Freshwater Crayfish, 7: 107–114.
- TÜİK 2017. Türkiye İstatistik Kurumu, Veri tabanları, <http://rapory.tuik.gov.tr>
- Türel S, Berber S 2016. The Effects of Calcium Supplemented Diets on Growth Performance of Crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823). Adıyaman University Journal of Science, 6 (1):96-109
- Westman K, Savolainen R, Pursiainen M 1993. A comparative study on the growth and moulting of the noble crayfish, *Astacus astacus* (L.) and the signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* (Dana), in a small forest lake in southern Finland. Freshwater Crayfish, 9: 451-465.
- Whitledge GW and Rabeni, CF, 2003. Maximum daily consumption and respiration rates at four temperatures for five species of crayfish from Missouri U.S.A (Decapoda, *Orconectes spp.*). Crustaseana, 75(9):1119-1132.
- Wingfield M 2000. An overview of the Australian freshwater crayfish farming industry, Stencilled paper, (The Australian Crayfish Aquaculture Workshop (Western Australia, Ed: Whisson, G and Wingfield, M.) 5-13.
- Winkler A 1986 Effects of inorganic sea water constituents on branchial Na-K- ATPase activity in the shore crab *Carcinus maenas*. Marine Biology, 92:537-544.
- Yue CF, Wang TT, WANG YF Peng Y. 2009. Effect of combined photoperiod, water calcium concentration and pH on survival, growth, and moulting of juvenile crayfish (*Procambarus clarkii*) cultured under laboratory conditions. Aquaculture Research, 40(11):1243-1250.
- Zahmetkesh A, Poorreza J, Abedian A, Shariatmadari F, Valipoor A, Karimzadeh K 2007. Effects of different levels of calcium on growth criteria and survival of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*. Journal of Science and Technology Agriculture and Natural Resources, 11:385-397.

Narenciye Kabuğu Esansiyel Yağları Kullanılarak Hazırlanan Mikroenkapsüle Balık Yağı Tozlarında Depolama Süresince Meydana Gelen Duyusal ve Renk Değişimleri

Yılmaz UÇAR

Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, 52200, Fatsa/ORDU

¹<https://orcid.org/0000-0002-6770-6652>

✉: ucarylmz@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada, hamsi yağına eklenen narenciye kabuğu esansiyel yağlarının (portakal, limon, mandalina ve greyfurt) sprey kurutma yoluyla mikroenkapsüle edilmesi sonucu elde edilen balık yağı tozlarının oda sıcaklığında (24±1°C) 12 haftalık depolama süresi boyunca rengi ve duyusal kalitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Mikroenkapsülasyon sonrası örneklerin renk parlaklığı (L^*) değerinin 76.46 - 81.51, a^* değerinin (-2.50) - (-0.52) ve b^* değerinin 7.41 - 19.39 arasında değiştiği görülmüştür. Genel olarak, L^* , renk beyazlığı (Whiteness) ve renk tonu (Hue) değerleri depolama süresiyle birlikte azalırken, a^* , b^* ve renk berraklık (Croma) değerleri dalgalanma göstermiştir. Gruplar arasında en fazla renk değişimi (ΔE) kontrol grubunda (8.04), en az değişim ise mandalina kabuğu esansiyel yağ grubunda (4.55) gözlenmiştir. ME balık yağı tozları koku, görünüm ve partikül çapları bakımından birbirlerinden farklılık göstermiştir. Görsel gözlemler, ME balık yağı tozları kontrol grubunun renginin beyaz, ME portakal ve limon kabuğu EO gruplarının soluk beyaz, ME mandalina kabuğu EO grubunun sarımsı ve ME greyfurt kabuğu EO grubunun şampanya renginde olduğunu göstermiştir. Tüm grupların kuru toz örnekleri ince ve pürüzsüz olmasına rağmen, özellikle kontrol grubunda depolama sonlarına doğru kümelenme- topaklaşma gözlenmiştir. Panelistler tarafından kontrol grubunda gözlenen balık kokusunun, eklenen esansiyel yağlar ile baskılandığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda kullanılan esansiyel yağların depolamanın sonlarına doğru kontrol grubunda gözlenen acılaştırma kokusunu bastırdığı ve renk sonuçları ile de uyumlu olarak yağların acılaştırmasını önlediği dolayısıyla oksidasyonu önlediği sonucuna varılmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 25.09.2019

Kabul Tarihi : 27.12.2019

Anahtar Kelimeler

Balık yağı
Mikroenkapsülasyon
Renk değişimleri
Duyusal değerlendirme
Sprey kurutma

Color and Sensory Changes in Microencapsulated Fish Oil Powders Prepared Using Citrus Peel Essential Oils During Storage

ABSTRACT

The current study was designed to assess the color and sensory evaluation of microencapsulated (ME) anchovy fish oil powders by adding citrus essential oils (EOs) (orange, lemon, mandarin, and grapefruit) for 12 weeks of storage period at the room temperature (24±1°C). After microencapsulation, it was observed that color brightness (L^*), a^* and b^* values of the samples varied in the range of 76.46 - 81.51, (-2.50) - (-0.52), and 7.41 - 19.39, respectively. In general, L^* , whiteness and hue values decreased with the storage time, while a^* , b^* and croma values fluctuated. Among the groups, the highest total color difference (ΔE) was observed in the control group (8.04) while the lowest ΔE was detected in mandarin peel essential oil group (4.55). ME fish oil powders differed from each other in terms of smell, appearance and particle diameters. Visual observations indicated that the color of control group ME fish oil powders was white, ME orange and lemon peel EOs groups were pale white, ME mandarin peel EOs group was yellowish and ME grapefruit peel EOs group was light orangish. Although dry powder samples of all groups were thin and smooth, clumping-agglomeration was observed towards the end of the

Research Article

Article History

Received : 25.09.2019

Accepted : 27.12.2019

Keywords

Fish oil
Microencapsulation
Color changes
Sensory assessment
Spray drying

storage, especially in the control group. According to the results of sensory analysis, it was determined by the panelists that the fishy odor observed in the control group was prevented by the added essential oils. It was concluded that the EOs used also suppressed the smell of rancidity observed at the end of the storage in the control group and prevented the rancidity of the oils in accordance with the color results by preventing the oxidation.

To Cite : Uçar Y 2020. Narenciye Kabuğu Esansiyel Yağları Kullanılarak Hazırlanan Mikroenkapsüle Balık Yağı Tozlarında Depolama Süresince Meydana Gelen Duyusal ve Renk Değişimleri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 23 (2): 515-526. DOI: 10.18016/ksutarimdog.a.vi.624566.

GİRİŞ

Balık yağları, yapılarında EPA ve DHA gibi çoklu doymamış yağ asitleri nedeniyle önemli bir besin kaynağıdır. Birçok araştırmacı, çoklu doymamış yağ asitleri tüketiminin, risk faktörlerini azaltarak insanlarda, özellikle kardiyovasküler bozukluklarda birçok hastalığın oluşumunu önleyebileceğini bildirmiştir (Durmuş, 2018; Çakmakçı ve Tahmas-Kahyaoglu, 2012). Bu bakımdan, hamsi yağının mükemmel omega-3 lipid kaynaklarından biri olduğu ve doğrudan balık yağı tüketiminin yanı sıra, tüketicilerin omega-3 bakımından zengin gıdalara ve ilgili ham maddelere artan bir ilgi gösterdiği bilinmektedir (Gökoğlu ve ark., 2009; Tatar ve Kahyaoglu, 2014; Yu ve ark., 2017). Ayrıca, balık yağları fonksiyonel bir besin maddesidir ve sağlıkta çok önemli bir rol oynar. Örneğin, balık yağı ile zenginleştirilmiş insan diyetinin bilişsel bozuklukların önlenmesinde ve çocuklar ve yaşlı insanlar için beyin gelişiminde yararlı etkileri olduğu tespit edilmiştir (Ozogul ve ark., 2018). Bununla birlikte, balık yağları güçlü bir koku ve aromaya sahiptir ve korunmadıkları sürece kolayca okside olurlar. Balık yağındaki doymamış yağ asitlerinin oksidatif bozunması, besin değeri kaybı ve istenmeyen tat oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle, balık yağlarının kalitesini korumak için antioksidanlar ve işleme teknolojileri kullanılır. Bu teknolojilerin en önemlilerinden bazıları mikroenkapsülasyon ve nanoteknolojik uygulamalardır (Ceylan ve ark., 2018; Durmuş ve ark., 2019). Mikroenkapsülleme, gıda bileşenlerinin veya biyoaktif bileşenlerin, polimer matris veya "duvar" ile "çekirdek" olarak sarılmasını sağlayan bir teknolojidir. Mikroenkapsülenmiş gıda katkı maddeleri sayesinde, teknik olarak imkansız olduğu düşünülen birçok fonksiyonel ürün artık üretilebilir ve gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir. Mikroenkapsülleme, kapsüllenen gıda bileşenlerine sayısız yarar sağlayabilir. Örneğin, kapsüllenen malzemeler, lipid oksidasyonu, üretim boyunca besinsel bozulma, kullanım ve depolama gibi olumsuz reaksiyonlara karşı korunmaktadır. Mikroenkapsülleme, balık yağlarının oksidasyonunun korunmasında önemli olmakla birlikte, mikroenkapsülenmiş biyoaktif bileşenlerin işlenmesi ve ardından depolanması sırasında maksimum koruma

sağlamak için esans yağları gibi antioksidanlarla ilave stabilizasyon gereklidir.

Mikroenkapsülasyon, ürünün besinsel bozulmasını önlemek için duvar malzemesinin koruyucu matrisinde fiziksel olarak kaplanacak olan çekirdek malzemenin hassas bileşenlerinin korunmasını sağlar (Risch ve Reineccius, 1988). Mikroenkapsülleme, yağı çevreleyen bir duvar malzemesi kullanılarak oluşturulan oksijen, ışık ve serbest radikal gibi dış etkenlere karşı güçlü bir bariyer anlamına gelir. Bu durum oksidasyon kararlılığını sağlar, balık kokusunu azaltır ve balık yağını gıda ürünlerine dahil edilmeye uygun bir forma dönüştürür. Spreyle kurutma, spreyle soğutma, akışkan yataklı kurutma, ekstrüzyon ve santrifüjlü ekstrüzyon gibi mikroenkapsülleri üretmek için çeşitli teknikler mevcuttur (Krishnan ve ark., 2005). Bununla birlikte, sprey kurutma gıda endüstrisinde en sık kullanılan mikroenkapsülleme teknolojisidir (Reineccius, 2004). Ek olarak, spreyle kurutma ve ekstrüzyon, yiyecek aromalarının ve yağların mikro kapsüllemesi için en popüler işlemlerdir (Bhandari, 2004). Püskürterek kurutma ekonomik ve esnek ve kaliteli toz parçacıkları üretir (Jafari ve ark., 2008).

Mikroenkapsülleme işleminde kaplama malzemesi verimliliği etkilemektedir. n-3 yağ asitlerinin mikroenkapsüllemesinde yaygın olarak kullanılan kaplama malzemelerinin bazıları proteinler, lipitler, polisakarit zamları ve selülozdur (Sanguansri ve Augustin, 2006). PUFA'lar için uygun bir kaplama malzemesi seçimi, kaplama malzemesinin işleme ve depolama sırasında yağ bozulmasını telafi etme kapasitesine ve özellikle de gıda kullanımı için onaylanmasına bağlıdır (Barroso ve ark., 2014). Nişastalar, maltodekstrinler, akasya zamları ve mısır şurubu katıları gibi karbonhidratlar, gıda endüstrisinde kapsülleyici ajanlar olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, yüzeyler arası yapışma özelliklerinin zayıf olması nedeniyle, bu tür duvar malzemelerinin, yağ bazlı materyallerin kapsüllemesi için bir yüzey aktif cismi ile değiştirilmesi veya kullanılması gerekir (Hogan ve ark., 2001). Amfilik karakterli ve emülsifiye edici özelliklere sahip olan sodyum kazeinat (NaCas), istenen fiziksel ve fonksiyonel özelliklere yol açan lipit benzeri çekirdek malzemelerin kapsüllemesi için

tercih edilmektedir (Kinsella ve Morr, 1984; Leman ve ark., 1989). Yağı oksidasyondan korumak için bir başka yaklaşım kapsülleme işleminde duvar malzemesi ile antioksidanların kullanılmasıdır. Son zamanlarda, doğal antioksidanlar kullanarak balık yağı gibi hassas yağların oksidatif bozulmasını sınırlamak için birçok girişimde bulunulmuştur (Botrel ve ark., 2017; Hogan ve ark., 2003; Wan ve ark., 2011).

Tüketici tercihleri nedeniyle, iyi bir flavonoid, antosiyanin, karotenoid ve fenolik bileşikler kaynağı olarak bilinen bitki ekstraktları ve esansiyel yağları gibi doğal antioksidanlar, hem oksidatif stabilite için hem de sentetik antioksidanlar yerine serbest radikal süpürücüler olarak kullanılırlar (Bozin ve ark., 2007; Kähkönen ve ark., 2007). Esansiyel yağlar, bitki materyalinden (çiçekler, tomurcuklar, tohumlar, yapraklar, ağaç kabuğu, otlar, odun, meyveler ve kökler) elde edilen aromatik yağlı sıvılardır. Uçucu yağlardaki aktif bileşikler terpenler, terpenoidler, fenoller ve diğerleri olarak gruplandırılabilir (Hyldgaard ve diğerleri, 2012). Bazı çalışmalar, uçucu yağların post-mortem sonrası kaliteyi koruyabildiğini ve balık ve et ürünlerinin raf ömrünü arttırabileceğini göstermiştir (Ghabraie ve ark., 2016).

Kekik, biberiye, defne ve adaçayı gibi ekstreler, su ürünlerinde olduğu gibi balık yağı/emülsiyon sistemlerinde de lipid oksidasyonunu geciktirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Álvarez ve ark., 2012; Özoğul ve ark., 2017; Özyurt, 2013; Pourashouri ve ark., 2016; Rao ve ark., 2017). Ancak, bilindiği kadarıyla, narenciye uçucu yağları üzerinde henüz bir çalışma yapılmamıştır. Ayrıca, spreyle kurutma yoluyla elde edilen mikroenkapsüle hamsi yağına eklenen portakal, limon, greyfurt ve mandalina kabuğu yağlarının koruyucu etkisi incelenmemiştir. Narenciye grubu gibi önemli bir uçucu yağ kaynağı, tüketiciler arasında hoş lezzetleri ve yüksek besin değeri bakımından tercih edilmektedir. Narenciye meyvelerinin bir yan ürünü olan narenciye kabukları, yüksek miktarda aromatik bileşen, özellikle de esansiyel yağları içermektedir. Bu esansiyel yağlar mükemmel antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahiptir. Çalışmalar limon esansiyel yağlarının hem in-vitro hem de in-vivo ortamlarda gıda bozulmasına ve/veya patojenik mikroorganizmalara karşı etkili olduğunu göstermektedir (Randazzo ve ark., 2016). Püskürterek kurutmanın, atomizasyon sırasında mekanik kayma ile birlikte yüksek sıcaklık nedeniyle lipid oksidasyonunu hızlandırdığı bilinmektedir. Binsi ve ark. (2017) bu kuvvetlerin emülsiyonun stabilitesini azaltabileceğini ve balık yağı oksidasyonunun yanı sıra kapsül yağı çökeltmesini de azaltabileceğini bildirmiştir.

Her ne kadar çeşitli uygulamaları ile balık ürünlerinin raf ömrü arttırılmaya çalışılmış olsa da (Joe ve ark., 2012; Ozogul ve ark., 2017a, 2017b), balık ürünlerinde

özellikle narenciye EO'larının kullanımı ile ilgili bir çalışma yoktur. Bu nedenle, özellikle spreyle kurutma koşullarında, doğal antioksidanların balık yağının stabilitesi üzerindeki etkileri araştırılması gereken bir konu haline gelmiştir. Bu çalışmada, çeşitli katkı maddeleri (sodyum kazeinat ve maltodekstrin) ile kapsüllenmiş hamsi yağının oksidatif stabilitesi üzerindeki doğal bitki kabuğu uçucu yağlarının (portakal, limon, greyfurt ve mandalina) oda koşullarında (24±2°C) 12 hafta depolanması süresince meydana gelen renk değişimleri ve duyu kalitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada kullanılan hamsi (*Engraulis encrasicolus*) yağı Trabzonda bulunan bir firma (Kobyalar Grup, Trabzon, Türkiye) aracılığıyla temin edilmiştir. Hamsi yağının oksitlenmesini geciktirmek için kullanılan portakal, limon, mandalina ve greyfurt narenciye kabukları esansiyel yağları Adana'da bulunan BİOMESİ firmasından temin edilmiştir. Kaplayıcı materyal olarak sodyum kazeinat ve maltodextrin kullanılmış olup bu materyaller İstanbul'da bulunan bir firmadan (Alfasol) temin edilmiştir.

Narenciye gruplarının uçucu yağları, 4 saatlik bir süre boyunca endüstriyel tip Klavenger cihazı kullanılarak hidro-damıtma yoluyla elde edilmiştir. Klavenger cihazı, 1000 mL'lik yuvarlak tabanlı bir şişeden (Isolab, Wertheim Germany), uçucu bir yağ tespit tüpü ve bir geri akış kondansatöründen (Norm Cam, Ankara, Türkiye) oluşmaktadır. Uçucu yağlar, emülsiyonlar oluşturulana kadar buzdolabında +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Metot

Mikroenkapsüle Balık Yağları (MBY)'nin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan emülsiyonların formülasyonları Tablo 1'de gösterilmektedir. Emülsiyon hazırlarken 1:1 oranında sodyum kazeinat ve maltodextrin 55°C suda 1 saat çözdürüldükten sonra ısısının oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. Elde edilen bu karışımın içine balık yağı ilave edilerek ultra-turrax (IKA T25, Baden-Württemberg, Almanya) cihazında 14.000 rpm'de 10 dakika homojenize edilmiştir ve böylelikle kontrol grubu oluşturulmuştur. Tablo 1'de belirtilen oranlarda mandalina, greyfurt, portakal ve limon esansiyel yağları eklenerek ultra-turrax ile homojenize işlemi tekrarlanmıştır.

Spreyle Kurutma (Spray Dryer) İşlemi

Elde edilen emülsiyonlar 0.7 mm çaplı püskürtme memeli laboratuvar tipi püskürtmeli kurutucuda (Buchi Mini Spray Dryer B-290, İsviçre) kurutularak toz haline getirilmiştir. Emülsiyonlar kurutma spreyle

dryer (SD) beslemesi öncesi ve esnasında manyetik karıştırıcı altında sürekli homojen karışıma tabi tutulmak suretiyle kurutma odasına, 0.5 L/saat'lik bir besleme akış hızı kullanılarak peristaltik pompa ile beslendi. SD'nin giriş sıcaklığı 160°C, çıkış sıcaklığı 90±5°C olarak düzenlenmiştir. Aspiratör debisi 35

m³/sa, pompa hızı ise %20'e ayarlanmıştır. İşlem sonunda toz haline getirilen ürünler koyu renkli cam şişelere konularak oda sıcaklığında (24±1°C) 12 hafta depolanmıştır. Depolama süresince belirli haftalarda mikrokapsüle edilmiş örneklerin renk ve duyuşal değişimleri incelenmiştir.

Tablo 1. Emülsiyon formülasyonları
Table 1. Formulations of emulsion

Gruplar Groups	Hamsi Yağı <i>Anchovy Oil</i> (%)	Sodyum Kazeinat <i>Sodium Caseinate</i> (%)	Maltodekstrin <i>Maltodextrin</i> (%)	Mandalina Esansiyel Yağı <i>Mandarin Essential Oil</i> (%)	Greyfurt Esansiyel Yağı <i>Grapefruit Essential Oil</i> (%)	Portakal Esansiyel Yağı <i>Orange Essential Oil</i> (%)	Limon Esansiyel Yağı <i>Lemon Essential Oil</i> (%)
Kontrol (C) <i>Control</i>	10	10	10	-	-	-	-
Mandalina(M) <i>Mandarin</i>	10	10	10	2,5	-	-	-
Greyfurt (G) <i>Grapefruit</i>	10	10	10	-	2,5	-	-
Portakal (P) <i>Orange</i>	10	10	10	-	-	2,5	-
Limon (L) <i>Lemon</i>	10	10	10	-	-	-	2,5

Duyusal ve Renk Analizleri

Renk ölçümlerinde, Calder (2003)'in belirttiği yöntemle göre CM-500 (Konica Minolta, Osaka, Japan) cihazı kullanılarak L^* , a^* , b^* değerleri kaydedilmiştir. ' L^* ' değeri parlaklığı (beyazlık veya açıklık koyuluk, 0 ile 100 arası); '+ a^* ' değeri kırmızı; '- a^* ' değeri yeşil (-60 ile +60 arası); '+ b^* ' değeri sarı ve '- b^* ' değeri mavi renkleri (-60 ile +60 arası) temsil etmektedir. Her grup için 2 tekerrür alınmıştır ve her tekerrür 3 defa ölçülmüştür. Analiz öncesinde cihazın kalibrasyonu beyaz plaka ve siyah plaka ile sağlanmıştır ($Y = 87.10$, $x = 0.3166$, $y = 0,3236$). Ölçülen L^* , a^* , b^* değerlerine bağlı olarak aşağıda yer alan formüllere göre beyazlık (Whiteness), renk berraklığı (Chroma), renk tonu (Hue) ve toplam renk değişimi (ΔE^*) değerleri hesaplanmıştır. ΔL^* , Δa^* ve Δb^* değerleri depolanan örneklerin son günü ile ilk günü arasındaki L^* , a^* ve b^* değerlerinin farkını ifade etmektedir.

$$\text{Beyazlık} = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

$$\text{Renk berraklığı} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$\text{Renk tonu} = \text{Arctan}(b^*/a^*)$$

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Balık yağı tozu numunelerinin duyuşal analizleri koku, görünüm ve partikül çaplarındaki farklılıklar göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Analizler

Elde edilen veriler SPSS 15.0 istatistik paket programı kullanılarak varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde Tukey's ve Duncan testi kullanılarak belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Narenciye Esansiyel Yağlarının Özellikleri

EOs kendine özgü renklerinin, ilave edilen mikrokapsüllere olan etkisini incelemek amacıyla bunların renk parametreleri de ölçülmüştür. Çalışmada kullanılan narenciye kabuğu esansiyel yağlarının renk parametreleri Tablo 2 ve Şekil 1'de verilmiştir. L^* , a^* ve b^* değerleri kullanılarak hesaplanan renk beyazlığı (W^*), renk tonu (H^*) ve renk berraklığı (C^*) değerleri ise Şekil 2'de verilmiştir.

Artı değerden eksi değere gidildikçe açık renkten koyu renge dönüşümü, ya da başka bir ifadeyle parlaklığın veya beyazlığın azalmasını ifade eden L^* değerleri incelendiğinde, L^* değeri daha düşük olan mandalina ve greyfurt esansiyel yağlarının portakal ve limon esansiyel yağlarına göre az da olsa daha koyu renkli olduğu ve birbirlerine benzedikleri tespit edilmiştir.

Bunun yanı sıra kırmızıdan (+ a^*) yeşile (- a^*) renk değişimini tanımlayan a^* değerleri incelenmiş ve limon ve greyfurt kabuğu esansiyel yağlarının birbirine benzediği ancak portakal kabuğu EOs bu iki ekstrakta göre daha düşük a^* değeri içerdiği görülmüştür. Mandalina kabuğu EOs ise en yüksek a^* değerine sahip olduğundan kırmızı renge daha yakın olduğu tespit edilmiştir. a^* değerinin sıfıra yakın olması yeşil renge daha yakın olduklarını göstermektedir.

b^* değeri ise artıdan eskiye doğru sarı renkten mavi renge dönüşümünü açıklamak amacıyla kullanılan bir renk skalasıdır. Tüm ekstraktların b^* değerlerinin ise birbirinden farklı olduğu ($p < 0.05$), ancak greyfurt, portakal ve mandalina kabuğu EOs'nın artı değere sahip olmaları ile sarılık değerine daha yakın olduğu,

limon kabuğu EOs'nin ise diğerlerine göre daha az sarımtırak olduğu tespit edilmiştir.

Mikroenkapsüle Hamsi Yağının Duyusal Değişimleri

Mikroenkapsüle hamsi yağı tozu örnekleri birbirlerinden koku, görünüm ve partikül çapları açısından farklılık göstermiştir. Görsel gözlemler, kontrol grubu mikroenkapsüle balık yağı tozlarının

renginin beyaz, portakal ve limon kabuğu esansiyel yağları katkılı mikroenkapsüle balık yağı tozlarının renginin soluk beyaz, mandalina kabuğu esansiyel yağı katkılı mikroenkapsüle balık yağı tozlarının renginin sarımsı ve greyfurt kabuğu esansiyel yağı katkılı mikroenkapsüle balık yağı tozlarının renginin ise şampanya renginde olduğunu göstermiştir.

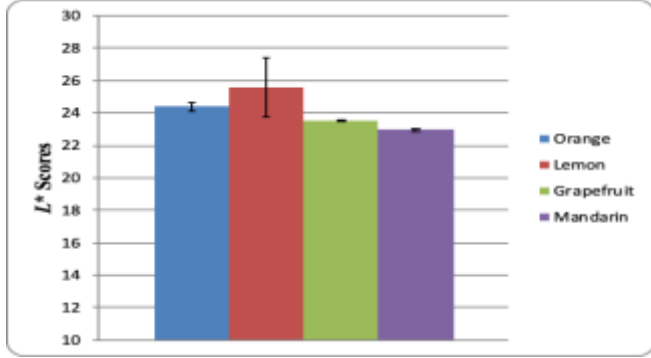
Tablo 2. Narenciye kabuğu esansiyel yağlarının renk parametreleri

Table 2. Color parameters of citrus peel essential oils

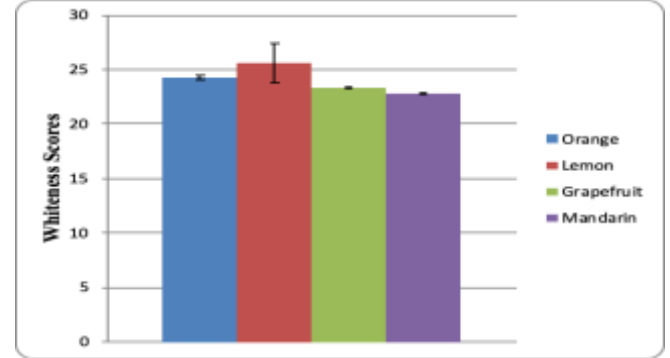
	Portakal <i>Orange</i>	Limon <i>Lemon</i>	Greyfurt <i>Grapefruit</i>	Mandalina <i>Mandarin</i>
L*	24.40±0.26	25.58±1.82	23.53±0.08	22.96±0.11
a*	-1.42±0.01	-0.21±0.06	-0.46±0.04	2.27±0.04
b*	4.13±0.04	0.25±0.07	4.83±0.05	4.33±0.16

± Standart sapmayı göstermektedir. n=3. ± shows standard deviation. n=3.

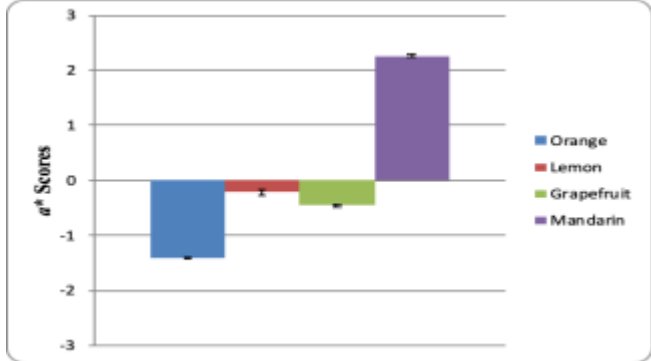
a) L* değerleri a) L* values



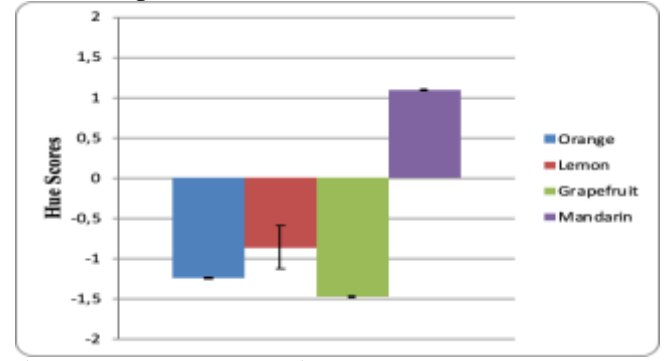
a) Whiteness değerleri a) Whiteness values



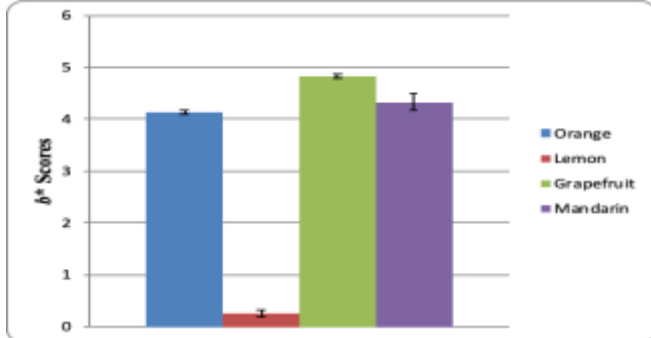
b) a* değerleri b) a* values



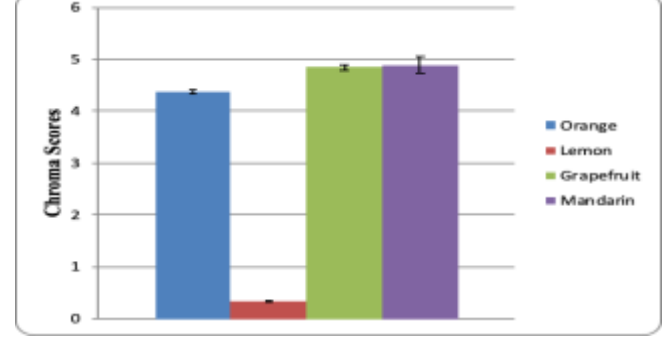
b) Hue değerleri b) Hue values



c) b* değerleri c) b* values



c) Chroma değerleri c) Chroma values



Şekil 1. Narenciye kabuğu esansiyel yağlarının L*, a* ve b* değerleri

Figure 1. L*, a* and b* values of citrus peel essential oils

Şekil 2. Narenciye kabuğu esansiyel yağlarının W*, H* ve C* değerleri

Figure 2. W*, H* and C* values of citrus peel essential oils

Tüm grupların kuru toz numuneleri ince ve pürüzsüz olmakla birlikte depolamanın sonlarına doğru özellikle kontrol grubunda topaklaşma-kümelenme gözlenmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre kontrol grubunda gözlenen balıgımsı kokunun eklenen esansiyel yağlar ile engellendiği ve aromatik kokuların ön plana çıktığı panelistler tarafından tespit edilmiştir. Kullanılan esansiyel yağların aynı zamanda kontrol grubunda depolamanın sonlarına doğru gözlenen acılaşıma kokusunu bastırdığı ve renk sonuçları ile de uyumlu olarak yağların acılaşımasını önlediği dolayısıyla oksidasyonu önlediği sonucuna varılmıştır.

Mikroenkapsüle Hamsi Yağlarının Depolama Süresince Renk Ölçümü ve Toplam Renk Değişimi (ΔE)

Mikroenkapsüle örneklerin, oda koşullarında depolanması esnasında meydana gelen renk değişimleri Tablo 3 ve Şekil 4 ve 5'te gösterilmiştir. Toplam renk değişimi Tablo 4'te grafiği ise Şekil 6'da verilmiştir.

Mikroenkapsülasyonun hemen ardından yapılan ölçümlerde örneklerin L^* değerinin 76.46 - 81.51, a^* değerinin (-2.50) - (-0.52) ve b^* değerinin ise 7.41 - 19.39 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Annamalai, Dushyant ve Gudipati (2015) mikrokapsüllenmiş balık yağının renk değerlerinin L^* için 92 - 93, a^* için (-1.45) - (-1.54) ve b^* için 10 - 22 aralığında olduğunu bildirmiştir. Yeşilsu ve Özyurt (2019) ise L^* değerinin 93.96-98.45 aralığında, a^* değerinin 0.22-0.73 aralığında, b^* değerinin ise 15.41-17.11 aralığında olduğunu rapor etmişlerdir. Depolama süresi ile birlikte genel olarak L^* , renk beyazlığı ve renk tonu değerleri düşüş gösterirken a^* , b^* ve renk berraklığı değerleri dalgalanmalar göstermiştir. Tüm grupların L^* değerlerindeki belirgin bir düşüş, muhtemelen lipid oksidasyonu ve mikrobiyal bozulma nedeniyle ortaya çıkan renk değişimini göstermektedir.

Renk, görünümü ve sunumu etkileyen ve tüketiciler tarafından kabul edilebilirliği ve satın alma kararını belirleyen önemli bir kalite niteliğidir (Şahin ve Sumnu, 2006). Bununla birlikte renk parametreleri arasında açıklık-koyuluk skalasını temsil eden L^* değeri, duyusal olarak tercihi etkileyen en önemli parametreler arasında yer almaktadır. Şekil 4 (a)' da depolama süresince kontrol ve narenciye grubu mikroenkapsüle hamsi yağlarında meydana gelen L^* değeri değişimleri görülmektedir. Depolama süresince L^* değeri tüm gruplarda artış ve azalışlar gösterse de genel olarak bir azalış eğiliminde olmuştur. Depolama süresince gruplar arasında istatistiksel olarak farklılıklar gözlenmiştir. Depolamanın başlangıcında kontrol grubu ile portakal grubu arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmezken bu gruplar ile diğer gruplar arasındaki fark önemli olmuştur ($p>0.05$). Depolama

boyunca koyulaşmanın en fazla fark edildiği grup olarak kontrol (başlangıç: 80.91; 12. hafta: 75.78), en az ise greyfurt örneğinde (başlangıç: 76.46; 12. hafta: 76.94) olduğu tespit edilmiştir. Gıda katkı maddesinin rengi gıdalarda kullanılabilirlikte önemli bir faktör olarak kabul edilir. Katkının rengi baskın olmamalı ve eklendiği yiyeceklerle uyumlu olmalıdır. Çalışmadaki tüm grupların L^* değerleri depolamanın sonuna kadar açık renkte olmuştur (en düşük değer 76.46).

Zamora ve Hidalgo (2005), lipid oksidasyon ürünlerinin kahverengi renkli oksipolimerler üretmek için polimerize olabileceğini ve bu polimerizasyon reaksiyonlarının, tozlarda oksidasyon oranlarını etkileyebilecek ve önemli renk değişimine neden olabilecek serbest radikallerin etkisizleşmesine yol açabileceğini bildirmiştir. Benzer şekilde, bu çalışmada da lipid oksidasyonundaki artışa paralel olarak renk değerlerinde de önemli değişiklikler gözlenmiştir.

Artıdan eksiye doğru, kırmızıdan yeşile olan değişimini ifade eden a^* değeri bakımından mikroenkapsülasyonun hemen ardından örnekler arasında birbiri ile istatistiksel benzerlikler olduğu görülmüştür (kontrol: 0.52 ve greyfurt: -0.53). Tüm grupların a^* değerleri birbirine yakın olarak gözlenirken mandalina kabuğu esansiyel yağ katkılı mikroenkapsüle hamsi yağları daha yeşilimsi bir skalada olmuştur (Şekil 4b). Depolama boyunca kırmızılık değeri en az değişen grup greyfurt (başlangıç:-0.53; 12. hafta: -0.33) olmuştur. Depolama sonuna doğru ise kırmızıdan yeşile dönüşümü en fazla olan gruplar sırasıyla portakal (başlangıç: -0.71; 12. hafta: -1.16), kontrol (başlangıç: -0.52; 12. hafta: -0.94) ve limon (başlangıç: -0.65; 12. hafta: -0.88) gruplarında gözlenirken; yeşilden kırmızıya dönüşümleri en fazla olan gruplar ise sırasıyla mandalina (başlangıç: -2.50; 12. hafta: -1.51) ve greyfurt (başlangıç: -0.53; 12. hafta: -0.33) grupları olmuştur. Yapılan birçok çalışmada araştırmacılar su ürünlerinden elde edilen ürünlerin kalitesinin artırılması yönünde ilave edilen izolat veya konsantre katkı maddelerinin a^* değerinde farklılıklara yol açabileceğini belirtilmişlerdir (Huang ve ark., 1994; Calder, 2003).

Sarıdan (+) maviye (-) olan renk döngüsünü ifade eden b^* değeri açısından bakıldığında ise depolama boyunca örneklerde de istatistiksel olarak değişimler olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Oda sıcaklığında depolanmış örneklerin mandalina grubu dışındaki tüm gruplarda b^* değerinin nispeten arttığı gözlenmiştir (Şekil 4c). Depolamanın 1., 2. ve 12. haftasında kontrol ile portakal grubu arasında istatistiksel açıdan farklılık gözlenmezken, $24\pm 2^\circ\text{C}$ 'de 12 haftalık depolama sonunda diğer grupların b^* değerlerinin istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu görülmüştür.

Tablo 3. Mikroenkapsüle hamsi yağlarının depolama süresince renk parametreleri değerleri
 Table 3. Color parameters of microencapsulated anchovy oils during storage

Renk Parametreleri Color Parameters	Haftalar Weeks											Gruplar Groups
	1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
L*	80.91±0.01 ^{ab}	80.31±0.01 ^{ab}	80.73±0.00 ^b	80.79±0.00 ^a	80.37±0.02 ^a	78.67±0.15 ^a	77.37±0.04 ^{ab}	77.79±1.06 ^b	77.23±0.16 ^b	78.24±0.04 ^b	75.78±0.05 ^{bc}	Kontrol
	79.95±0.12 ^{ab}	78.31±0.22 ^{cd}	78.30±0.21 ^d	78.36±0.01 ^c	78.39±0.25 ^b	76.31±0.05 ^b	76.86±1.03 ^{bc}	80.28±0.11 ^a	79.79±0.14 ^a	79.37±0.31 ^a	76.62±0.03 ^{ab}	Kontrol
	81.51±0.21 ^a	81.35±1.11 ^a	82.04±0.06 ^a	79.00±0.27 ^b	74.57±0.64 ^d	75.23±0.21 ^b	76.03±0.34 ^c	78.53±0.13 ^b	77.71±0.07 ^b	76.73±0.16 ^c	77.69±0.56 ^a	Portakal
	76.46±0.15 ^c	79.57±0.02 ^{bc}	77.84±0.05 ^c	78.78±0.01 ^{bc}	77.09±0.01 ^c	75.60±0.76 ^b	78.39±0.03 ^a	75.76±0.04 ^c	77.39±0.33 ^b	73.99±0.25 ^c	76.94±0.13 ^a	Limon
	79.25±0.14 ^b	77.02±0.05 ^d	78.66±0.04 ^a	77.14±0.26 ^d	79.15±0.15 ^b	76.35±0.09 ^b	76.73±0.11 ^{bc}	78.29±0.87 ^b	75.67±0.47 ^c	75.01±0.33 ^d	74.84±0.76 ^c	Greyfurt
a*	-0.52±0.00 ^a	-1.20±0.01 ^b	-0.97±0.00 ^a	-1.10±0.01 ^a	-1.23±0.00 ^a	-1.03±0.01 ^b	-1.06±0.01 ^b	-1.01±0.03 ^b	-0.98±0.00 ^b	-0.95±0.01 ^c	-0.94±0.01 ^c	Kontrol
	-0.71±0.00 ^c	-1.20±0.02 ^b	-1.30±0.01 ^c	-1.17±0.02 ^a	-1.11±0.01 ^b	-0.94±0.01 ^a	-1.04±0.05 ^b	-1.26±0.03 ^c	-1.31±0.01 ^d	-1.09±0.01 ^d	-1.16±0.01 ^d	Kontrol
	-0.65±0.01 ^b	-1.20±0.06 ^b	-1.59±0.01 ^d	-1.35±0.04 ^c	-0.99±0.01 ^a	-1.28±0.02 ^c	-1.08±0.01 ^b	-1.06±0.01 ^b	-1.21±0.03 ^c	-0.90±0.01 ^{bc}	-0.88±0.01 ^b	Portakal
	-0.53±0.01 ^a	-1.04±0.01 ^a	-1.19±0.01 ^b	-1.27±0.03 ^b	-1.32±0.02 ^d	-1.04±0.06 ^b	-0.90±0.01 ^a	-0.54±0.02 ^a	-0.94±0.01 ^a	-0.85±0.06 ^b	-0.33±0.01 ^a	Orange
	-2.50±0.01 ^d	-2.36±0.01 ^c	-2.25±0.00 ^c	-1.28±0.01 ^b	-1.20±0.01 ^c	-1.74±0.01 ^d	-1.03±0.02 ^b	-2.00±0.02 ^d	-0.93±0.00 ^a	-0.68±0.01 ^a	-1.51±0.04 ^c	Limon
b*	7.41±0.01 ^d	11.00±0.00 ^c	10.44±0.01 ^d	11.85±0.01 ^c	12.16±0.01 ^d	14.81±0.04 ^c	13.87±0.00 ^d	15.46±0.28 ^c	12.66±0.03 ^d	16.05±0.01 ^b	13.58±0.01 ^d	Kontrol
	8.22±0.00 ^d	11.07±0.06 ^c	12.82±0.05 ^c	11.35±0.04 ^d	11.08±0.01 ^c	15.03±0.03 ^b	10.52±0.02 ^c	14.97±0.05 ^d	14.24±0.07 ^c	11.68±0.03 ^d	13.65±0.01 ^d	Kontrol
	11.00±0.01 ^c	10.83±0.31 ^c	12.73±0.01 ^c	14.21±0.04 ^c	13.92±0.18 ^c	11.87±0.01 ^d	15.22±0.07 ^c	15.74±0.05 ^c	11.64±0.04 ^c	14.61±0.11 ^c	16.31±0.20 ^c	Portakal
	14.37±0.08 ^b	15.23±0.06 ^b	13.64±0.02 ^b	18.61±0.00 ^a	18.86±0.01 ^a	14.96±0.09 ^b	16.63±0.02 ^a	16.67±0.05 ^b	17.94±0.18 ^a	17.19±0.26 ^a	19.52±0.03 ^a	Orange
	19.39±0.08 ^a	20.01±0.00 ^a	20.57±0.05 ^a	15.22±0.04 ^b	15.51±0.05 ^b	20.06±0.06 ^a	15.87±0.02 ^b	19.11±0.24 ^a	17.34±0.15 ^b	16.88±0.05 ^a	18.87±0.25 ^b	Limon
w*	76.69±0.00 ^c	77.41±0.01 ^b	78.06±0.00 ^a	78.25±0.01 ^a	76.87±0.01 ^a	74.01±0.10 ^a	73.43±0.03 ^b	72.91±0.71 ^b	73.93±0.12 ^b	72.94±0.03 ^b	72.21±0.04 ^b	Kontrol
	78.31±0.11 ^b	75.61±0.17 ^c	74.76±0.20 ^b	75.54±0.00 ^b	75.69±0.23 ^b	71.92±0.06 ^b	74.56±0.94 ^a	75.21±0.06 ^a	75.24±0.08 ^a	76.27±0.26 ^a	72.90±0.03 ^a	Kontrol
	79.85±0.20 ^a	78.39±0.80 ^a	77.93±0.06 ^a	74.61±0.20 ^c	70.99±0.47 ^d	73.90±0.17 ^a	71.59±0.25 ^c	73.36±0.08 ^b	74.83±0.08 ^a	72.51±0.07 ^b	72.34±0.33 ^{ab}	Portakal
	72.41±0.09 ^d	74.50±0.05 ^d	73.95±0.05 ^c	71.74±0.00 ^c	70.30±0.01 ^c	71.36±0.60 ^b	72.72±0.01 ^{bc}	70.58±0.06 ^c	71.12±0.14 ^c	68.81±0.07 ^d	69.79±0.08 ^c	Orange
	71.49±0.05 ^e	69.43±0.04 ^e	70.27±0.01 ^d	72.50±0.19 ^d	73.98±0.09 ^c	68.94±0.03 ^c	71.81±0.07 ^c	71.00±0.81 ^c	70.11±0.30 ^d	69.84±0.30 ^c	68.51±0.46 ^d	Limon
H*	-1.50±0.00 ^a	-1.46±0.00 ^a	-1.48±0.00 ^a	-1.48±0.00 ^b	-1.47±0.00 ^a	-1.50±0.00 ^a	-1.49±0.00 ^b	-1.51±0.00 ^a	-1.49±0.00 ^a	-1.51±0.00 ^a	-1.50±0.00 ^a	Kontrol
	-1.48±0.00 ^a	-1.46±0.00 ^a	-1.47±0.00 ^a	-1.47±0.00 ^a	-1.47±0.00 ^a	-1.51±0.00 ^a	-1.47±0.00 ^a	-1.49±0.00 ^a	-1.48±0.00 ^a	-1.48±0.00 ^a	-1.49±0.00 ^a	Kontrol
	-1.49±0.00 ^a	-1.46±0.00 ^a	-1.45±0.00 ^a	-1.48±0.00 ^{ab}	-1.50±0.00 ^a	-1.46±0.00 ^a	-1.50±0.00 ^{bc}	-1.50±0.00 ^a	-1.47±0.00 ^a	-1.51±0.00 ^a	-1.52±0.00 ^a	Portakal
	-1.53±0.00 ^a	-1.50±0.00 ^a	-1.48±0.00 ^a	-1.50±0.00 ^d	-1.50±0.00 ^a	-1.50±0.00 ^a	-1.52±0.00 ^d	-1.54±0.00 ^a	-1.52±0.00 ^a	-1.52±0.00 ^a	-1.55±0.00 ^a	Limon
	-1.44±0.00 ^a	-1.45±0.00 ^a	-1.46±0.00 ^a	-1.49±0.00 ^c	-1.49±0.00 ^a	-1.48±0.00 ^a	-1.51±0.00 ^{cd}	-1.47±0.00 ^a	-1.52±0.00 ^a	-1.53±0.00 ^a	-1.49±0.00 ^a	Greyfurt
C*	7.42±0.01 ^c	11.06±0.00 ^c	10.48±0.01 ^d	11.90±0.02 ^d	12.22±0.01 ^d	14.85±0.04 ^c	13.91±0.00 ^d	15.49±0.28 ^c	12.70±0.03 ^d	16.08±0.01 ^b	13.61±0.01 ^d	Kontrol
	8.25±0.00 ^c	11.13±0.06 ^c	12.88±0.05 ^c	11.40±0.04 ^c	11.14±0.01 ^c	15.06±0.03 ^b	10.57±0.02 ^c	15.02±0.05 ^d	14.30±0.07 ^c	11.73±0.03 ^d	13.69±0.01 ^d	Kontrol
	8.02±0.01 ^d	10.90±0.32 ^c	12.83±0.02 ^c	14.27±0.04 ^c	13.95±0.18 ^c	11.94±0.02 ^d	15.26±0.07 ^c	15.77±0.05 ^c	11.70±0.03 ^c	14.63±0.11 ^c	16.33±0.20 ^c	Portakal
	14.37±0.08 ^b	15.26±0.06 ^b	13.69±0.02 ^b	18.65±0.00 ^a	18.90±0.01 ^a	14.99±0.09 ^b	16.65±0.02 ^a	16.67±0.05 ^b	17.96±0.18 ^a	17.21±0.26 ^a	19.52±0.03 ^a	Orange
	19.54±0.08 ^a	20.15±0.00 ^a	20.69±0.05 ^a	15.27±0.04 ^b	15.55±0.05 ^b	20.13±0.06 ^a	15.90±0.02 ^b	19.21±0.24 ^a	17.36±0.15 ^b	16.89±0.05 ^a	18.93±0.26 ^b	Limon



Şekil 3. Narenciye esansiyel yağları katkılı mikroenkapsüle hamsi yağları

Figure 3. Microencapsulated anchovy oils with added citrus essential oils

Li ve ark. (2015), 1000 ppm yaban mersini ekstraktı kullanarak enkapsüle ettikleri balık yağlarının L^* değerlerinin (66.9) ekstrakt kullanılmayan gruptan (89.46) oldukça düşük olduğunu, ekstrakt ilaveli grupta a^* değerlerinin daha yüksek olduğunu (1,64; -0,86) ve b^* değerlerinin ise daha düşük olduğunu (-2,07; 4,92) bildirmişlerdir. Araştırmacılar ekstrakt içeren örneklerin daha yüksek kırmızılık (yüksek a^* değeri) içermesinin yaban mersini ekstraktında bulunan antosiyaninlerden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise mikroenkapsülasyonun hemen ardından örneklerin a^* değerinin 0' ın altında olduğu görülmüştür (Tablo 2). Bu duruma çalışmada kullanılan narenciye kabuğu esansiyel yağlarının yeşilimsi renge daha yakın olmalarının neden olduğu düşünülmektedir.

Drusch ve ark. (2006) mikroenkapsüle edilmiş balık yağı örneklerinin başlangıç L^* , a^* , b^* değerlerinin sırasıyla 94,4, -0,77 ve 3,21 olduğunu, 20°C'de 18 günlük bir depolama sonunda örneklerin L^* değerlerinin 94,7 ile 95,6 arasında, a^* değerlerinin -1,12 ile -1,49 arasında, b^* değerlerinin de 4,11 ile 5,47 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar aynı süre boyunca 40°C'de 18 günlük bir depolama sonunda örneklerin L^* değerlerinin 85,9 ile 93,7 arasında, a^* değerlerinin -1,51 ile -2,17 arasında, b^* değerlerinin de 6,56 ile 20,92 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra, artan nisbi nemde depoladıkları ürünlerinin yüksek nisbi nemde b^* değerlerinin yüksek olmasına toz ürünlerdeki kekleşme ve toplanmaların neden olduğunu belirtmişlerdir. Binsi ve ark. (2017) 60°C'de 7 gün depoladıkları adaçayı polifenolü ile mikroenkapsüle ettikleri balık yağı örneklerinin depolama sonunda kontrol örneğine göre; L^* değerlerinin daha yüksek olduğunu, a^* ve b^* değerlerinin de daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada da 24±2°C'de depolanan mikroenkapsüle örneklerin parlaklık değerlerinin kontrol grubundan genel olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Yeşilsu ve Özyurt (2019), biberiye ve kekik ekstraktı ilaveli mikroenkapsüle balık yağı örneklerinin hemen ardından yapılan ölçümlerde örneklerin L^* değerinin 93,96-98,45 aralığında, a^* değerinin 0,22-0,73 aralığında ve b^* değerinin ise 15,41-17,11 aralığında değiştiğini; 23°C'de depolanan örneklerde 30 gün süreli depolama sonunda örneklerin L^* değerinin 91,70-95,05 arasında, a^* değerinin (-1,79)-(0,58) arasında, b^* değerinin ise 16,83-26,16 arasında değiştiğini, 40°C'de 10 gün süreli depolama sonunda örneklerin L^* değerinin 90,34-93,24 arasında, a^* değerinin -1,29-1,55 arasında, b^* değerinin ise 19,54-29,65 arasında değiştiğini ve 60°C'de depolanan örneklerde depolama sonunda L^* değerinin 87,55-91,69 arasında, a^* değerinin 0,47-3,69 arasında, b^* değerinin ise 24,45-31,34 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde yapmış olduğumuz çalışma neticesinde esansiyel yağ ilaveli grupların renk değerlerinin kontrol grubundan daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir.

Renk beyazlığı (W^*) ve renk tonu (H^*) değerlerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel farklar olduğu ($p>0,05$) görülmüştür. Depolama süresince renk beyazlığı ve tonu değerlerinde artma ve azalmalar gözlenmişse de genel olarak depolamanın sonuna doğru azalma gözlenmiştir (Şekil 5a ve 5b). Depolamanın başlangıcında 71,49-79,85 aralığında olan renk beyazlığı değerleri depolamanın sonunda 68,51-72,90 değerlerine düşmüştür. Renk tonu değerleri ise depolama süresince çok fazla değişiklik göstermeden (-1,55) - (-1,44) aralığında olmuştur. Ürünün renginin beyazlığı tüketici algısını etkilediğinden dolayı en az beyazlık azalması greylift ve mandalina gruplarında gözlenmiştir. Renk berraklığı değerlerine bakıldığı zaman mandalina grubu haricindeki diğer tüm gruplarda artış gözlenmiştir (Şekil 5c). Depolamanın son gününde en yüksek renk beyazlığı değeri portakal grubunda (72,90) gözlenmesine karşın en düşük değer mandalina katkılı grupta (68,51) gözlenmiştir. Renk berraklığı değerlerine bakıldığında tüm gruplarda depolama süresi ile birlikte dalgalanmalar gözlenmiştir. En kararsız grup olan kontrol grubunda oksidasyona bağlı olduğu düşünülerek bu dalgalanmalar daha belirgin hissedilmiştir. Ancak muamele gruplarında daha az dalgalanmalar gözlenmesi muhtemelen kullanılan esansiyel yağların koruyucu özelliklerinden olduğu yönündedir.

Gruplar arasında toplam renk değişimi (ΔE) en yüksek kontrol grubunda (8,04) en düşük ise mandalina kabuğu esansiyel yağı ilave edilmiş grupta (4,55) gözlenmiştir (Tablo 4).

Narenciye grupları arasında ise en fazla renk değişim farkı gözlenen grup limon olurken en az değişim farkı olan grup mandalina olmuştur. Dolayısıyla mandalina kabuğu esansiyel yağı ile hazırlanan mikroenkapsüle hamsi yağlarının renginin korunmasında mandalina

kabuğu esansiyel yağının daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 6).

Chen ve ark. (2013), 45°C'de 7 gün depoladıkları mikroenkapsüle fitosterol ve limonen içeren balık yağı örneklerinin ΔE değerinin 11.6 olduğunu

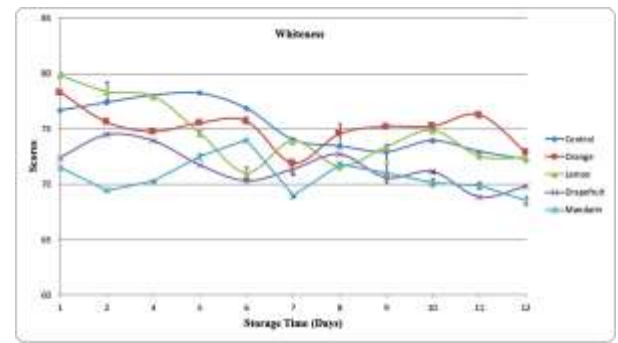
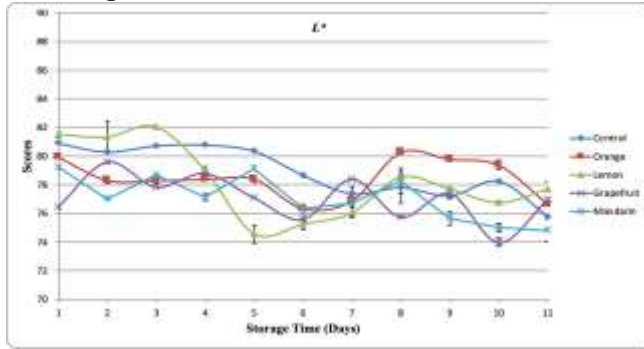
bildirmişlerdir. Intarasirisawat ve ark., (2015) ise tannik asit içeren mikrokapsüllerin 30°C'de 4 hafta depolanması sonucunda toplam renk değişimi değerlerinin 11.06 ile 25.12 arasında değiştiği bildirilmiştir. Yeşilsu ve Özyurt (2019) defne, biberiye

Tablo 4. Depolama boyunca mikrokapsüle hamsi yağlarında meydana gelen toplam renk değişimi

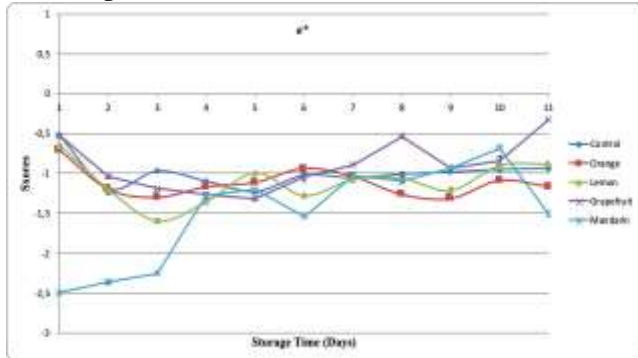
Table 4. Total color changes in microcapsulated anchovy oils during storage

Gruplar (Groups)	ΔL	Δa	Δb	ΔE
Kontrol (Control)	5.13	0.42	-6.18	8.04
Portakal (Orange)	3.32	0.45	-5.43	6.38
Limon (Lemon)	3.82	0.24	-5.32	6.55
Greyfurt (Grapefruit)	-0.48	0.21	-5.16	5.18
Mandalina (Mandarin)	4.41	-0.99	0.51	4.55

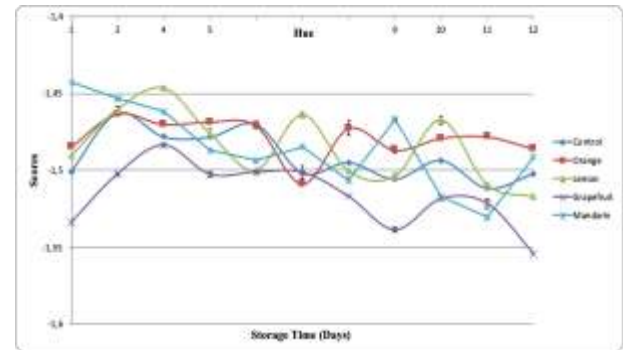
a) L^* değerleri a) L^* values



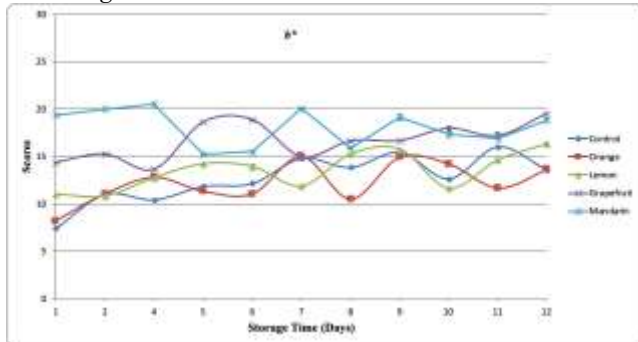
b) a^* değerleri b) a^* values



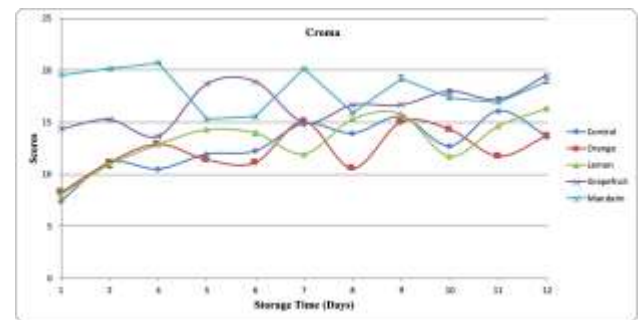
b) Hue değerleri b) Hue values



c) b^* değerleri c) b^* values



c) Chroma değerleri c) Chroma values



Şekil 4. Mikrokapsüle hamsi yağlarının depolama süresince L^* , a^* ve b^* değerleri

Figure 4. L^* , a^* and b^* values of microcapsulated anchovy oil during storage

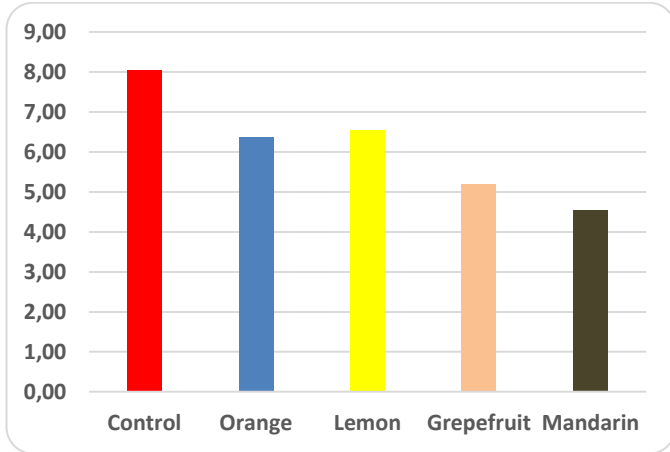
a) Whiteness değerleri a) Whiteness values

Şekil 5. Mikrokapsüle hamsi yağlarının depolama süresince W^* , H^* ve C^* değerleri

Figure 5. W^* , H^* and C^* values of microcapsulated anchovy oil during storage

ve kekik ekstraktı ilaveli mikroenkapsüle hamsi yağlarının 23 ve 40 °C'lerde en yüksek renk değişiminin antioksidan ilave edilmeyen kontrol örneğinde olduğunu, en düşük renk değişiminin ise 1500 ppm biberiye ekstraktı ilave edilen grupta olduğunu bildirmiştir. 60°C'de ise diğer sıcaklıklardan farklı olarak en yüksek toplam renk değişiminin 1000 ppm kekik ekstraktı ilave edilen grupta olduğu, en az renk değişiminin ise yine 1500 ppm biberiye ekstraktı ilave edilen grupta olduğunu bildirmişlerdir.

Genel olarak bakıldığında esansiyel yağ ilavesinin mikrokapsüllerin oda sıcaklığında depolanması sırasında kontrol gruba kıyasla rengin korunmasında etkili olduğu gözlenmiştir. Bu durum kontrol grubu balık yağı tozlarının aroma oluşumuna yol açan oksidasyona çok duyarlı olduğunu göstermiştir. Esansiyel yağ eklenen mikroenkapsüle grupları arasında ise en az renk değişimi limon katkılı grupta en fazla değişimin ise mandalina katkılı grupta olduğu gözlenmiştir.



Şekil 6. Depolama boyunca mikrokapsüle hamsi yağlarında gözlenen toplam renk değişimleri (ΔE)

Figure 6. Total color changes in microcapsulated anchovy oils during storage (ΔE)

Biberiye yapraklarından ekstrakte edilen farklı oranlardaki (0.1, 0.2 ve 0.3 mg/g) karnosik asidin balık yağının oksidatif kararlılığı üzerine etkisini inceleyen Wang ve ark. (2011) örnekleri uzun dönem depolamada sentetik antioksidanlar (E vitamini ve TBHQ) ile mukayese etmişlerdir. Örnekleri farklı sıcaklıklarda (30°C ve 4°C) 66 gün boyunca depolanan araştırmacılar, her bir dozun lipid oksidasyonunu geciktirmede başarılı olurken; bunların her birinin 0.2 mg/g oranında E vitamininden daha yüksek ancak 0.2 mg/g oranındaki TBHQ'den daha düşük bir antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Balık yağının oksidatif kararlılığı üzerine defne bitkisi ve ekstraktı ilavesinin (50 ve 100 µL) etkisini inceleyen Dropulic ve ark. (2017), acılaştırma testi ile elde ettikleri sonuçlara göre defne bitkisi ilavesinin boyutu ve

miktarına bağlı olarak yağın oksidatif kararlılığını arttırdığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar aynı etkinin ekstrakt ilavesi ile de sağlandığını ancak ekstrakt miktarı arttıkça balık yağındaki oksidasyonun hızlandığını bildirmişlerdir. Araştırmacıların bildirdiği bu çalışmalara benzer olarak kullanmış olduğumuz narenciye kabuğu esansiyel yağların hamsi yağı mikroenkapsülasyonlarında oldukça iyi koruma sağladığı ve tüketimi açısından daha tercih edilebilir forma dönüştüğü yönünde olmuştur.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmanın temel sonucu olarak, spreyle kurutma yoluyla ve esansiyel yağ ilavesiyle mikrokapsüllemenin balık yağı duyu kalitesinde güçlü değişiklikler yarattığı yönündedir. Mikrokapsüllemiş balık yağı tozlarının kararlı olmayışı ve oksijen varlığında hızla okside olmasından dolayı antioksidan özellik gösteren doğal maddeler mevcudiyetinde depolandığında stabilitesi artırılabilir.

TEŞEKKÜR

Çalışmada emeği geçen Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İşleme Teknolojisi Bölüm öğretim üye ve elemanlarına teşekkür ederim.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKÇA

- Álvarez A, García García B, Jordán MJ, Martínez-Conesa C, Hernández MD 2012. The effect of diets supplemented with thyme essential oils and rosemary extract on the deterioration of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during storage on ice. Food Chemistry, 132(3):1395-1405.
- Annamalai J, Dushyant CK, Gudipati V 2015. Oxidative stability of microencapsulated fish oil during refrigerated storage. Journal of food processing and preservation, 39(6):1944-1955.
- Barroso AKM, Pierucci APTR, Freitas SP, Torres AG, Rocha-Leão MHMD 2014. Oxidative stability and sensory evaluation of microencapsulated flaxseed oil. Journal of microencapsulation, 31(2):193-201.
- Bhandari B 2004. Spray drying – An encapsulation technique for food flavors. In: Mujumdar AS, ed. Dehydration of products of biological origin. Enfield, US: Science Publishers, pp. 513-33.
- Binsi PK, Nayak N, Sarkar PC, Jeyakumari A, Ashraf PM, Ninan G, Ravishankar CN 2017. Structural

- and oxidative stabilization of spray dried fish oil microencapsulates with gum arabic and sage polyphenols: Characterization and release kinetics. *Food Chemistry*, 219:158-168.
- Botrel DA, Borges SV, Fernandes RV, de B, Antoniassi R, de Faria-Machado AF, Feitosa JP, de A, de Paula RCM 2017. Application of cashew tree gum on the production and stability of spray-dried fish oil. *Food Chemistry*, 221:1522–1529.
- Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Jovin E 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis*) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (19):7879–7885.
- Calder BL 2003. The Use of polyphosphates to maintain yield and quality of whole cooked, cryogenically frozen lobster (*Homarus americanus*) and the use of sorbitol and tocopherol to maintain quality of whole cooked, 125 cryogenically frozen crab (*Cancer irroratus*). The University of Maine, PhD Thesis, USA.
- Ceylan Z, Meral R, Cavidoglu I, Yagmur Karakas C, Tahsin Yilmaz M 2018. A new application on fatty acid stability of fish fillets: Coating with probiotic bacteria-loaded polymer-based characterized nanofibers. *Journal of Food Safety*, 38(6):e12547.
- Çakmakçı S, Tahmas-Kahyaoğlu D 2012. Yağ asitlerinin sağlık ve beslenme üzerine etkilerine genel bir bakış. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*.
- Chen Q, Zhong F, Wen J, Mcgillivray D, Quek SY 2013. Properties and stability of spray-dried and freeze-dried microcapsules co-encapsulated with fish oil, phytosterol esters, and limonene. *Drying Technology*, 31(6): 707-716
- Dropulić AM, Zelenika A, Pervan I, Šimat V, Skroza D, Mekinić IG 2017. The effect of the addition of laurel extract and plant material on fish oil oxidative stability. In *10th International Scientific and Professional Conference "With Food to Health"*
- Drusch S, Serfert Y, Schwarz K 2006. Microencapsulation of fish oil with n-octenylsuccinate-derivatised starch: flow properties and oxidative stability. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108: 501-512.
- Durmuş M 2018. Fish oil for human health: Omega-3 fatty acid profiles of marine seafood species. *Food Science and Technology*, (AHEAD).
- Durmuş M, Ozogul Y, Köşker AR, Ucar Y, Boğa EK, Ceylan Z, Ozogul F 2019. The function of nanoemulsion on preservation of rainbow trout fillet. *Journal of Food Science and Technology*, 1-10.
- Ghabraie M, Vu KD, Tata L, Salmieri S, Lacroix M 2016. Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat. *LWT-Food Science and Technology*, 66:332-339.
- Gokoglu N, Topuz OK, Yerlikaya P 2009. Effects of pomegranate sauce on quality of marinated anchovy during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology (Lebensmittel-Wissenschaft Technol.)* 42 (1):113–118.
- Hogan SA, McNamee BF, O'Riordan ED, O'Sullivan M 2001. Microencapsulating properties of sodium caseinate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (4):1934–1938.
- Hogan SA, O'rordan ED, O'sullivan M 2003. Microencapsulation and oxidative stability of spray-dried fish oil emulsions. *Journal of Microencapsulation*, 20(5):675-688.
- Huang YW, Lovell RT, Dunham RA 1994. Carcass characteristics of channel and hybrid catfish, and quality changes during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 59(1):64-66.
- Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3:12.
- Intarasirisawat R, Benjakul S, Vissessanguan W, Maqsood S, Osako K 2015. Skipjack roe protein hydrolysate combined with tannic acid increases the stability of fish oil upon microencapsulation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(5):646-656.
- Jafari SM, Assadpoor E, Bhandari B, He Y 2008. Nanoparticle encapsulation of fish oil by spray drying. *Food Research International*, 41(2):172-183.
- Jayasena DD, Jo C 2013. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 34(2):96-108.
- Joe MM, Chauhan PS, Bradeeba K, Shagol C, Sivakumaar PK, Sa T 2012. Influence of sunflower oil based nanoemulsion (AUSN-4) on the shelf life and quality of Indo-Pacific king mackerel (*Scomberomorus guttatus*) steaks stored at 20°C. *Food Control*, 23(2):564-570.
- Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Raucha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10):3954–3962.
- Kinsella JE, Morr CV 1984. Milk proteins: physicochemical and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 21(3):197–262.
- Krishnan S, Kshirsagar AC, Singhal RS 2005. The use of gum Arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. *Carbohydrate Polymers*, 62:309–15.
- Leman J, Kinsella JE, Kilara A 1989. Surface activity, film formation, and emulsi- fying properties of milk proteins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28 (2):115–138.

- Li J, Solval KM, Alfaro L, Zhang J, Chotiko A, Delgado JLB, Chouljenko A, Bankston D, Bechtel PJ, Sathivel S 2015. Effect of blueberry extract from blueberry pomace on the microencapsulated fish oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(2):199-206.
- Mahmoud BS, Yamazaki K, Miyashita K, Shin II, Suzuki T 2006. A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. *Food Chemistry*, 99(4):656-662.
- Ozogul Y, Durmus M, Uçar Y, Köşker AR, Ozogul F 2017a. The combined impact of nanoemulsion based on commercial oils and vacuum packing on the fatty acid profiles of sea bass fillets. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6).
- Ozogul Y, Yuvka I, Ucar Y, Durmus M, Köşker AR, Öz M, Ozogul F 2017b. Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *LWT - Food Science and Technology (Lebensmittel-Wissenschaft-Technol.)* 75:677-684.
- Ozogul Y, Ucar Y, Takadaş F, Durmus M, Köşker AR, Polat A 2018. Comparison of green and conventional extraction methods on lipid yield and fatty acid profiles of fish species. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(12):1800107.
- Özyurt G, Şimşek A, Etyemez M, Polat A 2013. Fatty acid composition and oxidative stability of fish oil products in Turkish retail market. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 22(3):322-329.
- Pourashouri P, Shabanpour B, Hashem Abad ZN, Zahiri S 2016. Antioxidant effects of wild pistacia (*P. Atlantica*), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and green tea extracts on the lipid oxidation rate of fish oil-in-water emulsions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16(3):651-657.
- Randazzo W, Jiménez-Belenguer A, Settanni L, Perdonés A, Moschetti M, Palazzolo E, ... Moschetti G 2016. Antilisterial effect of citrus essential oils and their performance in edible film formulations. *Food Control*, 59:750-758.
- Rao BM, Jesmi D, Viji P 2017. Chilled storage of *Pangasianodon hypophthalmus* fillets coated with plant oil incorporated alginate gels: Effect of clove leaf, clove bud, ro- semary and thyme oils. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 8850 (February).
- Reineccius GA 2004. The spray drying of food flavors. *Drying Technology*, 22:1289-324.
- Risch SJ, Reineccius GAA. 1988. Flavor encapsulation. ACS Symposium Series 370. Washington, DC: American Chemical Society.
- Sanguansri L, Augustin MA. 2006. Microencapsulation and delivery of omega- 3 fatty acids. In: Shi J, ed. *Functional food ingredients and nutraceuticals: Processing technologies*. Florida: Taylor & Francis Group, pp. 297-327.
- Şahin S, Sumnu SG 2006. *Physical properties of food*. New York: Springer Science and Business Media, LLC.
- Tatar F, Kahyaoglu T 2014. Microencapsulation of anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) oil: Emulsion characterization and optimization by response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 29(6):624-633.
- Wang H, Liu F, Yang L, Zu Y, Wang H, Qu S, Zhang Y 2011. Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage. *Food Chemistry*, 128(1):93-99.
- Yeşilsu AF, Özyurt G 2019. Oxidative stability of microencapsulated fish oil with rosemary, thyme and laurel extracts: A kinetic assessment. *Journal of Food Engineering*, 240:171-182.
- Yu F, Li Z, Zhang T, Wei Y, Xue Y, Xue C 2017. Influence of encapsulation techniques on the structure, physical properties, and thermal stability of fish oil microcapsules by spray drying. *Journal of Food Process Engineering*, 40(6).
- Zamora R, Hidalgo FJ 2005. Coordinate contribution of lipid oxidation and Maillard reaction to the nonenzymatic food browning. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(1):49-59



Improving Nutritional Qualities of Tomato Pomace by *Pleurotus ostreatus* and *Phanerochaete chrysosporium* Fermentation

Sulhattin YASAR¹, Ramazan TOSUN^{2*}

¹Karamanoglu Mehmetbey University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Karaman, ²Iğdır University, Faculty of Agriculture Department of Animal Science, 76000, Iğdır-Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-9334-1303>, ²<https://orcid.org/0000-0002-8209-6362>

✉: ramazantosun68@gmail.com

ABSTRACT

In this study, it was aimed to improve nutrient quality by fermenting tomato pomace with *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*) and *Phanerochaete chrysosporium* (*P. chrysosporium*). Tomato pomace was incubated for 21 days at optimized conditions of pH (3.50-5.50), temperature (24-28 °C), moisture content (68% w w-1), aeration (0,25 L min⁻¹) and stirring rates (10 rpm). Three samples taken at each incubation time were chemically analyzed. The results indicated that fermentation with *P. ostreatus* and *P. chrysosporium* significantly increased ash content by 25 and 21%, crude protein content by 16 and 30%, respectively (P<0.05). Fermentation with *P. ostreatus* decreased ether extract content from 7.22% to 0.29% at 21th day (P<0.05). However, there was an increase of ether extract content with *P. chrysosporium* fermentation (from 7.22 to 11.62% at 21 day) (P<0.05). Crude fiber of tomato pomace with *P. chrysosporium* were reduced by 64% (P<0.05). Both fungal fermentations reduced total reducing sugar content by about 30% (P<0.05). Fermentation with *P. ostreatus* and *P. chrysosporium* significantly changed tannin and pectin levels (P<0.05). As a result, fungal fermentation caused to nutritionally enriched tomato pomace with added active compounds, and could be used as functional feed in animal nutrition.

Research Article

Article History

Received : 25.05.2019
Accepted : 31.10.2019

Keywords

Functional feed
Phanerochaete chrysosporium
Pleurotus ostreatus
Solid state fermentation
Tomato pomace

Domates Posasının *Pleurotus ostreatus* ve *Phanerochaete chrysosporium* Fermentasyonu ile Besleyici Değerinin Artırılması

ÖZET

Bu çalışmada, domates posasını *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*) ve *Phanerochaete chrysosporium* (*P. chrysosporium*) ile fermente ederek besin madde kalitesini artırmak amaçlanmıştır. Domates posası, optimize edilmiş pH (3.50-5.50), sıcaklık (24-28 °C), nem içeriği (%68), havalandırma (0.25 L dk⁻¹) ve karıştırma hızı (10 rpm) koşullarında 21 gün inkubasyona bırakılmıştır. Fungal fermentasyon sonuçlarına göre ham kül içeriği %21-25 oranında ve ham protein içeriği ise %16-30 oranında artmıştır (P<0.05). *P. ostreatus* ile fermentasyonda, 21. günde ham yağ içeriği %7.22'den %0.29'a önemli derecede azalmıştır (P<0.05). Ancak ham yağ içeriği *P. chrysosporium* ile yürütülen fermentasyonda artmıştır (%7.22'den %11.62'e kadar artış) (P<0.05). *P. chrysosporium* ile yürütülen fermentasyonda ham selüloz içeriği yaklaşık %64 oranında azalmıştır (P<0.05). Domates posasının her iki fungal fermentasyonunda da toplam redükte şeker içeriği yaklaşık %30'a kadar düşmüştür (P<0.05). Tanin ve pektin içeriği her iki fungal fermentasyonunda da önemli derecede değişmiştir (P<0.05). Sonuç olarak, fungal fermentasyonu domates posasının besleyici değerinin artmasına, biyolojik olarak fonksiyonel bileşiklerin oluşmasına sebep olmuştur.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 25.05.2019
Kabul Tarihi : 31.10.2019

Anahtar Kelimeler

İşlevsel yem
Phanerochaete chrysosporium
Pleurotus ostreatus
Katı faz fermentasyon
Domates posası

INTRODUCTION

Recently, there has been an increasing demand on the utilisation of agro-industrial waste products causing environmental pollution to a greater extent. Tomato pomace is a by-product of tomato processing industry, and composed of tomato skin, seed and pulp. The world's annual tomato waste production reaches up to 11 million ton per year including 4 million tons of tomato pomace (FAO, 2016). Tomato pomace contains appreciable amount of proteins, lipids, carbohydrates, amino acids, carotenoids and minerals (Frexio et al., 2012; Liu et al., 2013; Ergun and Urek, 2017; Waldbauer et al., 2017; Ulker et al., 2018). It has mainly been used as feed material or soil fertilizer (Knoblich et al., 2015; Bennamoun et al., 2016). Tomato pomace can directly be fed to ruminant animals as fresh or dried forms and as a part of silage at appreciable amounts. The ruminant animals can easily utilize from the nutrients of tomato pomace as a result of microbial digestion of the rumen (Weiss et al., 1997; Mirzaei-Aghsaghali and Maheri-Sis, 2008; Ziaei and Molaei, 2010; Abdollahzadeh et al., 2010). In contrary, poultry species can not completely utilize from tomato pomace so as to ruminant animals since the digestive tract of most of the poultry species, especially young growing birds, do not sufficiently secrete specific enzymes degrading the nutrients such as crude fibre (CF), tannin and pectin which are mostly considered as antinutritional factors (ANFs) (King and Zeidler, 2004; Al-Betawi, 2005; Wadhwa and Bakshi 2016; Yasar and Tosun, 2019). In addition, tomato pomace is a seasonal product and not available throughout the entire year and difficult for conservation due to its high moisture content of 75%. Moreover, drying tomato pomace at commercial scale to produce animal feed has been found not economically feasible (Weiss et al., 1997), but there are novel processing treatments including drying to produce bioactive compounds such as antioxidants, lycopene, oils and protein as food and feed ingredients (Lu et al., 2019).

Tomato pomace has been successfully used as fermentation substrate by the industry for the production of functional bioactive molecules (enzymes, organic acids, aromatic compounds and antimicrobial agents), for improvement of its nutritional qualities and for reduction of its contents of ANFs (Raimbault, 1998; Singhania et al., 2009; Özşölen, 2010; Afşin, 2010; Kurt and Buyukalaca, 2010; Ravichandran and Vimala, 2012; Mukherjee et al., 2016). Solid state fermentation (SSF) is defined as fermentation of insoluble solid substrates immersed in free water by microorganism cultures similar to their natural environment (Afşin, 2010). For instance, several biologically active enzymes including cellulases and oxidases (Verma and Madamwar, 2002; Rashad et al., 2009; Iandolo et al., 2011; Yoon et al., 2014;

Bennamoun et al., 2016; Ergun and Urek, 2017) are produced by the *P. ostreatus* and *Phanerochaete chrysosporium* (*P. chrysosporium*) fermentations. *P. chrysosporium* was considered an ideal fungal microorganism in order to increase the levels of phenolic compounds of apple fruit pomace (Ajila et al., 2011; Yasar and Tosun, 2018).

The fungi of *Rhizopus stolonifer* LAU 07, *Candida utilis*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, *Fusarium*, *P. ostreatus* and *P. chrysosporium* (Villas-Boas et al., 2003; Lateef et al., 2008; Yasar and Tosun, 2018), the yeast of *Saccharomyces cerevisiae* and bacteria of *Bacillus subtilis* (Azza et al., 2013) have been used in SSF processes of agricultural by-products for crude protein enrichment. In addition, fungal microorganisms was reported to break down cellulose, hemicellulose and other complex polysaccharides in industrial by-products (Rashad et al., 2009; Díaz-Godínez et al., 2012). Previously studies reported that fermenting tomato pomace with several microorganisms increased the amount of ash and crude protein (CP) and decreased the levels of CF and hemicellulose (Assi and King, 2008; Azza et al., 2013; Roja et al., 2017; Yasar and Tosun, 2019).

Having evaluated all the above stated results, *P. ostreatus* and *P. chrysosporium* could ideally act as best fungal microorganisms to nutritional enrichment of tomato pomace at optimum conditions of 4.0–5.0 pH, 25–35 °C of temperature and low stirring rates at occasional intervals, which were selected from the literature and optimized and controlled throughout the study using a modern bioreactor. Therefore, the objective of this study was to test the effect of two fungal microorganisms used in SSF on the changes in nutritional composition of pomace.

MATERIALS and METHODS

Tomato pomace obtained from a local provider dried and ground to pass a sieve with 3 mm were supplemented with nutrients as shown in Table 1 and was further autoclaved at 120 °C for 15 min. Two fungal microorganisms, *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*) and *Phanerochaete chrysosporium* (*P. chrysosporium*) obtained from DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Germany) were cultivated according to the supplier instruction to collect inoculating spores. Optimum fermentation conditions fixed in the study (Table 1) were selected from the literature and optimized by using a laboratory bioreactor of 2.5–3 L working capacity, LabforEtOIH 5 (Infors Ltd., Switzerland). A blank fermentation experiment was conducted with no fungal inoculation. The fixed pH values were well optimized by peristaltic pumps using buffer solutions of 0.1 M sodium acetate (pH=1.5) and 0.1 M sodium bicarbonate (pH=9.75).

At each sampling period (days), three independent

samples were taken from each of fermentation experiments (Table 1) were consequently analysed

three times as replicates for the determinations of nutritional and antinutritional factors parameters.

Table 1. Experimental design with optimised fermentation parameters fixed throughout the fermentation period

Çizelge 1. Fermantasyon süresi boyunca optimize edilmiş fermantasyon parametreleriyle deneme deseni

Experiments	pH	Moisture (%)	Temperature (°C)	Aeration (L min ⁻¹)	Sampling period (day)	Inoculation rate (spor g ⁻¹)
I	3.5-4.0	68.0	24-28	0.25	0, 7, 14, 21	2.50 x 10 ⁶ <i>P. ostreatus</i>
II	5.0-5.5	68.0	24-28	0.25	0, 7, 14, 21	1.00x10 ⁶ <i>P. chrysosporium</i>
III**	4.0-4.5	68.0	24-28	0.25	0, 7, 14, 21	None

*Added nutrients in experiment I, II and III were 20 g (NH₄)₂SO₄, 10 g NH₄Cl, 10 g CH₄N₂O and 60 g Molasses, and there was a constant rate of stirring rate (10 rpm for 2 min at every 12 h). **Blank fermentation, a non-pH optimised experiment (initial pH of 4.0 did not change throughout the fermentation period) under sterile fermentation conditions, the same as in experiments I and II

Thus, 9 independent replicates per treatment were obtained, and data was analysed according to a general linear model (GLM) of variance analysis, where the differences between the treatments were separated at 0.05 significance level using SPSS software (IBM SPSS Statistics 22.0 for Windows). Fungal growth was determined by the method of TS ISO 21527-2: 2008 and the contents of dry matter (DM, %), ash %, crude protein (CP, %), crude fiber (CF, %), ether extract (EE, %) and reducing sugar (RS, %) by the methods specifically expressed in AOAC (2005). Pectin (Wang and Zhang, 1999) and tannin (Chemesova and

Chizhikov, 2004) were spectrophotometrically analysed.

RESULT and DISCUSSION

The results of Table 2 that the growth rate of *P. ostreatus* in experiment I and *P. chrysosporium* in experiment II significantly increased by 3 log at the end of 21 days of fermentation (P<0.05). And the pH was well controlled in the pre-fixed ranges in both experiments (Table 1), indicating a successful fermentation of fungal microorganism on tomato pomace.

Table 2. Fungal growth rate and pH of fermenting substrate at 0, 7, 14 and 21 days of fermentation

Çizelge 2. 0, 7, 14 ve 21 günlük fermantasyonda fungal gelişim oranı ve fermente substratın pH değeri

Days	cfu g ⁻¹			pH		
	Experiments-I (<i>P. ostreatus</i>)	Experiments-II (<i>P.chrysosporium</i>)	Experiments III (Control)	Experiments I (<i>P.ostreatus</i>)	Experiments II (<i>P.chrysosporium</i>)	Experiments III (Control)
0	7.9x10 ⁵ ±0.05 ^d	3.07x10 ⁵ ±0.05 ^c	0.0±0.05	4.05±0.20	5.50±0.10	4.00±0.10
7	8.0x10 ⁷ ±0.10 ^b	1.7x10 ⁸ ±0.20 ^a	0.0±0.10	3.70±0.20	5.30±0.15	4.00±0.10
14	1.3x10 ⁷ ±0.13 ^c	5.0x10 ⁶ ±0.05 ^b	0.0±0.10	3.70±0.25	5.30±0.20	4.00±0.15
21	3.9x10 ⁸ ±0.15 ^a	1.3x10 ⁸ ±0.12 ^a	0.0±0.10	3.60±0.25	5.40±0.21	4.00±0.15

a,b,c,d Different supercripts showed significant differences between the fermentation periods at each of the column parameters

No significant changes were seen in nutritional composition of tomato pomace fermented with no fungal inoculations (P>0.05) (Table 3). Fermenting tomato pomace with two different fungal inoculants significantly influenced its nutritional composition (P<0.05). The contents of ash significantly increased by the fermentations of both fungal species (P<0.05). The highest increases in ash content were 25% at 14 days of *P. ostreatus* and 35% at 21 days of *P. chrysosporium* fermentations. There were 16 and 30% increases in the CP content at the 14 days of *P. ostreatus* and at 21 days of *P. chrysosporium* fermentations, respectively were significant (P<0.05). The fermentation of tomato pomace with *P. ostreatus* significantly reduced its EE content from 7.22% at 0 day to 0.29% at 21 days. In contrary, there was a gradual increase in the EE content of tomato pomace with the *P. chrysosporium*

fermentation (from 7.22% at 0 day to 11.62% at 21 day). As overall there was no significant effect of *P. ostreatus* fermentation on the CF content, whereas an approximate 3-fold decrease in the CF content of tomato pomace was obtained from the *P. chrysosporium* fermentation (15.24% at 0 day to 5.47% at 21 day). The RS contents of tomato pomace were significantly reduced by about 30% in both fermentation cases (P<0.05).

Ash content of tomato pomace increased in both fungal fermentations. Dei et al. (2008) reported increased ash content of industrial by-products as a result of fungal fermentation. The reason for the increase in ash content was elaborated that during fermentation, microorganisms secrete enzymes which degrade complex minerals such as phosphorus in phytic acid form, and as a result of fermentation, the liberated

minerals are released and thus the ash content increases. Many other studies found increased ash content of the fermenting substrates as a result of

fermentation (Dei et al., 2008; Okpako et al., 2008; Aguilar et al., 2008; Altop et al., 2018).

Table 3. Nutritional composition of tomato pomace affected by *P. ostreatus* and *P. chrysosporium* fermentation
Çizelge 3. P. ostreatus ve P. chrysosporium fermantasyonunun domates posasının besin madde bileşimine etkisi

Inoculant	Days	DM, %	Ash, %	CP, %	EE, %	CF, %	RS, %
Experiments I (<i>P. ostreatus</i>)	0	31.75±0.57	4.66±0.28 ^b	34.64±0.51 ^c	7.22±0.02 ^a	15.24±2.25	14.04±0.07 ^a
	7	33.60±1.23	4.78±0.41 ^b	40.24±0.07 ^a	0.40±0.01 ^b	14.74±0.94	9.57±0.02 ^c
	14	29.60±0.42	5.81±0.25 ^a	40.07±0.17 ^a	0.45±0.01 ^b	14.75±0.30	10.63±0.12 ^b
	21	31.60±0.19	5.14±0.14 ^{ab}	37.65±0.08 ^b	0.29±0.01 ^c	16.58±0.49	10.17±0.20 ^b
Experiments II (<i>P. chrysosporium</i>)	0	31.75±0.37	4.66±0.28 ^b	34.64±0.51 ^d	7.22±0.02 ^d	15.24±2.25 ^a	14.04±0.07 ^a
	7	34.66±0.52	5.67±0.83 ^{ab}	42.35±0.28 ^c	10.22±0.03 ^c	14.14±1.18 ^a	9.48±0.03 ^b
	14	32.69±2.24	5.46±0.31 ^b	43.37±0.14 ^b	10.67±0.06 ^b	11.50±0.38 ^b	9.91±0.03 ^b
	21	34.80±1.91	6.31±0.30 ^a	44.96±0.25 ^a	11.62±0.01 ^a	5.47±1.00 ^c	9.53±0.35 ^b
Experiments III (Control)	0	32.00±0.10	4.50±0.21	34.70±0.01	7.00±0.01	15.00±1.00	14.50±0.01
	7	32.10±0.20	4.25±0.05	34.35±0.23	7.20±0.01	15.60±0.05	14.00±0.30
	14	32.00±0.12	4.60±0.23	34.50±0.50	7.40±0.02	15.30±0.20	13.90±0.40
	21	32.10±0.61	4.70±0.11	34.40±0.41	7.10±0.02	15.30±0.50	14.00±0.20

^{a,b,c,d} Different superscripts showed significant differences between the fermentation periods at each of the column parameters.

Lateef et al. (2008), clearly showed that fungal fermentation using the strain of *Rhizopus stolonifer LAU 07* significantly improved nutritional qualities of some agro-wastes by increasing CP contents by 35-90% and reducing CF by 7.0 to 44% (P<0.05). Similar improvement rates were also reported by several other fungal species including *P. ostreatus* and *P. chrysosporium* in the study of Assi and King, (2008); Rashad et al. (2009 and 2010); Díaz-Godínez, (2012) and Yasar and Tosun, (2018). In fungal fermentation fungal growth and reproduction of micelles formed as a result of the substrate used in fermentation has been reported to increase the CP content (Altop et al., 2018). On the other hand, Oboh and Akindahunsi (2003) claimed that the increased CP content was due to the increased enzymes which are in nitrogenous nature. It is thought that the increase of CP content in the fermentation of tomato pomace with *P. ostreatus* and *P. chrysosporium* is due to the above reasons. However, in our study, the amount of increased CP content differed in the case of both microorganisms, showing that the type of fungal microorganisms may have affected the degree of increased CP. As overall the *P. ostreatus* and *P. chrysosporium* fermentations were found useful for increasing CP of tomato waste products.

The content of EE in tomato pomace was nearly consumed by the strain of *P. ostreatus* in our study. *P. ostreatus* was also previously shown to reduce the EE contents of oil-seed meal (Yasar and Tosun, 2018). The reduced lipid content could be due to the accumulation of lipids by some strains of fungal microorganisms which have lipase enzyme activity (Lateef et al., 2008; Agbo and Prah, 2014; Altop et al., 2019) since some fungal microorganisms should assimilate lipids from the fermenting substrates in order to produce other biomasses (Tinoco et al., 2011; Iandolo et al., 2011; Frexio et al., 2012; Jannathulla et al., 2018). In

contrast *P. chrysosporium* significantly increased the EE content of tomato pomace. This increase in EE is thought to be due to the release of lipolytic enzymes that break down glycerol and fatty acids in some microorganisms. Because Onweluzu and Nwabugwu (2009) reported that the EE increases when millet (*Pennisetum americanum*) and Pigeon pea (*Cajanus cajan*) fermented and as a reason for the secreted lipolytic enzymes during fermentation. However, in the previous studies, EE decreases; and lipolytic enzyme secretion and the increase in EE in fermentation are not sufficient in the literature.

Some microorganisms generally use easily soluble carbohydrates such as starch and sugar to meet carbon requirements during fermentation, and then prefer to use complex carbohydrates or other nutrient as carbon sources (Papagianni, 2007; Altop et al., 2019). And as well Xie et al. (2016) and Altop et al. (2019) reported that during solid state fermentation, fungals release enzymes such as cellulase, hemicellulose, which break down structural carbohydrates, and these enzymes break down structural carbohydrates. It was concluded that the microorganism used as a carbon source as a reason for the decrease in RS and HS content in fermentation of tomato pomace with *P. chrysosporium*. On the other hand, *P. chrysosporium* is a white-rot-fungus, the release of enzymes that break down structural carbohydrates is thought to be high and therefore the HS content of tomato pomace may be reduced. In *P. ostreatus* fermentation, the HS content did not change, but the RS content decreased significantly, suggesting that this microorganism did not use either the carbon requirement of *P. chrysosporium* or the HS as a carbon source or does not release enough enzymes to break down structural carbohydrates

There was no significant effect on the contents of ANFs

(tannin and pectin) of tomato pomace of the fermentation carried out without fungal microorganisms in this study ($P>0.05$) (Table 4). However, fermenting tomato pomace with *P. ostreatus* and *P. chrysosporium* significantly influenced these compounds ($P<0.05$). There was an average of 60% decrease in the tannin content at the 14 day of the fermentations carried out both fungal microorganisms ($P<0.05$). Fermentation of tomato pomace with *P. ostreatus* did not significantly change the pectin content ($P>0.05$). However, there was a significant sporadic effect of *P. chrysosporium* fermentation on the pectin content, which was increased ($P<0.05$) by 48% at 14 day and then decrease ($P<0.05$) by 28% at 21 day of in the pectin contents.

The pectin and tannin are usually available in the tomato peel tissue, and its degradation is very important to free up important biologically active compound such as phenolic compounds and lycopene with antioxidant property (Lavecchia and Zuurro, 2008; Rodríguez-Fernández et al., 2011; Saleh et al., 2018). Biz et al., (2016) reported that they produce pectinase enzyme by fermenting agricultural by-products with *Aspergillus oryzae*. Enzyme production in the presence of pectin in the fermentation of microorganisms in the presence of pectin to break down the enzyme is connected to secrete. In our study the pectin content of tomato peels was extracted and released into the matrix of fermentation substrate at the 14 day of fermentation with both fungal species, due to a possible increase in the activity of pectinase.

Table 4. Influence of fungal fermentation on the contents of tannin and pectin of tomato pomace
 Çizelge 4. Fungal fermentasyonunun domates posasının tannin ve pektin içeriğine etkisi

Microorganisms	Days	Experiments I (<i>P. ostreatus</i>)	Experiments II (<i>P. chrysosporium</i>)	Experiments (Control)	III
Tannin, %	0	13.17±0.84 ^a	13.17±0.84 ^a	13.20±0.02	
	7	4.91±0.10 ^b	6.55±0.34 ^b	13.00±0.50	
	14	4.98±0.80 ^b	5.52±1.43 ^b	13.00±0.20	
	21	5.36±0.12 ^b	6.99±0.36 ^b	12.90±0.01	
Pectin, %	0	3.43±0.31	3.43±0.28 ^b	3.40±0.02	
	7	4.19±0.46	3.77±0.69 ^b	3.32±0.06	
	14	3.91±0.19	5.09±0.49 ^a	3.64±0.09	
	21	4.47±0.81	2.47±0.23 ^c	3.40±0.05	

^{a,b,c} Different superscripts showed significant differences between the fermentation periods at each of the column parameters.

Finally, the degradation of tomato peels could be said to be completed by fungal fermentations. This mechanism was more pronounced with the fermentation using *P. chrysosporium*. Thus, it could be possible that some important phenolic compounds are released during the fungal fermentations and this leads to a possible increase of antioxidant capacity.

The tannin content of tomato pomace decreased in fermentation with both fungal microorganisms. In previous studies, it has been reported that in fermentation microorganisms break down tannin into smaller molecules such as gallic acid, catechin, glucose and gallic acid (Rodríguez et al., 2008; Nazarni et al., 2016; Shang et al., 2019). In this study, it is thought that the decrease in tannin content secretes tannase enzyme and the tannin content is converted to gallic acid, catechin, glucose or gallic acid.

CONCLUSION

As a result, the fermentation of tomato pomace by fungal microorganism yielded an enrichment of nutritional qualities and added some biologically functional compounds. The fermented tomato pomace with improved nutritional qualities is holding a great potential in farm animal nutrition.

ACKNOWLEDGEMENT

We gratefully acknowledged the TUBITAK, Turkey for their financial support of the study (VHAG: 2140629-1001 project).

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Abdollahzadeh F, Pirmohammadi R, Fatehi F, Bernousi I 2010. Effect of feeding ensiled mixed tomato and apple pomace on performance of Holstein dairy cows. Slovak Journal of Animal Science, 43(1): 31-35.
- Afşin M 2010. Katı faz fermentasyon (solid state fermentation; SSF) yöntemiyle *Bacillus licheniformis* ATCC 14580'den proteaz üretimi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi 95 sy.
- Agbo NW, Prah CD 2014. Evaluation of fermentation period on the proximate composition and tannin concentration of sheanut (*Vitellaria paradoxa*) meal. Journal of Microbiology and Biotechnology Research, 4(1): 21-27.

- Aguilar CN, Aguilera-Carbo A, Robledo A, Ventura J, Belmares R, Martinez D, Rodriguez R, Contreras-Esquivel JC 2008. Production of antioxidant nutraceuticals by solid-state cultures of pomegranate (*Punica granatum*) peel and creosote bush (*Larrea tridentata*) leaves. *Food Technology and Biotechnology*, 46(2): 218–222.
- Ajila CM, Brar SK, Verma M, Tyagi RD, Valéro JR 2011. Solid-state fermentation of apple pomace using *Phanerochaete chrysosporium* – Liberation and extraction of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 126(3): 1071-1080.
- Al-Betawi 2005. Preliminary study on tomato pomace as unusual feedstuff in broiler diets. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(1): 57-63.
- Altop A, Coskun I, Filik G, Kucukgul A, Bekiroglu YG, Cayan H, Gungor E, Sahin A, Erener G 2018. Amino acid, mineral, condensed tannin, and other chemical contents of olive leaves (*Olea europaea* L.) processed via solid-state fermentation using selected *Aspergillus niger* strains. *Ciencia e Investigacion Agraria*, 45(2): 220-230.
- Altop A, Gungor E, Erener G 2019. Improvement of Nutritional Quality of Some Oilseed Meals Through Solid-State Fermentation Using *Aspergillus niger*. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(9): 1411-1414.
- AOAC 2005. Official Methods of Analysis. 18th ed., https://www.aoac.org/AOAC_Prod_Imis/AOAC_Member/Default.aspx?WebsiteKey=2e25ab5a-1f6d-4d78-a498-19b9763d11b4&hkey=8fc2171a-6051-4e64-a928-5c47dfa25797.
- Assi JA, King AJ 2008. Manganese amendment and *Pleurotus ostreatus* treatment to convert tomato pomace for inclusion in poultry feed, *Poultry Science*, 87(9):1889-1896.
- Azza AM, El-Safy SF, Eman HFA 2013. Improvement of nutritional quality and antioxidant activities of fermented wastes by *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* and *Pleurotus salmoneostramineus*. 3rd International Conference on Biotechnology and Its Applications in Botany and Microbiology, 17-18 April 2018, Cairo, Egypt.
- Bennamoun L, Hilgsmann S, Dakhmouche S, Ait-Kaki A, Labbani FK, Nouadri T, Meraihi Z, Turchetti B, Buzzini P, Thonart P 2016. Production and properties of a thermostable, pH stable exopolysaccharonase using *Aureobasidium pullulans* isolated from Saharan Soil of Algeria grown on tomato pomace. *Foods*, 5(4): E72.
- Biz, A, Finkler ATJ, Pitol LO, Medina BS, Krieger N, Mitchell DA 2016. Production of pectinases by solid-state fermentation of a mixture of citrus waste and sugarcane bagasse in a pilot-scale packed-bed bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 111(8): 54-62.
- Chemesova II, Chizhikov DV 2004. Determination of tannin content in rhizomes of *Comarum palustre* L. and its tincture by spectrophotometric method. *Rastitel'nye Resursy*, 40: 122-130.
- Dei HK, Rose SP, Mackenzie AM, Amarowicz R 2008. Growth performance of broiler chickens fed diets containing shea nut (*Vitellaria paradoxa*, Gaertn.) meal fermented with *Aspergillus niger*. *Poultry Science*, 87(9): 1773–1778.
- Díaz-Godínez G 2012. Production of laccases by *Pleurotus ostreatus* in solid-state and submerged fermentation. *Biotechnology of Microbial Enzymes*, Nova Science Publishers, A: 99-121.
- Ergun SO, Urek RO 2017. Production of ligninolytic enzymes by solid state fermentation using *Pleurotus ostreatus*. *Annals of Agrarian Science*, 15(2): 273-277.
- FAO, 2016. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Statics Data 2016, <http://www.fao.org/faostat/en/#data>.
- Freixo MR, Karmali A, Arteiro JM 2008. Production and chromatographic behavior of polygalacturonase from *Pleurotus ostreatus* on immobilized metal chelates. *Process Biochemistry*, 43(5):531-539.
- Freixo MR, Karmali A, Arteiro JM 2012. Production, purification and characterization of laccase from *Pleurotus ostreatus* grown on tomato pomace. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 28(1): 245–254.
- Gassara F, Brar SK, Tyagi RD, Verma M, Surampalli RY 2010. Screening of agro-industrial wastes to produce ligninolytic enzymes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Biochemical Engineering Journal*, 49(3):388-394.
- Goyal M, Soni G 2011. Production and characterization of cellulolytic enzymes by *Pleurotus florida*. *Mycosphere*, 2(3): 249–254.
- Iandolo D, Piscitelli A, Sannia G, Faraco V 2011. Enzyme production by solid substrate fermentation of *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor* on tomato pomace. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 163(1): 40-51.
- Jannathulla R, Dayal JS, Ambasankar K, Muralidhar M. 2018. Effect of *Aspergillus niger* fermented soybean meal and sunflower oil cake on growth, carcass composition and haemolymph indices in *Penaeus vannamei* Boone, 1931. *Aquaculture*, 486(3): 1-8.
- King AJ, Zeidler G 2004. Tomato pomace may be a good source of vitamin E in broiler diets. *California Agriculture*, 58(1):59-62.
- Knoblich M, Anderson B, Latshaw D 2005. Analyses of tomato peel and seed by products and their use as a source of carotenoids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7): 1166–1170.
- Kurt S, Buyukalaca S 2010. Yield performances and changes in enzyme activities of *Pleurotus* spp. (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*) cultivated on different agricultural wastes, *Bioresource Technology*,

- 101(9): 3164-3169.
- Lateef A, Oloke JK, Kana EBG, Oyeniyi SO, Onifade OR, Oyeleye AO, Oladosu OC, Oyelami AO 2008. Improving the quality of agro-wastes by solid-state fermentation: enhanced antioxidant activities and nutritional qualities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(10): 2369–2374.
- Lavecchia R, Zuorro A 2008. Improved lycopene extraction from tomato peels using cell-wall degrading enzymes. *European Food Research and Technology*, 228(2): 153-158.
- Liu J, Cai Y, Liao X, Huang Q, Hao Z, Hu M, Zhang D, Li Z 2013. Efficiency of laccase reduction in a 65-L air-lift reactor for potential green industrial and environmental application. *Journal of Cleaner Production*, 39(2): 154-160.
- Lu Z, Wang J, Gao R, Ye F, Zhao G 2019. Sustainable valorisation of tomato pomace: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 86(4):172-186.
- Mirzaei-Aghsaghali A, Maheri-Sis N 2008. Nutritive value of some agro-industrial by-products for ruminants. *World Journal of Zoology*, 3(2): 40-46.
- Mukherjee R, Chakraborty R, Dutta A 2016. Role of fermentation in improving nutritional quality of soybean meal a review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(11): 1523-1529.
- Nazarni R, Purnama D, Umar S, Eni H 2016. The effect of fermentation on total phenolic, flavonoid and tannin content and its relation to antibacterial activity in jaruk tigarun (*Crataeva nurvala*, Buch HAM). *International Food Research Journal* 23(1): 309-315
- Oboh G, Akindahunsi A 2003. Biochemical changes in cassava products (flour & gari) subjected to *Saccharomyces cerevisiae* solid media fermentation. *Food Chemistry*, 82(4): 599–602.
- Okpako C, Ntui V, Osuagwu A, Obasi F 2008. Proximate composition and cyanide content of cassava peels fermented with *Aspergillus niger* and *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6(2): 251-255.
- Özşölen F 2010. Production of ligninolytic enzymes with solid state fermentation. *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, 85 sy.
- Papagianni M 2007. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnology Advances*, 25(3):244-63.
- pomegranate pomace extract
- Raimbault M 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology*, 1(3): 717-732.
- Rashad MM, Abdou HM, Mahmoud AE, Nooman MU 2009. Nutritional analysis and enzyme activities of *Pleurotus ostreatus* cultivated on citrus limonium and carica papaya wastes. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4): 3352-3360.
- Rashad MM, Abdou HM, Shousha WGH, Ali MM, El-Sayed NN 2010. Purification and characterization of extracellular polygalacturonase from *Pleurotus ostreatus* using citrus limonium waste. *Journal of Applied Science Research*, 6(1): 81-88.
- Ravichandran S, Vimala R 2012. Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. *International Journal of Science and Nature*, 3(3):480-486.
- Rodríguez H, Rivas B, Cordovés CG, Muñoz R 2008. Degradation of tannic acid by cell-free extracts of *Lactobacillus plantarum*. *Food Chemistry* 107(2): 664–670.
- Roja HN, Munishamanna KB, Veena R, Palanimuthu V 2017. Solid state fermentation of tomato pomace waste by different lactic acid bacteria and yeast strains for quality and nutritional improvement. *Agriculture Update*, 12(2):347-352.
- Saleh H, Golian A, Kermanshahi H, Mirakzahi MT 2018. Antioxidant status and thigh meat quality of broiler chickens fed diet. *Italian Journal of Animal Science*, 17(2): 386–395.
- Shanga YF, Cao H, Ma YL, Zhang C, Ma F, Wang CX, Ni XL, Lee WJ, Wei ZJ 2019. Effect of lactic acid bacteria fermentation on tannins removal in Xuan Mugua fruits. *Food Chemistry*, 274(5): 118-122.
- Singhania RR, Patel AK, Soccol CR, Pandey A 2009. Recent advances in solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 44(1): 13–18.
- SPSS 2013. IBM SPSS Statistics 22.0 for Windows. Armonk, NY.
- Tinoco R, Acevedo A, Galindo E, Serrano-Carreo'n L (2011). Increasing *Pleurotus ostreatus* laccase production by culture medium optimization and copper/lignin synergistic induction. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38(4): 531-540.
- TS ISO 21527-2: 2008. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95; TS ISO 21527-2: 2008, Available from: <https://www.iso.org/standard/38276.html>.
- Ülger I, Kaliber M, Ayaşan T, Küçük O 2018. Chemical composition, organic matter digestibility and energy content of apple pomace silage and its combination with corn plant, sugar beet pulp and pumpkin pulp*. *South African Society for Animal Science*, 48(3): 497-503.
- Verma P, Madamwar D 2002. Production of ligninolytic enzymes for dye decolorization by cocultivation of white-rot fungi *Pleurotus ostreatus* and *Phanerochaete chrysosporium* under solid-state fermentation. *Applied Biochemistry and*

- Biotechnology, 102(1-6): 109-118.
- Villas-Boas SG, Esposito E, De Mendonca MM 2003. Bioconversion of apple pomace into a nutritionally enriched substrate by *Candida utilis* and *Pleurotus ostreatus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(5):461-467.
- Wadhwa M, Bakshi MPS 2016. Application of Waste-Derived Proteins in the Animal Feed Industry. (In: Gurpreet Dhillon, editors: *Protein Byproducts*, Oxford: Academic Press; 2016) 161-192.
- Waldbauer K, McKinnon R, Kopp B 2017. Apple Pomace as Potential Source of Natural Active Compounds. *Planta Medica*, 83(12-13):994-1010.
- Wang XP, Zhang WY 1999. Study on the determination and utilization of the pectin in haw. *Quarterly of Forest By-Product and Speciality in China*, 9(3): 13-14.
- Weiss WP, Frobose DL, Koch ME 1997. Wet tomato pomace ensiled with corn plants for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80(11): 2896–2900.
- Xie PJ, Huang LX, Zhang CH, Zhang YL 2016. Nutrient assessment of olive leaf residues processed by solid-state fermentation as an innovative feedstuff additive. *Journal of Applied Microbiology*, 121(1):28-40.
- Yasar S, Tosun R 2018. Nutritional, enzymatic and antioxidant enrichment of apple pomace by fungal fermentations. 10. International Animal Science Conference, 25-27 October 2018, Antalya.
- Yasar S, Tosun R 2019. Increasing the nutritional qualities of tomato pomace by yeast fermentation. 4th International conference on advances in natural & applied sciences June 19-22, 2019, Ađrı.
- Yoon LW, Ang TN, Ngoh GC, Chua ASM 2014. Fungal solid-state fermentation and various methods of enhancement in cellulase production. *Biomass and Bioenergy*, 67(5):319-338.
- Ziaei N, Molaei S 2010. Evaluation of nutrient digestibility of wet tomato pomace ensiled with wheat straw compared to alfaalfa hay in kermani sheep. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(4): 771-773.



Kefir İlavesinin Yonca Silajlarının Fermantasyon Özellikleri ve Aerobik Stabilitesi Üzerine Etkileri

Fisun KOÇ^{1*}, Bahattin KARAPINAR², Berrin OKUYUCU³, Duygu KORUCU ERDEM⁴

^{1,2,3}Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootehni Bölümü, Tekirdağ, ⁴Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ

¹<https://orcid.org/0000-0002-5978-9232>, ²<https://orcid.org/0000-0002-6051-7023>, ³<https://orcid.org/0000-0001-8322-5050>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-0728-5937>,

✉: fkoc@nku.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, farklı dozlarda kefir ilavesinin yonca silajlarında fermantasyon gelişimi ve aerobik stabiliteleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Katkı maddelerinin ilavesinden sonra, yaklaşık 500 g örnek plastik torbalara konularak sıkıştırılmış ve vakumla içindeki hava alınmıştır. Her grup için 10'ar tane olmak üzere toplam 70 paket silaj laboratuvar şartlarında (25-30 °C) 45 gün fermantasyona bırakılmıştır. Silolama döneminin sonunda (45. gün) tüm silajlara 7 gün süre ile aerobik stabilize testi uygulanmıştır. Araştırmada ayrıca fermantasyonun 45. günü ve aerobik stabilize dönemi sonrası baskın olan laktik asit bakteri türleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak, yonca silajına ilave edilen kefir silajların pH, asetik asit, bütrik asit, propiyonik asit içeriklerini, kuru madde kaybını düşürürken, laktik asit içeriklerini kontrol grubuna göre arttırmıştır (P<0.001). Silajların *lactobacilli* ve maya içerikleri kontrol grubuna göre artarken, küf gelişimini ise tamamen engellemiştir (P<0.001). Diğer yandan, kefir ilavesi silajların (5x10⁵ uygulamaları dışında) pH, maya içeriklerini, CO₂ üretimlerini düşürerek aerobik stabilitelerini ise geliştirmiştir (P<0.001).

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 13.09.2019

Kabul Tarihi : 08.11.2019

Anahtar Kelimeler

Kefir

Laktik Asit Bakterisi

Silaj

Tanımlama

The Effects of Kefir Addition on the Fermentation Characteristics and Aerobic Stability of Alfalfa Silages

ABSTRACT

In this study, the effects of different doses of kefir on the fermentation characteristics and aerobic stability of alfalfa silages were investigated. After the addition of the additives, approximately 500 g of sample was placed in plastic bags and compressed. A total of 70 packages, 10 for each group, were allowed to ferment for 45 days in laboratory conditions (25-30 °C). The aerobic stability test was applied to the silages opened on the 45th day for 7 days. Chemical and microbiological analyzes were performed on the samples opened on the 45th day of fermentation. In addition, after silage fermentation of 45 days and aerobic stability period, lactic acid bacteria were identified. As a result, added kefir decreased pH, acetic acid, butyric acid, propionic acid content, dry matter loss, whereas increased lactic acid content significantly compared to control group (P<0.001). *Lactobacilli* and yeast contents of silages increased compared to control group, also completely prevented the growth of mold (P<0.001). On the other hand, kefir (except 5x10⁵ applications) decreased pH, yeast contents, CO₂ production and improved aerobic stability of alfalfa silages (P<0.001).

Research Article

Article History

Received : 13.09.2019

Accepted : 08.11.2019

Keywords

Kefir

Lactic acid bacteria

Silage

Identification

GİRİŞ

Silaj fermantasyonu kısmen kontrolsüz bir işlemdir pekçok faktör fermantasyon ve aerobik stabilite dönemi üzerinde etkili olmaktadır. Silajlık materyalin kimyasal ve mikrobiyolojik kompozisyonu değişkendir ve bu da silaj kalitesi üzerinde etkilidir (McDonald ve ark. 1991). Son yıllarda, silaj fermantasyonu garanti altına almak, silaj kalitesini artırmak ve silajın daha iyi korunmasını sağlamak amacıyla silaj katkı maddesi olarak, laktik asit bakterisi (LAB) inokulantlarının kullanımı yaygınlaşmıştır. Ancak LAB inokulantların etkinliği konusunda, silaj kalitesini artırdığı (Arriola ve ark., 2015; Silva ve ark., 2016; Cebe Hotun ve ark., 2019) ya da yeterli düzeyde etki gösteremedikleri yönünde farklı görüşler bulunmaktadır (Kleinschmit ve ark., 2005). Bu olumsuzlukların, ticari inokulantlardaki LAB'ların kompozisyonundan kaynaklanabileceği yönünde görüşlerde bulunmaktadır (Kung ve Muck, 1997; Muck ve Kung, 1997). Bu anlamda bakıldığında silaj fermantasyonunda etkili olan LAB türleri ve etkinlikleri önem kazanmaktadır. Kefir bileşiminde LAB ve mayaların bulunduğu, üretiminde kefir tanesi veya starter kültürlerin kullanıldığı fermente bir süt ürünü olarak tanımlanmaktadır (Özpinar, 2012). Kefir tanesinde LAB (*Lactobacilli*, *Lactococci* ve *Leuconostoc*), asetik asit bakterileri (*Acetobacter*) ve mayaları karışım halinde bulundurulur. Bu mikrobiyel karışım içinde en çok laktobasiller yer alır (%65–80). Kefirin içerdiği laktobasil ve diğer bakteri türleri arasında *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. kefir*, *L. parakefir*, *L. lactis* ve *L. c. mesenteroides* bulunur. Son yapılan araştırmalar, kefirin bakteriyel florasını oluşturan LAB'lerinin silaj fermantasyonu üzerinde özellikle besin madde kayıplarını azalttığı ve aerobik stabilite üzerinde olumlu etkilerinin olduğu yönündedir (EFSA, 2013; Zwieler ve ark., 2014; Daniel ve ark., 2015). Bu çalışmanın amacı, farklı dozlarda doğal ve ticari kefir kültürü ilavesinin yonca silaj fermantasyonu ve aerobik stabilite üzerine etkilerini ortaya koymaktır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışmada silaj materyali olarak Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezinde yetiştirilen yonca (*Medicago sativa*) bitkisi kullanılmıştır. Silaj yapılacak yonca hasılları yaklaşık %10 çiçeklenme başlangıcında hasat edilmiştir. Hasad edilerek 12 saat süreyle soldurulan yonca, silaj makinesiyle yaklaşık 1.5-2.0 cm boyutlarında parçalanmıştır. Katkı maddesi olarak,

1. Doğal kefir kültürü (DK): Doğal kefir kültürünün biyolojik kompozisyonuna ilişkin tanımlama yapılmıştır. Tanımlama sonrasında

Enterococcus faecalis, *Lactobacillus brevis* ve *Micrococcus luteus* içerdiği tespit edilmiştir.

2. Ticari kefir kültürü (TK): Biyolojik kompozisyonunda *Lactococcus lactis* subsp, *Lactis biovar diacetylactis*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc spp. mesenteroides* ve *Saccharomyces cerevisiae* içeren (MYStarter KF) kullanılmıştır. Doğal ve ticari kefir uygulamalarında doz 10^5 , 5×10^5 ve 1×10^6 seviyesinde olacak şekilde hesaplanmıştır.

Katkı maddesinin uygulama şekli

10 kg parçalanmış taze materyal 1x4 m temiz bir alana yayılmıştır. 1. grup kontrol grubu olup katkı maddesi içermemektedir. 2. grupta, doğal ve ticari kefir kültüründen 0.0375 g tartılarak üzerine 20 ml çeşme suyu konarak iyice karışması sağlandıktan sonra taze materyal üzerine homojen bir şekilde el pülverizatörü ile püskürtülmüştür. 3. grupta 0.1875 g, 4. grupta 0.375g 2. grupta açıklandığı gibi taze materyale uygulanmıştır. Kontrol grubuna diğer muamele gruplarına eşdeğer 20 ml çeşme suyu ilave edilmiştir. Katkı maddelerinin ilavesinden sonra, yaklaşık 500 g örnek plastik torbalara konularak sıkıştırılmış ve vakumla içindeki hava alınmıştır. Her grup için 10'ar tane olmak üzere toplam 70 paket silaj laboratuvar şartlarında (25-30 °C) 45 gün fermantasyona bırakılmıştır. Kırk beşinci gün açılan silajlara 7 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır.

Kimyasal Analizler

Fermantasyonun 45. gününde açılan silajlarda pH, kuru madde (KM), laktik asit (LA), asetik asit (AA), bütirik asit (BA), propiyonik asit (PA) suda çözünebilir karbonhidratlar (SÇK), amonyağa bağlı nitrojen ($\text{NH}_3\text{-N}$), mikrobiyolojik kompozisyona ilişkin olarak laktik asit bakterileri (LAB), maya ve küf sayımları yapılmıştır. Araştırmada pH ve tampon kapasitesi (Tk) analizleri Playne ve Mc Donald (1966), KM analizi Akyıldız (1984), $\text{NH}_3\text{-N}$ ve SÇK analizleri Anonim (1986), ve LA analizi Koç ve Coşkuntuna (2003)'nın bildirdiği şekilde yapılmıştır. AA, BA ve PA analizi ise Supelco (1998) tarafından bildirilen yöntemle göre gaz kromatografisi (GC-15A, Shimadzu, Japonya) ile yapılmıştır. Silajların KM kayıpları, 45. günlerde torbalarında hesaplanan silaj KM'si ağırlığının, torbalara konulan taze materyalin KM ağırlığına oranlanması ile hesap edilmiştir.

Mikrobiyolojik Analizler

Laktik asit bakterileri, maya ve küf yoğunluğunun belirlenmesinde Seale ve ark. (1990)'nın önerdiği yöntem takip edilmiştir.

Silaj Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlaması

16SrRNA Dizi Analizi tekniği kullanılmıştır. LAB tanımlamalarına ilişkin analizler Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi (NABİLTEM) merkezi araştırma laboratuvarında yapılmıştır.

Aerobik Stabilitite

Kırkbeş günlük silolama süresi sonunda silaj örneklerine 7. gün sonunda Ashbell ve ark. (1991) tarafından önerilen yönteme göre aerobik stabilite testi uygulanmıştır. Ayrıca aerobik stabilite döneminde silaj örneklerindeki sıcaklık değişimleri ve ortam sıcaklığı 7 gün süreyle 2 saatte bir hobo pentant data logger ile takip edilmiştir (Chen ve ark., 1994).

İstatistiksel Analizler

Araştırma sonunda elde edilen veriler SPSS v.16 istatistik paket programının (SPSS Inc. 2007) GLM prosedüründe değerlendirilmiştir. Grup ortalamaları arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında Duncan testi kullanılmıştır (Efe ve ark., 2000).

BULGULAR

Silajların Fermantasyon Özellikleri

Taze yoncaya ait kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 1 ve Çizelge 2' de verilmiştir. Yonca bitkisinin pH, Tk değeri, KM içindeki HP ve SÇK, LAB ve maya içerikleri sırasıyla 7.50, 445 mEq/kg/KM, %21.14, 15.45g/ kg KM, 5.30, 8.08 cfu/g arasında bulunmuştur.

Fermantasyonun 45. gününde açılan yonca silajlarına ait kimyasal analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Erken çiçeklenme döneminde hasat edilen yonca silajlarının KM içeriği %23.3 g/kg iken 12 saatlik soldurma sonrasında %30.46 olmuştur. Fermantasyon 45. gününde KM içerikleri 27.25-31.54 arasında değişmiştir. Çalışmada, fermantasyonun 45. gününde muamele grubundaki tüm silajlarının KM düzeyinin kontrol grubu silajlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.001).

Çalışmada, yoncaya kefir ilave edilmesi silajların pH'larını kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürmüştür (P<0.001). Silajların başlangıç materyalinde 7.50 olan pH değeri kefir ilavesi ile muamele gruplarında 5.45-5.90 arasında değişim göstermiştir.

Kefir ilavesi (DK2) grubu dışında HP içeriğinin artmasına sebep olurken (P<0.001), toplam nitrojen içerisindeki NH₃-N miktarının düşmesini (P<0.001) sağlamıştır. Amonyaga bağlı nitrojenin, toplam nitrojene oranı 88.55-142.16 g/kg TN arasında değişmiştir. En düşük NH₃-N miktarı TK3 ilavesiyle sağlanmıştır. Suda çözünebilir karbonhidrat içerikleri

kontrol grubunda (8.00 g/kg KM), DK gruplarında sırasıyla (8.90, 11.30, 7.32 g/kg KM) ve TK gruplarında (6.62, 11.68, 7.67 g/kg KM) olarak bulunmuştur. Muamele gruplarında en düşük SÇK içeriği TK1 grubunda, en yüksek değerler DK2 ve TK2 grubu silajlarda tespit edilmiştir (P<0.001).

En yüksek LA içeriği (47.84 g/kg KM) DK3 grubunda, en düşük LA içeriği (6.77 g/kg KM) ise kontrol grubunda belirlenmiştir. Yonca silajlarına kefir ilavesi silajların LA içeriklerini önemli düzeyde arttırmıştır (P<0.001). En yüksek AA içeriği (19.52 g/kg KM) kontrol grubunda, en düşük AA içeriği (3.64 g/kg KM) olarak DK3 grubunda belirlenmiştir. AA içeriği bakımından muameleler arasındaki farklar istatistiki anlamda önemli bulunmuştur (P<0.001). Yonca silajlarının BA içerikleri 3.07-17.21 g/kg KM arasında değişmiştir. Yonca silajlarında doz miktarına bağlı olarak silajların, BA içerikleri kontrol grubu silajlara oranla daha düşük tespit edilmiştir (P<0.001). PA içerikleri kontrol 3.34 g/kg KM, DK gruplarında sırasıyla (2.75, 2.99, 0.41 g/kg KM) ve TK gruplarında (0.74, 1.63, 2.69 g/kg KM) olarak bulunmuştur. Muamele gruplarının PA içeriği kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur (P<0.001). Yonca silajlarının KM kaybı %2.09-2.64 arasında değişmiş ve yonca silajlarında KM kaybı kontrol grubu silajlarına oranla daha düşük tespit edilmiştir (P<0.001).

Yonca Silajlarının Mikrobiyolojik Özellikleri

Yonca silajlarının mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Silajlarda LAB sayısı başlangıç materyaline oranla tüm gruplarda artmıştır. LAB sayısı kontrol, 5.50 cfu/g bulunurken, DK gruplarında sırasıyla (5.60, 5.86, 5.98 cfu/g), ve TK gruplarında (6.08, 6.07, 6.19 cfu/g) olarak tespit edilmiştir (P<0.001). Yonca silajlarında kefir uygulamasına bağlı olarak silajların maya sayıları artış göstermiştir. En yüksek maya sayısı 6.24 cfu/g olarak DK1 grubunda tespit edilmiştir (P<0.001). Yonca silajlarında sadece kontrol grubunda 2.66 cfu/g düzeyinde küf tespit edilmiştir (P<0.001).

Yonca Silajlarında Aerobik Stabiliteye İlişkin Değerler

Araştırmada, silolamanın 45. günü açılan yonca silajlarına uygulanan 7 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Çizelge 3'de verilmiştir. Yonca silajlarında aerobik stabilitenin 7. gününde belirlenen pH değerleri sırasıyla kontrol (6.40), DK (5.65, 7.75, 5.50) ve TK (5.35, 7.90, 5.45) tespit edilmiştir. Yonca silajlarına kefir ilave edilmesi silajların pH değerleri üzerinde farklı etkilerde bulunmuştur. Kefir ilave edilen DK2 ve TK2 gruplarında pH değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir (P<0.001).

Çizelge 1. Fermantasyonun 45. gününde açılan silajların kimyasal analiz sonuçları
Table 1. Chemical analysis results of silages opened on the 45th day of fermentation

Muameleler <i>Treatments</i>	KM, % <i>DM, %</i>	pH <i>pH</i>	HP, %KM <i>CP, DM %</i>	NH ₃ -N/TN ¹ <i>NH₃-N/TN</i>	SÇK ¹ <i>WSC</i>	LA ¹ <i>LA</i>	AA ¹ <i>AA</i>	BA ¹ <i>BA</i>	PA ¹ <i>PA</i>	KM kaybı, % <i>DM loss, %</i>	
Silaj Materyali <i>Silage Material</i>	30.46	7.50	21.14	-	15.45	-	-	-	-	-	
Kontrol (<i>Control</i>)	27.25±0.53 ^e	5.90±0.00 ^a	19.80±0.01 ^d	142.16±6.60 ^a	8.00±0.29 ^{bc}	6.77±1.43 ^e	19.52±3.31 ^a	17.21±5.63 ^a	3.34±1.04 ^a	2.64±0.04 ^a	
Doğal	DK1	28.45±0.57 ^{ce}	5.60±0.00 ^{bc}	19.91±0.17 ^{cd}	91.43±0.16 ^d	8.90±1.29 ^b	13.65±0.29 ^d	12.69±6.27 ^{bc}	14.88±4.75 ^a	2.75±0.97 ^{ab}	2.09±0.01 ^d
Kefir(<i>Home</i> <i>Made Kefir</i>)	DK2	27.95±0.01 ^{de}	5.45±0.05 ^c	18.84±0.14 ^c	126.80±14.79 ^b	11.30±0.63 ^a	26.63±2.15 ^c	6.84±0.69 ^{de}	12.18±0.32 ^{ab}	2.99±1.28 ^{ab}	2.56±0.02 ^b
	DK3	31.54±1.87 ^a	5.55±0.05 ^{bc}	20.59±0.21 ^a	96.90±7.06 ^{cd}	7.92±0.22 ^{bc}	47.84±4.71 ^a	3.64±0.55 ^e	4.31±1.22 ^c	0.41±0.09 ^c	2.62±0.02 ^a
Ticari Kefir (<i>Commercial</i> <i>Kefir</i>)	TK1	30.52±0.87 ^{ab}	5.70±0.00 ^b	20.18±0.27 ^{bc}	107.97±0.21 ^c	6.62±2.13 ^c	39.63±4.54 ^b	5.41±1.04 ^{de}	11.07±1.16 ^{ab}	0.74±0.03 ^c	2.62±0.00 ^a
	TK2	29.23±1.09 ^{bd}	5.85±0.05 ^a	20.45±0.20 ^{ab}	123.89±6.13 ^b	11.68±0.85 ^a	23.38±1.17 ^c	9.37±0.77 ^{cd}	7.36±3.19 ^{bc}	1.63±0.66 ^{bc}	2.10±0.03 ^d
	TK3	29.94±0.95 ^{ac}	5.50±0.20 ^c	19.95±0.07 ^{cd}	88.55±0.77 ^d	7.67±1.12 ^{bc}	25.30±1.69 ^c	14.55±1.38 ^b	3.07±3.07 ^c	2.79±0.13 ^{ab}	2.31±0.01 ^c

¹g/kg KM, KM. Kuru madde, HP: Ham protein, NH₃-N: Amonyaga bağlı nitrojen, TN: Toplam nitrojen, SÇK: Suda çözünbilir karbonhidrat; LA: Laktik asit, AA: Asetik asit, BA: Bütrik asit, PA: Propiyonik asit. ^{a-e}Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($P<0.001$).

Çizelge 2. Fermantasyonun 45. gününde açılan silajların mikrobiyoloji analiz sonuçları
Table 2. Results of microbiology analysis of silages opened on the 45th day of fermentation

Muameleler Treatments	LAB, cfu/g KM LAB, cfu/g DM	Maya, cfu/g KM Yeast, cfu/g DM	Küf, cfu/g KM Mould, cfu/g DM
Silaj Materyali (<i>Silage Material</i>)	5.30	8.08	0.00
Kontrol (<i>Control</i>)	5.55±0.12 ^e	5.73±0.01 ^e	2.66±1.34 ^a
Doğal Kefir (<i>Home Made Kefir</i>)	DK1	5.60±0.00 ^e	6.24±0.03 ^a
	DK2	5.86±0.02 ^d	5.82±0.03 ^d
	DK3	5.98±0.06 ^c	5.91±0.01 ^c
Ticari Kefir (<i>Commercial Kefir</i>)	TK1	6.08±0.00 ^b	5.94±0.01 ^c
	TK2	6.07±0.02 ^{bc}	6.11±0.02 ^b
	TK3	6.19±0.02 ^a	6.10±0.02 ^b
P	<0.001	<0.001	<0.001

KM: Kuru madde, LAB: Laktik asit bakterileri, cfu: koloni oluşturan birim
abc: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0.05)

Çizelge 3. Yonca silajlarının 7. gün sonunda aerobik stabilite testi sonuçları
Table 3. Aerobic stability test results at the end of the 7th day of alfalfa silage

Muameleler Treatment	pH pH	CO ₂ g/kg KM CO ₂ g/kg DM	Maya, cfu/g KM Yeast, cfu/g DM	Küf, cfu/g KM Mould, cfu/g DM
Kontrol (<i>Control</i>)	6.40±0.30 ^b	16.12±1.57 ^b	6.58±0.09 ^{bc}	6.63±0.02 ^a
Doğal Kefir (<i>Home Made Kefir</i>)	DK1	5.65±0.15 ^c	13.32±3.18 ^c	6.28±0.13 ^{cd}
	DK2	7.75±0.05 ^a	47.24±0.02 ^a	6.67±0.10 ^b
	DK3	5.50±0.00 ^{cd}	10.67±1.19 ^{cd}	5.24±0.24 ^f
Ticari Kefir (<i>Commercial Kefir</i>)	TK1	5.35±0.05 ^d	9.08±0.18 ^d	5.63±0.15 ^e
	TK2	7.90±0.20 ^a	49.13±1.53 ^a	7.34±0.45 ^a
	TK3	5.45±0.05 ^{cd}	8.53±0.03 ^d	6.00±0.04 ^{de}
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

DK1: 10⁵; DK2: 5x10⁵; DK3: 1x10⁶; TK1: 10⁵; TK2: 5x10⁵; TK3: 1x10⁶
abc: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0.05).

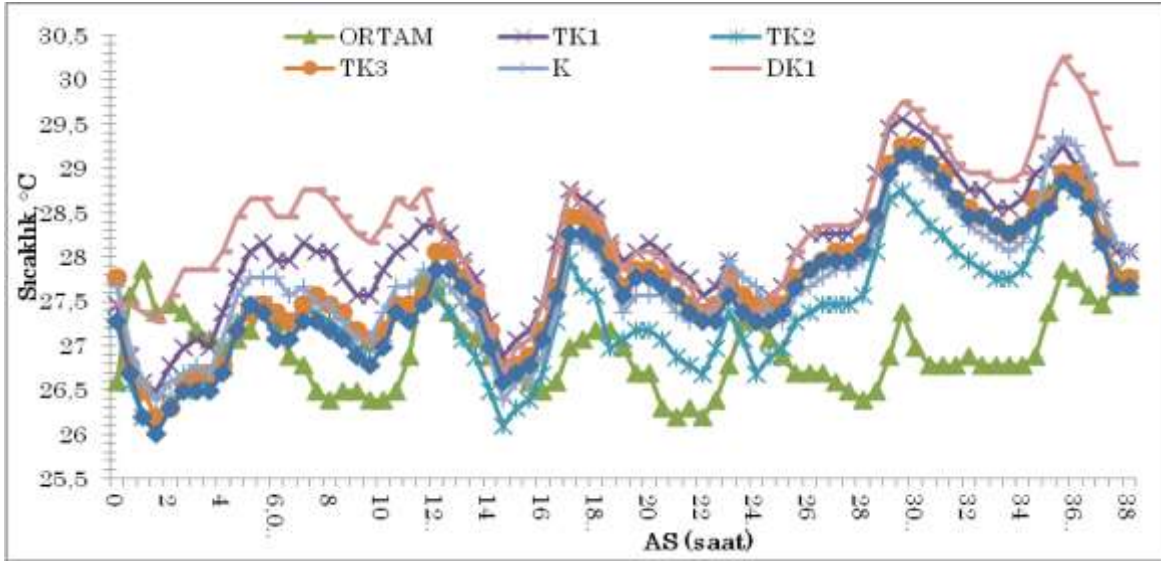
Söz konusu dönemlerde belirlenen CO₂ üretim miktarları %8.53-49.13 g/kg KM arasında değişmiştir. En yüksek CO₂ miktarı DK2 ve TK2 uygulamalarında tespit edilmiştir (P<0.001). Aerobik stabilitenin 7. gününde maya içerikleri kontrol 6.58 cfu/g, DK (6.28, 6.67 ve 5.24 cfu/g) ve TK (5.63, 7.34, 6.00 cfu/g) gruplarında tespit edilmiştir (P<0.001). Araştırmada maya sayıları ile CO₂ üretimleri paralellik göstermiştir. Maya içerikleri yüksek olan DK2 ve TK2 gruplarının CO₂ değerleride daha yüksek tespit edilmiştir. Yonca silajlarına kefir ilave edilmesi küfü önlemiştir (P<0.001).

Çalışmada 16SrRNA Dizi analizi sonuçları değerlendirildiğinde, fermantasyon dönemi (45. gün) silajlarda LAB'inden *Enterococcus faecium* ağırlıklı olmak üzere, *Lactobacillus brevis* ve *Pediococcus pentosaceu* baskın türler olarak belirlenmiştir (Çizelge 4). Aerobik stabilite döneminde ise ağırlıklı olarak *Lactobacillus plantarum* bunun dışında *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus*, *Weissella paramesenteroides*, *Enterococcus faecalis*, *Weissella paramesenteroides*, *Bacillus sp.*, *Lactobacillus brevis* olarak belirlenmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. İzole Edilen LAB'lerinin 16SrRNA Dizi Analizi sonuçları
Table 4. 16SrRNA Sequence Analysis results of isolated LABs

Muameleler Treatments	45. gün 45 th day	AS AS
Kontrol (<i>Control</i>)	<i>L. brevis</i>	<i>E. gallinarum</i> , <i>E. casseliflavus</i> , <i>W. paramesenteroides</i>
Doğal Kefir (<i>Home Made Kefir</i>)	DK1	<i>L. brevis</i> , <i>E. faecium</i>
	DK2	<i>P. pentosaceus</i> , <i>E. faecium</i>
	DK3	<i>L. brevis</i>
Ticari Kefir (<i>Commercial Kefir</i>)	TK1	<i>P. pentosaceus</i> , <i>E. faecium</i>
	TK2	<i>P. pentosaceus</i> , <i>E. faecium</i>
	TK3	<i>E. faecium</i>

DK1: 10⁵; DK2: 5x10⁵; DK3: 1x10⁶; TK1: 10⁵; TK2: 5x10⁵; TK3: 1x10⁶; AS: aerobik stabilite



Şekil 1. Aerobik stabilite süresince silajların sensör verileri
Figure 1. Sensor data of silage during aerobic stability

Yonca silajlarının 7 günlük aerobik stabilite dönemi süresince sensör verilerine ilişkin sıcaklık değerleri Şekil 1'de verilmiştir. Sensör verilerine ilişkin veriler değerlendirildiğine aerobik bozulma en geç DK3 ve TK3 uygulamalarında tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Silolanacak bitkisel materyal silo içerisine konulup oksijen ile temasının kesilmesinin ardından, materyal üzerinde bulunan epifitik flora içerisindeki türler arasında bir rekabet başlar ve bu rekabet silaj fermentasyonu aşamalarında da devam eder. Silaj pH seviyeleri 4.5 ve altına düşüncüye kadar bu rekabetin devam ettiği bildirilmektedir (Kızılsimşek ve ark., 2016). Bu nedenle silajın pH'sındaki düşüşün hızlanması, arzulanan bir fermentasyon oluşumu için gereklidir. İyi kaliteli bir silajda pH'nın 3.5-4.0 olması istenmektedir, fakat baklagil silajlarında 4.0 ve üzerindeki pH değerlerine çok sık rastlanmaktadır (Filya, 2001). Bu çalışmada, kefir ilave edilmesi silajların asitlik düzeyinin artmasına yol açmışsa da, fermentasyonun 45. gününde arzulanan pH düzeyine ulaşamamıştır. Silajların başlangıç materyalinde 7.50 olan pH değeri kefir ilavesi ile muamele gruplarında 5.45-5.90 arasında değişim göstermiştir. Silaj fermentasyon dönemi sırasında ve aerobik stabilite sürecinde, farklı bakteri türleri farklı zamanlarda dominant duruma geçmektedirler. Mevcut araştırmadan elde edilen veriler fermentasyon dönemi ve aerobik stabilite dönemi sonrasında baskın olan türlerin farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu amaçla silaj içinde oluşacak türler arası rekabeti uygun LAB lehine çevirme oldukça önem taşımaktadır (Phillip ve ark., 1990; Pitt, 1990; Stokes, 1992). Bu şekilde pH düşüşü hızlandırılmakta, protein parçalanması ve KM kayıpları en aza indirilmektedir (Kızılsimşek ve ark.,

2007). Ayrıca aerobik bozulma hızı da yavaşlatılmaktadır (İllek, 2006). Bu çalışmada kefir ilavesi silajların NH₃-N/TN değerlerinin kontrol grubuna göre düşmesine yol açmıştır. Silolamanın temel amaçlarından biride silolanacak materyaldeki KM kayıplarını mümkün olduğu kadar minimum düzeye indirmektir. Ancak silaj fermentasyonunun homofermantatif veya heterofermantatif yönde şekillenmesine göre KM kayıpları artabilmektedir. Nitekim, fermentasyon heterofermantatif bakteriler tarafından desteklendiğinde CO₂ nedeniyle bu kayıplarda artış olabilmektedir (McDonald ve ark., 1991). Bu çalışmadaki veriler değerlendirildiğinde doğal kefir kültürü uygulamalarında fermentasyonun heterofermantatif özellikte, ticari kefir kültürü uygulamalarında ise homofermantatif özellikte şekillendiği söylenebilir. Çalışmada 16SrRNA Dizi analizi sonuçları değerlendirildiğinde, fermentasyon dönemi (45. gün) silajlarda LAB'inden *Enterococcus faecium* ağırlıklı olmak üzere, *Lactobacillus brevis* ve *Pediococcus pentosaceus* baskın türler olarak belirlenmiştir. Aerobik stabilite dönemi sonrasında ise ağırlıklı olarak *Weissella paramesenteroides*, *Bacillus cereus*, *Bacillus sp.* ve *Bacillus megaterium* türleri tespit edilmiştir. Bu konuda yapılan çalışmalarda, araştırmacılar, silajlarda en çok rastlanan LAB türleri olarak *Lactobacillus* ve *Streptococcus* cinslerine ait türleri bildirmektedir. Silajda *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus brevis* veya *Lactobacillus buchneri* gibi anaerobik LAB'nin etkin olması istenirken, *Clostridia*, *Enterobacteriaceae*, *Bacilli* ve *Listeria* gibi bakterilerin ise bulunmaması istenmektedir. Bu tür bakteriler, silaj kalitesinin düşmesine ve dolayısıyla da aerobik stabilitenin azalmasına neden olmaktadır (Basmacıoğlu ve Ergül, 2002). Çalışmadan elde edilen veriler dikkate alındığında

özellikle heterofermantatif özelliklere sahip *L. brevis* bulunduğu silajların aerobik stabiliteilerinin daha iyi olduğunu söylenebilir. Mısır silajlarına LAB izolatlarının etkilerinin incelendiği bir çalışmada da *L. brevis*'in silajların aerobik stabilitesinde, 6 saatlik bir iyileşme sağladığı tespit edilmiştir (Kızılsimşek ve ark., 2016). *L. brevis* kefirde yaygın olan bir LAB türüdür bu açıdan bakıldığında aerobik stabilitenin uzatılması açısından önemli olduğu söylenebilir.

SONUÇ

Araştırma sonucunda, kefir kullanımı yonca silajlarının fermantasyon ve mikrobiyolojik kompozisyon özelliklerini olumlu yönde etkilemiştir. Aerobik stabiliteye ilişkin değerlendirme sonuçları dikkate alındığında; kefirli silajların CO₂ üretimi, maya ve değerlerinin az olması dikkat çekicidir. Bu çalışmada doğal kefir kültürü uygulamalarında izole edilen LAB heterofermantatif özellikte bulunurken, ticari kefir kültürü uygulamalarında ise homofermantatif özellikte LAB'lar izole edilmiştir. Bu anlamda kefirin LAB kaynağı olarak kullanılabilmesi ancak doğal kefir kültürü uygulamalarında özellikle LAB türlerinin kefir kültürüne bağlı olarak farklılık göstereceği unutulmamalıdır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma NKUBAP.00.24.AR.14.13 numarasıyla, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Akyıldız AR 1984. Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu. Ankara, 236 s.
- Anonim 1986. The Analysis of Agricultural Material, Reference Book: 427. London, Pp. 428.
- Arriola KG, Queiroz OCM, Romero JJ, Casper D, Muniz E, Hamie J, Adesogan AT 2015. Effect of microbial inoculants on the quality and aerobic stability of bermudagrass round-bale haylage. J. Dairy Sci. 98:478–485.
- Ashbell G, Weinberg ZG, Azrieli A, Hen Y, Horev B 1991. A simple system to determine the aerobic determination of silages. Can. Agric. Eng. 33: 391–395.
- Basmacıoğlu H, Ergül M 2002. Silaj mikrobiyolojisi. Hayvansal Üretim Dergisi 43(1): 12-24.

- Cebe Hotun G, Tuna YT, Koç F 2019. Silaj inokulantları kullanarak yapılan araştırmaların meta analitik değerlendirilmesi. Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi.2 (2): 21-34.
- Chen J, Stokes MR, Wallace CR 1994. Effects of enzyme-inoculant systems on preservation and nutritive value of hay crop and corn silages, J. Dairy Sci., 77: 501-512.
- Daniel JLP, Checolli M, Zwielehner J, Junges D, Fernandes J, Nussio LG 2015. The effects of *Lactobacillus kefir* and *L. brevis* on the fermentation and aerobic stability of sugarcane silage. Animal Feed Science and Technology 205: 69–74.
- Efe E, Bek Y, Şahin M 2000. SPSS'te çözümleri ile istatistik yöntemler II. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları, Kahramanmaraş, 223s.
- EFSA 2013. Scientific Opinion on the safety and efficacy of *Lactobacillus kefir* (DSM 19455) as a silage additive for all animal species. EFSA J. 4, 1–10, <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3177>, Available online: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/3177.pdf>
- Filya İ 2001. Silaj fermantasyonu. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 32 (1): 87-93.
- Illek J 2006. Health risk posed by feeding low quality silage. 12. International Symposium on Forage Conservation. Brno, Czech Rep. April 3-5, 2006, p: 129-130.
- Kızılsimşek M, Öztürk Ç, Küsek M, Mokhtar NEP, Ertem P 2016. Doğal vejetasyondan izole edilmiş ve belirli özelliklerine göre seçilmiş olan 10 adet lab izolatının mısır silajının fermantasyon profili ve aerobik stabilitesi üzerine etkileri. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 25 (Özel sayı-2): 278-284.
- Kızılsimşek M, Schmidt RJ, Kung LJr 2007. Effects of a mixture of lactic acid bacteria applied as a freeze-dried or fresh culture on the fermentation of alfalfa silage. J. Dairy Science. 90 (12): 5698-5705.
- Kleinschmit DH, Schmidt RJ, Kung L 2005. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. J. Dairy Sci. 88:2130–2139.
- Koç F, Coşkuntuna L 2003. Silo yemlerinde organik asit belirlemede iki farklı metodun karşılaştırılması. Hayvansal Üretim, 44 (2): 37-47.
- Kung L Jr, Muck RE 1997. Animal Response to Silage Additives. Pages 200–210 in Proc. Silage: Field to Feedbunk North American Conference. NRAES-99. Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Ithaca, NY.
- McDonald P, Henderson N, Heron S 1991. The Biochemistry of Silage Cambrian Printers Ltd., Aberystwyth, 340p.

- Muck RE, L Kung Jr 1997. Effects of silage additives on ensiling. Pages 187–199 in Proc. Silage: Field to Feedbunk North American Conference. NRAES-99. Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Ithaca, NY.
- Özpinar A 2012. Kefir ve bozanın *in vitro* antioksidan aktivitelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.
- Phillip LE, Underrhill L, Garino H 1990. Effects of treating lucerne with an inoculum of lactic acid bacteria or formic acid upon chemical changes during fermentation, and upon the nutritive value of the silage for lambs. Grass and Forage Sci., 45 (3): 337–344.
- Pitt R 1986. Microbial and enzymatic additives for ensiling. 54th, (pp. 137–147). Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Proc Cornell Nutr Conf Feed Manuf 199.
- Pitt RE 1990. The probability of inoculant effectiveness in alfalfa silages. American Society of Agricultural Engineering. 33:1771- 1778.
- Playne MJ, McDonald P 1966. The Buffering Constituent of Herbage and of Silage, J. Sci. Food. 17(6): 264-268.
- Seale DR, Pahlow G, Spoelstra SF, Lindgren S, Dellaglio F, Lowe JF 1990. Methods for The Microbiological Analysis of Silage, Proceeding of The Eurobac Conference, 147. Uppsala.
- Silva VP, Pereira OG, Leandro E, Silva T Da, Ribeiro K, Mantovani H, Santos S 2016. Effects of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential on the fermentation profile and chemical composition of alfalfa silage in tropical conditions. J. Dairy Sci. 99:1895–1902.
- SPSS Inc. 2007. SPSS for Windows, Version 16.0. Chicago, SPSS Inc.
- Stokes MR 1992. Effects of an enzymes mixture, an inoculant and their interaction on silage fermentation and dairy production. Journal of Dairy Science. 75:764-773.
- Supelco 1998. Analyzing fatty acids by packed column gas chromatography, Sigma-Aldrich Corp, Bulletin 856, Bellefonte, PA.
- Zwiehler JC, Schoendorfer K, Schatzmayr G 2014. A meta-analysis of *Lactobacillus kefir* DSM 19544 and *Lactobacillus brevis* DSM 23231 as silage inoculant in whole plant maize silage. In: Proc. Int. Sci. Conf. Probiotics and Prebiotics, Budapest, Hungary, p. 173.



Bowen Oranı Enerji Dengesi Yöntemiyle Buğday Su Tüketiminin Belirlenmesi

Deniz Levent KOÇ^{1*}, Rıza KANBER²

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü, Adana

¹<https://orcid.org/0000-0002-4495-3060>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7758-8787>

✉: leventk@cukurova.edu.tr

ÖZET

Araştırmada, Çukurova yöresinde doğal yağış koşullarında yetiştirilen buğday bitkisinin gerçek su tüketimi, Bowen oranı enerji dengesi (BREB) ve su bütçesi yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Buğdayın mevsimlik su tüketimi BREB yöntemiyle 477 mm, su bütçesi yöntemiyle 494 mm hesaplanmıştır. Sulanan buğday konusunda ise mevsimlik su tüketimi su bütçesi yöntemiyle 708 mm hesaplanmıştır. Su bütçesi ile BREB yöntemi kullanılarak elde edilen bitki su tüketimi değerleri arasında $R^2=0.83$ olan doğrusal bir ilişki bulunmuştur. Buğday bitkisine ilişkin bitki katsayıları (Kc), FAO-Penman-Monteith (PM) eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır. Kc değerleri başlangıç, bitki gelişimi, mevsim ortası ve mevsim sonu dönemleri için, sırasıyla 0.55, 0.98, 1.47 ve 0.77 olarak hesaplanmıştır. Denemede dane verimi değerleri susuz ve sulanan konuda sırasıyla 661 ve 551 kg.da⁻¹; kuru madde miktarı 1611 ve 1645 kg.da⁻¹ olarak elde edilmiştir. Su kullanma randımanları ise, kuru madde esasına göre (WUE_b) susuz ve sulanan konuda sırasıyla 3.38 ve 3.45 g.m⁻².mm⁻¹; verim esasına göre (WUE_y) 1.39 ve 1.15 g.m⁻².mm⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Hasat indeksi (HI) değerleri ise, susuz ve sulanan konuda, sırasıyla 0.44 ve 0.34 olarak hesaplanmıştır. Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre anılan konuların kuru madde miktarı ve dane verimi değerleri arasında istatistiksel anlamda bir fark bulunmamıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 29.07.2019

Kabul Tarihi : 05.01.2020

Anahtar Kelimeler

Bowen oranı

Buğday

Bitki su tüketimi

Bitki katsayısı

Determination of Evapotranspiration for Wheat by Using Bowen Ratio Energy Balance Method

ABSTRACT

The actual evapotranspiration of rainfed wheat was determined by using Bowen ratio energy balance and water balance methods under Çukurova region conditions. The seasonal evapotranspiration of rainfed wheat was 477 and 494 mm for BREB and water budget methods, respectively. The seasonal evapotranspiration of wheat under irrigated conditions was calculated as 708 mm by using water budget method. A linear correlation ($R^2=0.83$) was found between the evapotranspiration obtained by water budget and Bowen Ratio energy balance methods. The single crop coefficients (Kc) for wheat were determined by using the FAO Penman-Monteith equation. The seasonal Kc values were calculated as 0.55, 0.98, 1.47 and 0.77 for initial, crop development, mid-season and maturity periods, respectively. The grain yield was 661 and 551 kg.da⁻¹; the biomass was 1611 and 1645 kg.da⁻¹ under rainfed and irrigated conditions, respectively. The biomass water use efficiency (WUE_b) was 3.38 and 3.45 g.m⁻².mm⁻¹ whereas grain yield water use efficiency (WUE_y) was 1.39 and 1.15 g.m⁻².mm⁻¹ for rainfed and irrigated conditions, respectively. Harvest index (HI) was 0.44 and 0.34 for rainfed and irrigated conditions, respectively. On the basis of the rainfed and irrigated conditions, there were no significant differences between grain yield and biomass values according to the variance analysis.

Research Article

Article History

Received : 29.07.2019

Accepted : 05.01.2020

Keywords

Bowen ratio

Wheat

Evapotranspiration

Crop coefficient

GİRİŞ

Doğru sulama programının iki önemli ögesi; suyun ne zaman ve ne miktarda verilmesi gerektiğidir. Bu kararları verebilmek için tarla koşullarında bitki su tüketimi (evapotranspirasyon) ile ilgili kesin bilgilere gereksinim vardır. Toprak-bitki-atmosfer ortamı içerisinde bulunan ve sulama projelerinin temelini oluşturan bitki su tüketimi gerek tarım gerekse çok amaçlı projelerin planlanması, yapımı ve işletilmesinde vazgeçilmez bir öğedir. Sulama sistemlerinin kapasiteleri, yaz mevsiminde kısa bir dönemde görülen en yüksek tüketim değerini karşılayabilmek için gerekli suyu sağlayacak şekilde planlanır. Bu yüzden sulama projelerinin doğru planlanması ve işletilmesi, bölge koşullarında yetiştirilen bitkilerin aylık ve daha kısa dönemlere ilişkin bitki su tüketim miktarlarının doğru ölçülmesine bağlıdır (Burman and Pochop, 1994).

Bitki su tüketiminin ölçülmesi için çok sayıda model ve yöntem geliştirilmiştir (Burman and Pochop, 1994). Bu yöntemlerden yaygın olarak kullanılanları su dengesi (lizimetreler, nem azalma), mikrometeorolojik yöntemler (Bowen oranı enerji dengesi, eddy korelasyon) ve fizyolojik yöntemler (bitki taç odacığı, ısı çarpışı/dengesi)'dir (Steduto ve Çetinkökü 1999; Kanber, 1999). Dünya'da ve Türkiye'de bitki su tüketimi daha çok tarla parsellerinde ve lizimetrelerde su bütçesi eşitliği kullanılarak ölçülmektedir. Ancak, tarla parsellerinde anılan eşitliğin kimi öğelerinin ölçülme gücü ve yapılabilecek hatalar, elde edilen sonuçların önemli bir bölümünü tartışılır hale getirmiştir. Diğer yandan en doğru ve en doğrudan yöntem olmakla birlikte, tartılı lizimetrelerin oldukça pahalı ve hareketsiz sistemler olması, bunların bitki su tüketimi çalışmalarında kullanılmasını kısıtlamaktadır (Reicosky et al., 1983; Kanber, 1999). Bu nedenle geniş alanlarda sürekli ölçüm yapabilen, hareketli, çabuk ve doğru sonuçlar verebilen yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Açıklanan niteliklere sahip ve bitki su tüketiminin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan kapalı sistem bitki taç odacıkları (closed-system canopy chamber) yöntemi, küçük parsellerde bitki veya bitki gruplarından oluşan su buharı ve CO₂ akı değişimlerini aynı anda ölçebilmektedir. Ancak, odacık yönteminin de en önemli sınırlılığı bitkinin mikro-çevresini değiştirmesidir.

Mikrometeorolojik yöntemlerden Bowen oranı enerji dengesi yöntemi (BREB), belli bir sürede günlerce otomatik olarak veri toplamanın kolay olduğu, kuruluş giderlerinin diğer mikrometeorolojik yöntemlere göre daha düşük olduğu ve kısmen basit bir alet olarak sayılabilir (Steduto ve Çetinkökü, 1999). Üstelik, basit ve uygulanabilirliğinden dolayı, BREB yöntemi, çok geniş bir uygulama alanında kullanılabilir (Prueger, 1997). BREB yöntemi enerji akılarının dolaylı ölçümünde sıklıkla kullanılan; net radyasyon, toprak ısı akısı ile iki farklı seviyede sıcaklık ve nem ölçümü temeline dayanan, dayanıklı ve düşük maliyetli bir yöntemdir (Özkoca, 2015). BREB yöntemi, tarla ve bahçe bitkilerinin gerçek evapotranspirasyonunun belirlenmesinin yansısı; ormanlık bölgelerde evapotranspirasyonun belirlenmesi ve hidrolojik döngünün incelenmesinde, göllerde ve bataklıklarda açık su yüzeyi buharlaşmasının hesaplanmasında, eddy korelasyon (EC) yöntemi ile birlikte seralarda evapotranspirasyonun belirlenmesinde kullanılmaktadır (Abtew, 2005; Dicken et al., 2013; Kumagai et al., 2004; Spittlehouse and Black, 2010; Wang et al., 2014).

Bu çalışmada, Çukurova koşullarında Bowen oranı enerji dengesi yöntemi (BREB) kullanılarak 10 dekar arazide yağış koşullarında yetiştirilen buğday bitkisinden atmosfere aktarılan su buharı akısının ölçülmesi amaçlanmıştır. Buğday su tüketimi diye tanımlanan akı ölçümleri sonuçları, su bütçesi yöntemiyle karşılaştırılmıştır. Çalışmada, sulanan koşullarda yetiştirilen buğday bitkisinin su tüketimi de belirlenmiştir. Ayrıca, FAO-Penman Monteith (PM) yönteminden yararlanılarak buğday bitkisine ilişkin su tüketim katsayıları (Kc) hesaplanmıştır. Ulaşılan sonuçlar bitkinin farklı büyüme dönemlerine göre irdelenmiştir.

MATERYAL ve METOD

Deneme, 2003-2004 yıllarında Çukurova koşullarında 10 dekarlık buğday ekili bir alanda yürütülmüştür. Mutlu serisinde yer alan deneme alanı toprakları düz ve düze yakın topografyada olup, yüksek oranda şişme özelliği gösteren kil içerir (Özbek ve ark., 1974). Deneme alanı topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir (Ünlü, 2000).

Çizelge 1. Deneme alanı topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Table 1. Some physical and chemical properties of experimental soils

Katman Derinliği (cm)	TK g.g ⁻¹	SN g.g ⁻¹	As g.cm ⁻³	pH	EC dS.m ⁻¹	CaCO ₃ (%)	Özgül Ağırlık	Bünye Sınıfı
0-30	38.43	24.66	1.34	7.05	0.25	6.63	2.47	Kil
30-60	38.41	24.46	1.37	7.20	0.18	8.05	2.55	Kil
60-90	37.31	24.31	1.39	7.05	0.19	8.29	2.60	Kil
90-120	39.78	25.91	1.36	7.15	0.16	10.66	2.44	Kil

Akdeniz ikliminin hüküm sürdüğü Çukurova’da yazlar sıcak ve kurak, kışlar ılık ve yağışlıdır. Araştırma yöresine ait uzun yıllık ortalama iklim verileri Çizelge 2’de verilmiştir (MGM, 2019).

Araştırmada (23x25) m²’lik bir alanda damla sulama yöntemiyle sulama yapılmış ve “sulanan konu” olarak adlandırılmış; arazinin diğer kısımlarında sulama yapılmamış bitki yağış koşullarında yetiştirilmiştir. Bu uygulama susuz konu olarak adlandırılmıştır. Denemede, elde edilen veriler eş yapma tekniği ile

değerlendirilmiştir. Denemede sulamalar, gravimetrik yöntemle belirlenen 60 cm derinlikteki toprak nemini, tarla kapasitesine getirecek şekilde damla sulama yöntemiyle yapılmıştır. Buğday çıkışının sağlanması için 22 Kasım ve 2 Aralık 2003 tarihlerinde yağmurlama sulamayla toplam 43 mm sulama suyu verilmiştir. Diğer sulamalar, damla sulamayla yapılmıştır. İlk sulama ekimden 122 gün sonra (sapa kalkma dönemi) 18 Mart 2004 tarihinde uygulanmıştır.

Çizelge 2. Araştırma yöresindeki uzun yıllık iklim verileri (1928-2019)

Table 2. Long-term climate data in the research area (1928-2019)

İklim Ögeleri	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran
Ortalama Sıcaklık, °C	9.49	10.55	13.42	17.53	21.80	25.64
Oransal Nem, %	66.25	66.35	65.76	67.45	66.74	66.37
Yağış, mm	110.72	89.61	65.12	51.38	48.41	21.96
Buharlaşma (Epan), mm	44.75	52.77	83.62	111.33	158.82	201.21
Rüzgar Hızı,m/s	1.61	1.64	1.65	1.58	1.53	1.60
Buhar Basıncı Açığı, mb	7.30	7.69	9.14	11.91	15.38	19.47
İklim Ögeleri	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
Ortalama Sıcaklık, °C	28.21	28.68	26.10	21.68	15.85	11.17
Oransal Nem, %	68.94	68.05	63.50	60.80	63.05	67.07
Yağış, mm	10.23	9.98	19.82	43.89	71.93	124.00
Buharlaşma (Epan), mm	228.33	214.42	167.77	114.95	64.14	45.34
Rüzgar Hızı,m/s	1.69	1.57	1.40	1.24	1.23	1.45
Buhar Basıncı Açığı, mb	23.63	24.17	19.10	13.81	10.15	8.12

Not: (Kasım-Aralık verileri 2018’e kadar olan ortalama değerleri kapsamaktadır. Buharlaşma verileri 1948’den itibaren ortalama değerleri kapsamaktadır).

Araştırma boyunca toplam 454 mm sulama suyu verilmiştir. Çıkış suyu hariç, toplamda 5 kez sulama yapılmıştır. Denemede, Adana-99 ekmeçlik buğday çeşidi kullanılmıştır. Anılan çeşit kışa ve kuraklığa orta derecede dayanıklı olup, bitki boyu 95-110 cm’dir. Beyaz sık kılçıklı başak yapısına sahiptir. Yüksek verimli olup sahil bölgelere önerilmektedir (Ay, 2003). Araştırmada, Bowen sisteminde solar radyasyonun ölçümünde bir adet pyranometre, sıcaklık ve nem ölçümlerinde iki adet sıcaklık ve nem algılayıcısı, net radyasyonun ölçümünde bir adet net radyasyon ölçer, rüzgar hızlarının ölçümünde bir adet rüzgar hızı ölçer, toprak ısıısının ölçümünde ise, iki adet toprak ısı akışı ölçeri kullanılmıştır. Ayrıca, sistemin enerjisi güneş panelinden (12 volt) sağlanmıştır. Ölçümlerin kaydedilmesinde veri kaydedicisi (data logger) ve ölçümlerin veri kaydedicisinden bilgisayara aktarılmasında ise diz üstü bilgisayar kullanılmıştır.

Buğday bitkisinin gerçek su tüketimi su bütçesi eşitliği (Eşitlik 1) yardımıyla belirlenmiştir (Howell ve ark., 1986).

$$ET_{WB} = I + P + D \pm R \pm \Delta S \quad (1)$$

ET_{WB}: Gerçek bitki su tüketimi (mm), I: Sulama suyu miktarı (mm), P: Yağış miktarı (mm), D: Derine süzülme miktarı (mm), R: Yüzey akış miktarı (mm), ΔS: Toprak su depolamasındaki değişim miktarı, mm

Arazinin çevresi seddeler ile çevrildiği için yüzey akış kayıp ve kazancı sıfır alınmıştır. Çalışmada 90 cm için hesaplanan, tarla kapasitesinin üzerindeki nem değerleri derine sızma olarak kabul edilmiştir.

BREB yöntemi buharlaşma yüzeyi üzerine gelen ve kaybolan enerjinin dengesine dayanır (Prueger, 1997). Bowen (1926) tarafından geliştirilen Bowen Oranı Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\beta = \frac{H}{L_e} \quad (2)$$

β: Bowen oranı, H: Duyumsanır ısı akısı (W.m⁻²), Le: Buharlaşma gizli ısı akısı (W.m⁻²)

Toprak, bitki, atmosfer sisteminin enerji dengesi aşağıdaki gibi yazılabilir.

$$R_n = G + H + L_e \quad (3)$$

R_n: Net radyasyon (W.m⁻²), G: Toprak ısı akısı (W.m⁻²), H: Duyumsanır ısı akısı (W.m⁻²), Le: Buharlaşma gizli ısı akısı (W.m⁻²)

Enerji dengesi eşitliğindeki terimlerin tümü, doğrudan yüzeye doğru olan akı için pozitif, yüzeyden uzaklaşan akı için negatif olarak işaretlenir. Fakat bu çalışmada yüzeyden uzaklaşan Le akılarının yönleri buharlaşma gizli ısı akılarının net radyasyona bağlı olarak değişimlerinin daha kolay anlaşılabilmesi için pozitif olarak işaretlenmiştir.

2 ve 3 numaralı eşitliklerden yararlanılarak buharlaşma gizli ısı akısı aşağıdaki şekilde yazılmıştır.

$$Le = \frac{R_n - G}{1 + \beta} \quad (4)$$

Çalışmada Bowen oranı aşağıdaki eşitlik aracılığıyla hesaplanmıştır.

$$\beta = \gamma \frac{\Delta T}{\Delta e} \quad (5)$$

ΔT : Sıcaklık farkı ($^{\circ}C$), Δe : Buhar basıncı farkı (kPa), γ : Psikometrik katsayı

Eşitlikteki G , R_n , Δe ve ΔT Bowen sistemiyle ölçülmüştür. Eşitlik 4 kullanılarak buğday gerçek su tüketimi belirlenmiştir.

Sıcaklık ve nem ölçümleri bitki örtü yüzeyinde iki farklı yükseklikte yapılmıştır. Ölçümlerde sıcaklık ve nem algılayıcıları kullanılmıştır. Algılayıcılar 0.5 m aralıklarla konumlandırılmış; ilk sıcaklık ve nem ölçer algılayıcısı, bitki örtü yüzeyinden 30 cm; ikincisi ise 80 cm yüksekliğe yerleştirilmiştir (Held ve ark., 1990). Bitki boylarının zaman içerisinde artmasıyla algılayıcıların yükseklikleri değiştirilerek algılayıcılar arasındaki düşey uzaklık korunmuştur. Net radyasyon net radyasyon ölçer kullanılarak belirlenmiştir. Alet bitki örtü yüzeyinden 1 m yüksekliğe, yere paralel ve algılayıcı başlık güney yönüne gelecek şekilde yerleştirilmiştir (Held ve ark., 1990). Net radyasyon ölçerin algılayıcı noktası üzerine 0.25 mm kalınlığında polietilen koruyucu, rüzgar ve yağışlardan aletin korunması amacıyla yerleştirilmiştir (Anonim, 1995). Toprak ısı akısının ölçülmesi amacıyla, içerisinde sıcaklık algılayıcıları bulunan 2 adet plaka kullanılmıştır (Anonim, 1991). Isı akısı plakaları toprağın 2-3 cm derinliğine yerleştirilmiştir. Bowen sisteminde ölçümler her saniyede yapılmış ve 5'er dakikalık ortalamalar şeklinde otomatik olarak kaydedilmiştir.

Bitki katsayıları aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir (Doorenbos ve Pruitt, 1977).

$$K_c = \frac{ET_c}{ET_o} \quad (6)$$

K_c : Bitki katsayısı, ET_c : Gerçek bitki su tüketimi (mm), ET_o : Kıyas bitki su tüketimi (mm)

Bitki katsayılarını elde etmek için FAO-Penman Monteith (FAO-PM) eşitliği kullanılmıştır.

$$ET_o = \frac{0.408\Delta(R_n - G) + \gamma \frac{900}{T + 273} U_2 (e_s - e_a)}{\Delta + \gamma(1 + 0.34U_2)} \quad (7)$$

T : Ortalama hava sıcaklığı, ($^{\circ}C$), U_2 : 2 m yükseklikte ölçülen rüzgar hızı, ($m.s^{-1}$), $(e_s - e_a)$: Havanın buhar basıncı açığı, (kPa), Δ : Sıcaklık-doygun buhar basıncı

eğrisinin eğimi ($kPa.^{\circ}C^{-1}$).

Birim alandan elde edilen dane ağırlığının toprak üstü toplam kuru maddeye oranı olarak tanımlanan hasat indeksi (HI) aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır (Beadle, 1985).

$$HI = \frac{Y}{BK} \quad (8)$$

HI: Hasat indeksi, Y: Birim alandan elde edilen dane verimi ($g.m^{-2}$), BK: Toprak üstü kuru madde ağırlığı (biyokütle) ($g.m^{-2}$)

Su kullanma randımanı Hsiao (1993) tarafından aşağıdaki şekilde açıklanmıştır.

$$WUE = \frac{Y}{I} \quad (9)$$

WUE: Su kullanım randımanı, Y: Dane verimi ($g.m^{-2}$), I: Uygulanan sulama suyu miktarı (mm)

Konulara ilişkin toplam su kullanma randımanı evapotranspirasyon değerlerine göre aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir.

$$WUE_{ET} = \frac{Y}{ET} \quad (10)$$

WUE_{ET}: Toplam su kullanma randımanı, ET: Evapotranspirasyon (mm)

Kuru madde su kullanma randımanı ise aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$WUE_b = \frac{Yb}{ET} \quad (11)$$

WUE_b: Kuru madde su kullanma randımanı, Y_b: Kuru madde miktarı ($g.m^{-2}$)

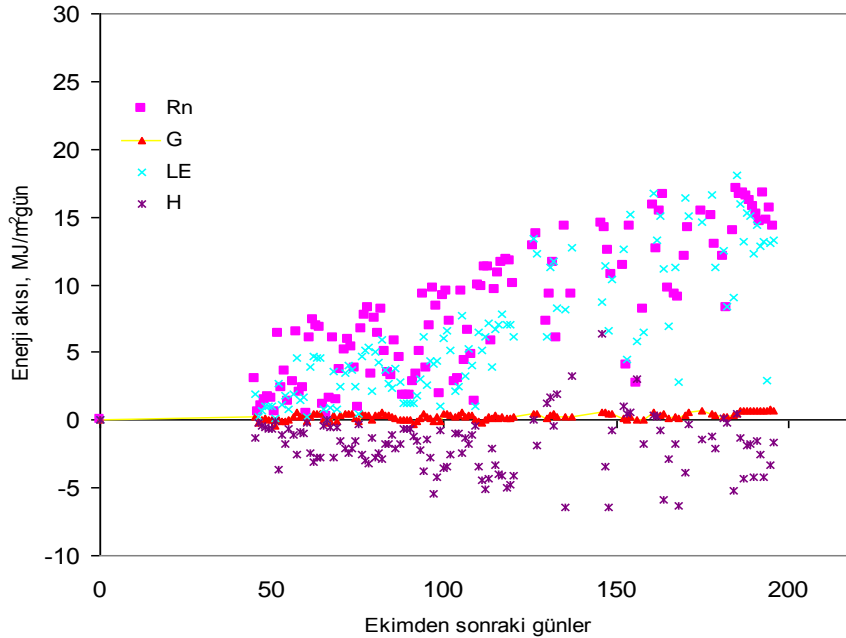
BULGULAR ve TARTIŞMA

Su bütçesi yöntemine göre; susuz ve sulanan konuda mevsimlik buğday su tüketimi değerleri sırasıyla 494 mm ve 708 mm bulunmuştur. Susuz konuda BREB yöntemine göre ise mevsimlik buğday su tüketimi 477 mm olarak belirlenmiştir. Sezen (1993), Sezen ve Yazar (1996), Çukurova koşullarında yapmış oldukları çalışmalarda su bütçesi yöntemi ile belirlenen buğday su tüketimlerinin farklı sulama düzeylerine bağlı olarak 422 ile 519 mm arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Akpolat (2011), Çukurova koşullarında buğday ile yaptığı çalışmada, BREB yöntemi ile mevsimsel bitki su tüketimini 320 mm olarak belirlemiştir. BREB metodu gündeğümü-günbatımı saatlerinde ve yağışlı zamanlarda hatalı veriler üretebilmektedir ve ölçümlerin doğruluğu uygun verilerin ayıklanma aşamasında kullanılan filtreleme yöntemine direkt bağlıdır (Özkoca, 2015). Bu iki çalışma arasındaki farklılığa yıllar arasındaki yağış miktarının farklı olması ve verilerin ayıklanmasındaki problemler neden olmuş olabilir. Bu nedenle uzun yıllık ölçümlerin değerlendirilmesi ve doğrudan ET ölçüm yöntemi olan tartılı lizimetre ile

karşılaştırılması gerekir. Djaman et al., (2018), Adana gibi yarı kurak bir bölgede (New Mexico) 2002-2014 yılları arasında buğday bitkisi ile yaptıkları bir çalışmada konulara 511 mm ile 787 mm arasında sulama suyu uygulamışlardır. Su bütçesi yöntemine göre belirlenen bitki su tüketimleri konulara göre 625 mm ile 890 mm arasında değişmiştir. Prueger ve ark., (1997), Adana gibi yarı kurak bir bölgede (Sidney, Avustralya) yaptıkları iki yıllık bir çalışmada, BREB ve lizimetre yöntemlerinden elde edilen mevsimlik bitki su tüketimi değerleri arasında çok az bir fark bulmuşlardır. Fakat araştırmacılar yağışın çok fazla olduğu yılda ise lizimetreden elde edilen mevsimlik bitki su tüketiminin BREB'den elde edilene göre daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar, yaptıkları bu çalışmada büyük alanlarda BREB yönteminin lizimetrelerle birlikte doğru evapotranspirasyon (ET) tahminleri yaptığı sonucuna varmışlardır. Ünlü ve ark., (2010), Çukurova koşullarında yaptıkları bir çalışmada BREB yöntemi ile tartılı lizimetre yöntemini karşılaştırmışlardır. BREB yöntemi ile lizimetre yöntemi hem günlük ET hem de mevsimsel ET'de birbirine oldukça yakın bir performans göstermiştir. Özkoca (2015), Kırklareli'nde yaptığı bir çalışmada, BREB yöntemi ile buğday bitkisinin gelişme dönemi boyunca su tüketimini 465 mm, EC yöntemi ile 344 mm olarak belirlemiştir. Sonuçlar, EC'nin BREB'ten %26 daha düşük ET değeri

ürettiğini göstermiştir. Araştırmacı, EC yöntemi ile ölçülen değerlerin BREB'e göre daha düşük olmasının temel sebebinin; yağışlı günler ve rüzgâr hızının düşük olduğu sakin günler ile rüzgâr yönünün hakim doğrultudan gelmediği sistemin doğru ölçüm yapamamasından kaynaklanmış olabileceğini bildirmiştir. Ünlü ve ark., (2014) tarafından Çukurova koşullarında greylift bahçelerinde farklı sulama programlarının değerlendirildiği bir çalışmada, BREB yöntemi ile Eddy Korelasyon (EC) yöntemi gerçek evapotranspirasyonun belirlenmesinde yakın sonuçlar vermiştir. BREB yöntemi, ilk kez seralarda Dicken et al., (2013) tarafından kullanılmıştır. EC yöntemi ile birlikte İsrail'de bir muz serasında kullanılan BREB yöntemi doğru ve güvenilir sonuçlar vermiştir. Shi et al., (2008) tarafından Çin'de farklı tipte ağaçların olduğu ormanlık bir alanda yapılan çalışmada, Mayıs-Eylül gelişme sezonunda, EC ve BREB yöntemleri birbirine yakın ET değerleri üretmiştir.

Araştırmada, Bowen sistemiyle elde edilen enerji dengesi bileşenlerinin mevsim boyunca değişimleri, Şekil 1'de verilmiştir. Net radyasyon miktarı (R_n) ortalama $9 \text{ MJ.m}^{-2}\text{gün}^{-1}$ olarak ölçülmüştür. R_n değerleri, Ocak ve Şubat ayında küçük değerlerdeyken; Nisan ve Mayıs aylarında en yüksek değerlere ulaşmıştır. Buharlaşma gizli ısı akı (L_e) değerleri net radyasyona benzer bir tavır sergilemiştir.



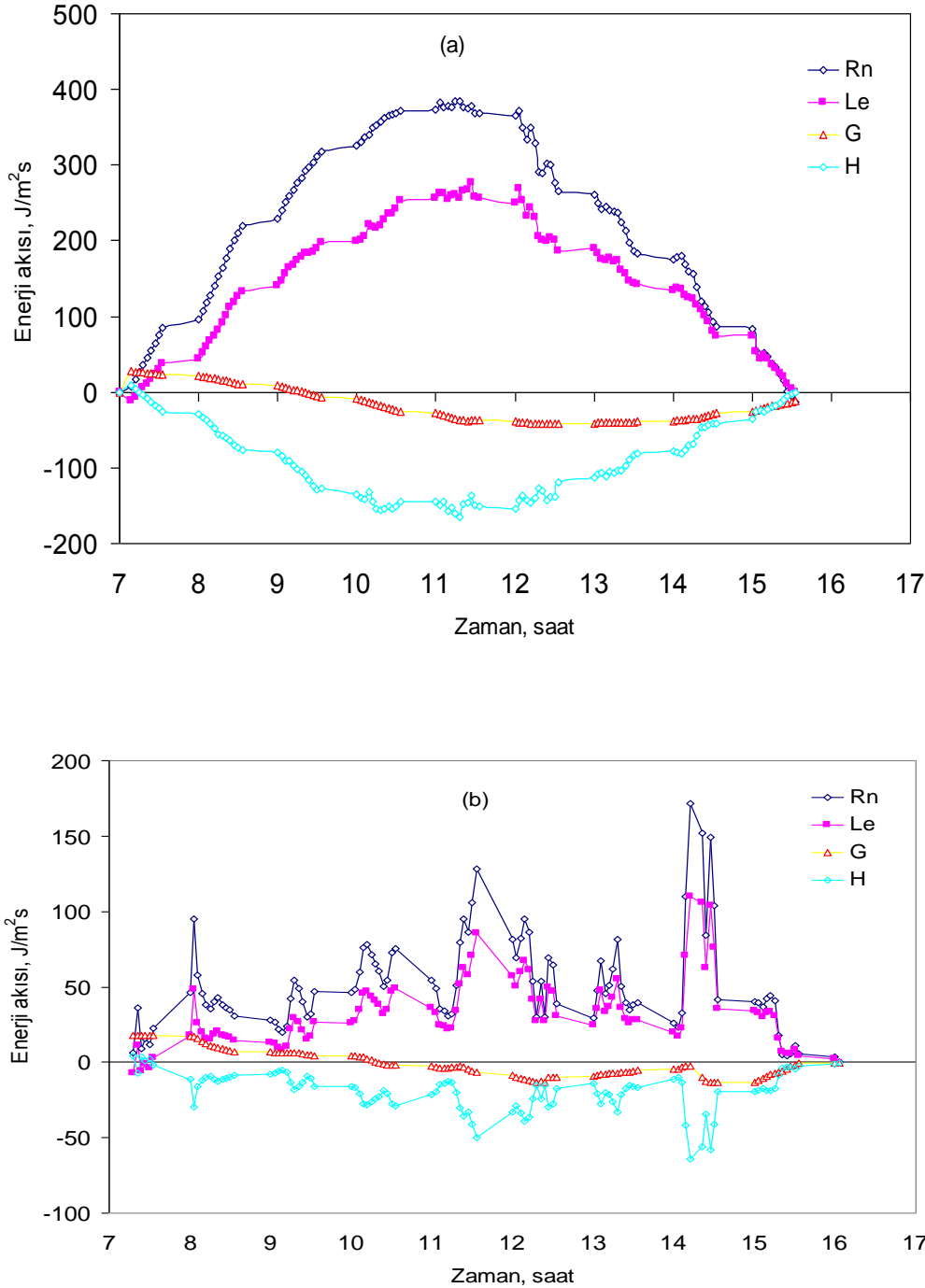
Şekil 1. Enerji dengesi bileşenlerinin büyüme mevsimi boyunca değişimleri
Figure 1. Changes of energy balance components during the growing season

Açık ve kapalı gökyüzü koşullarında enerji dengesi bileşenlerinin değişimi birbirinden çok farklı olmuştur (Şekil 2a, b). Şekil 2a'da net radyasyon akısının (R_n) genelde açık gökyüzü koşullarında gün boyu hiç sapma göstermeden güneşin doğuşuyla birlikte arttığı, öğle

saatlerinde pik düzeye ulaştığı ve daha sonra güneşin batışına kadar azalan bir tavır sergilediği görülmektedir. Net radyasyon akısı güneşin doğuşuyla birlikte artmaya başlamış ve öğle saatlerinde pik değere ulaşmış ve güneşin batışına kadar giderek

azalmıştır. Aynı koşullarda buharlaşma gizli ısı akısı (Le) değerleri net radyasyon akısıyla aynı tavrı göstermiştir. Kapalı gökyüzü koşullarında ise (Şekil

2b) Rn, Le ve duyumsanır ısı akısı (H) değerlerinde sürekli sapmalar olmuş, toprak ısı akı (G) değerleri ise açık gökyüzü koşullarına benzer tavrı sergilemiştir.



Şekil 2. Enerji dengesi bileşenlerinin değişimi (a) açık ve (b) kapalı gökyüzü koşulları
Figure 2. Change of energy balance components (a) open and (b) closed sky conditions

Bitki katsayılarının kestiriminde FAO-PM yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen Kc değerleri Çizelge 3'de verilmiştir. Çizelge 3'de görüldüğü gibi, maksimum ve minimum Kc değerleri sırasıyla 1.47 ve 0.55; ortalama Kc değeri ise 0.94 olarak hesaplanmıştır. Kang et al.,

(2003), yarı kurak iklime sahip Loess Plateau koşullarında kışık buğdayla yaptıkları bir çalışmada maksimum ve minimum Kc değerlerini sırasıyla 1.43 ve 0.45, ortalama Kc değerini ise, 0.92 olarak hesaplamışlardır. Anılan değerlerle araştırmada elde

edilen değerler birbirine oldukça yakındır. Irmak et al., (2015) tarafından yarı kurak bir iklime sahip olan Nebraska'da buğday bitkisi ile yapılan bir çalışmada, Kc değerleri başlangıç dönemi için 0.60, mevsim ortası dönem için 1.30 ve mevsim sonu dönem için 0.30 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3. FAO-PM yöntemine göre bitki katsayılarının mevsimlik değişimi
Table 3. Seasonal changes of single crop coefficients according to FAO-PM method

Büyüme Dönemi	Büyüme Dönemi Uzunluğu, gün	K _c
Başlangıç	23	0.55
Bitki Gelişimi	25	0.98
Mevsim Ortası	60	1.47
Mevsim Sonu	68	0.77

Konulara göre elde edilen ortalama dane verimi, hasat indeksi ve farklı zamanlarda alınan ortalama kuru madde miktarları Çizelge 4'te verilmiştir. Kuru madde miktarı susuz konuda 1611 kg.da⁻¹; sulanan konuda 1645 kg.da⁻¹ olarak belirlenmiştir. Yapılan varyans analiz sonuçları bu değerlerin istatistiksel açıdan farksız olduğunu göstermiştir (Çizelge 5). Keklikçi ve ark. (2004), Adana-99 çeşidiyle yaptıkları 2 yıl süren çalışmada kuru madde miktarlarını farklı azot dozlarına bağlı olarak ortalama ilk yıl 1797 kg.da⁻¹ ikinci yıl 2023 kg.da⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Elde edilen sonuçlar yukarıda söz edilen çalışma ile yakınlık göstermektedir.

Bu çalışmada dane verimi susuz ve sulanan konuda sırasıyla 661 kg.da⁻¹, 551 kg.da⁻¹ olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonuçları bu değerlerin istatistiksel açıdan benzer olduğunu göstermiştir (Çizelge 5). Bu duruma; buğday yetiştirme mevsiminde düşen yağışların tamamlama sulamadan daha etkili olması ve sıcaklık ve rüzgar gibi iklim etmenlerinin bitki su tüketimini artırarak sulamalardan yararlanmayı olumsuz yönde etkilemesinin neden olduğu düşünülmektedir. Ay (2003), yapmış olduğu iki yıl süren çalışmasında aynı azot dozlarının ve farklı sulama konularının uygulandığı Adana-99 çeşidi buğdayda, bu çalışmayla benzer şekilde kuru konuda buğday verimini ortalama 707.9 kg.da⁻¹; sulu konuda ortalama 702.5 kg.da⁻¹ olarak belirlemiştir. Keklikçi ve ark., (2004), Adana-99 buğday çeşidiyle yaptıkları bir çalışmada dane

veriminin 422-636 kg.da⁻¹ arasında değiştiğini bulmuşlardır. Yukarıdaki araştırmacıların sonuçları, bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile uyum içerisindedir.

Hasat indeksi (HI) değerleri ise; bu çalışmada susuz ve sulanan konuda sırasıyla 0.44 ve 0.34 olarak bulunmuştur. HI arasında istatistiksel anlamda bir fark bulunmamıştır (Çizelge 5). Keklikçi ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada Adana-99'da HI değerinin 0.35-0.46 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Musick and Porter (1990), yüksek verimli çeşitlerde HI değerlerinin 0.38-0.60 arasında değiştiğini bulmuşlardır.

Kuru madde su kullanma randımanları (WUE_b) susuz konuda yaklaşık 3.38 g.m⁻².mm⁻¹; sulanan konuda 3.45 g.m⁻².mm⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Ulaşılan sonuçlardan da anlaşılacağı gibi sulanan konuda elde edilen kuru madde su kullanma randımanı, susuz konudan daha yüksektir. Susuz konuda verim su kullanma randımanı 1.39 g.m⁻².mm⁻¹; sulanan konuda 1.15 g.m⁻².mm⁻¹ olarak elde edilmiştir. Sonuçlardan da anlaşılacağı gibi yapılan sulama uygulamaları verimi artırıcı hiçbir etki yapmamıştır.

Benzer iklim koşullarında; Zhang ve ark. (2004), kışlık buğdayda, farklı sulama uygulamaları oluşturdukları çalışmalarında su kullanma randımanlarının 1.11-1.61 g.m⁻².mm⁻¹ arasında değiştiğini bulmuşlardır. Djaman et al., (2018) tarafından yarı kurak bir iklimde farklı sulama konularının oluşturulduğu çalışmada, su kullanım randımanları 0.26-1.17 g.m⁻².mm⁻¹ arasında değişmiştir. Sezen (2000) ise, Çukurova koşullarında buğday bitkisiyle yaptığı çalışmada su kullanma randımanlarının 0.66-1.50 g.m⁻².mm⁻¹ arasında değiştiğini bulmuştur.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırma boyunca, sulanan konuya 454 mm sulama suyu uygulanmış ve 615 mm yağış kaydedilmiştir. Susuz konuda BREB yöntemine göre mevsimlik buğday su tüketimi 477 mm, su bütçesi yöntemiyle 494 mm olarak belirlenmiştir. Su bütçesi yöntemiyle elde edilen bitki su tüketim değerleri ile Bowen oranı enerji dengesi yöntemi kullanılarak elde edilen bitki su tüketimi değerleri arasında R²= 0.83 olan doğrusal bir ilişki bulunmuştur. Sulanan konuda mevsimlik buğday su tüketimi su bütçesi yöntemiyle 708 mm olarak saptanmıştır.

Çizelge 4. Konuların ortalama kuru madde miktarı (kg.da⁻¹), dane verimi (kg.da⁻¹) ve hasat indeksi (HI) değerleri
Table 4. The average biomass (kg.da⁻¹), grain yield (kg.da⁻¹) and harvest index values obtained from the treatments

Kuru Madde Miktarı	Susuz Konu	Sulanan Konu
144.gün (çiçeklenme)	1231	1107
179.gün (fizyolojik olgunluk)	1468	1416
190.gün (fizyolojik olgunluk)	1611	1644
Dane Verimi	661	551
Hasat İndeksi	0.44	0.34

Çizelge 5. Ölçülen parametrelerin varyans analizi

Table 5. Analysis of variance for the measured parameters

Kuru Madde Miktarı İçin Yapılan Analiz Tablosu						
	n	\bar{d}	$S_{\bar{d}}$	t_{hesap}	$t_{cetvel} (p \leq 0.05)$	$t_{cetvel} (p \leq 0.01)$
144.gün (çiçeklenme)	5	124	83.29	1.488	2.766ns	4.604ns
179.gün (fizyolojik olgunluk)	4	51.75	204.55	0.25	3.182ns	5.841ns
190.gün (fizyolojik olgunluk)	5	33	168.75	0.20	2.776ns	4.604ns
Dane Verimi İçin Yapılan Analiz Tablosu						
	n	\bar{d}	$S_{\bar{d}}$	t_{hesap}	$t_{cetvel} (p \leq 0.05)$	$t_{cetvel} (p \leq 0.01)$
190.gün (fizyolojik olgunluk)	5	110	52.68	2.09	2.776ns	4.604ns
Hasat İndeksi (HI) İçin Yapılan Analiz Tablosu						
	n	\bar{d}	$S_{\bar{d}}$	t_{hesap}	$t_{cetvel} (p \leq 0.05)$	$t_{cetvel} (p \leq 0.01)$
190.gün (fizyolojik olgunluk)	5	0.10	0.06	1.66	2.776ns	4.604ns

Not: *istatistiksel olarak $p \leq 0.05$ düzeyinde önemli, **istatistiksel olarak $p \leq 0.01$ düzeyinde önemli, ns: önemsiz, n: tekrerr sayı, $S_{\bar{d}}$: farkların sapması, \bar{d} : farkların ortalaması, $t_{hesap} = (\bar{d}/S_{\bar{d}})$

Enerji dengesi bileşenlerinden net radyasyon miktarı (R_n) ortalama $9 \text{ MJ.m}^{-2}\text{gün}^{-1}$ olarak ölçülmüştür. R_n değerleri, Ocak ve Şubat ayında küçük değerlerdeyken; Nisan ve Mayıs aylarında oldukça yüksek değerlere ulaşmıştır. Buharlaşma gizli ısı akı (Le) değerleri net radyasyona benzer bir tavır sergilemiştir. Net radyasyon akısı (R_n) genelde açık gökyüzü koşullarında gün boyu hiç sapma göstermeden güneşin doğuşuyla birlikte artmış, öğle saatlerinde pik düzeye ulaşmış ve güneşin batışına kadar azalan bir tavır sergilemiştir. Aynı koşullarda buharlaşma gizli ısı akısı (Le) değerleri net radyasyon akısıyla aynı tavrı göstermiştir. Kapalı gökyüzü koşullarında ise, R_n , Le , ve H (duyumsanır ısı akısı) değerlerinde sürekli sapmalar olmuş, toprak ısı akı değerleri (G) ise açık gökyüzü koşullarına benzer tavır sergilemiştir.

FAO-PM yöntemine göre elde edilen K_c değerlerinden; maksimum ve minimum K_c değerleri sırasıyla 1.47 ve 0.55; ortalama K_c değeri ise 0.94 olarak hesaplanmıştır.

Yığılımlı kuru madde miktarı susuz konuda 1611 kg.da^{-1} ; sulanan konuda 1645 kg.da^{-1} olarak belirlenmiştir. Dane verimi susuz ve sulanan konuda sırasıyla 661 kg.da^{-1} , 551 kg.da^{-1} ; hasat indeks (HI) değerleri ise, susuz ve sulanan konuda sırasıyla 0.44 ve 0.34 olarak belirlenmiştir. Varyans analiz sonuçlarına göre konuların dane verimi ve kuru madde miktarları arasında istatistiksel anlamda bir fark bulunmamıştır (Çizelge 5).

Kuru madde su kullanma randımanları susuz konuda yaklaşık $3.38 \text{ g.m}^{-2}\text{.mm}^{-1}$; sulanan konuda $3.45 \text{ g.m}^{-2}\text{.mm}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Susuz konuda verim su kullanma randımanı $1.39 \text{ g.m}^{-2}\text{.mm}^{-1}$; sulanan konuda $1.15 \text{ g.m}^{-2}\text{.mm}^{-1}$ olarak elde edilmiştir.

Bitki su tüketimi çalışmalarında kullanılan su bütçesi yönteminde, derine sızma kayıplarının ölçülmesinde güçlükler yaşanmaktadır. Tartılı lizimetreler sabit ve pahalı sistemlerdir fakat en doğru ET ölçümünü yaparlar. BREB yönteminin adveksiyon koşullarında ve de yağışlı durumlarda çok farklı sonuçlar verdiği

bilinmektedir (Prueger, 1997). Bu yüzden, BREB yönteminin lizimetre yöntemiyle birlikte kullanılarak test edilmesi gerekir. Böylece, hangi bölgelerde, hangi bitkilerle güvenle kullanılacağı söylenebilir. Çukurova koşullarında BREB ve lizimetre yöntemlerinin karşılaştırıldığı çalışmalar (Ünlü ve ark., 2010; Akpolat, 2011), BREB yönteminin hem günlük ET hem de mevsimsel ET'nin belirlenmesinde oldukça doğru sonuçlar verdiğini göstermiştir. Bu bağlamda, BREB yönteminin günlerce otomatik veri toplayabilmesi, diğer mikrometeorolojik yöntemlere göre kuruluş giderlerinin az olması ayrıca daha basit bir yöntem olması nedeniyle Çukurova koşullarında tarla bitkilerinde su tüketimi çalışmalarında kullanılacağı söylenebilir. Ayrıca, bu yöntemle ölçülen veriler kullanılarak sulama programlarının ve doğru sulama uygulamalarının yapılması mümkündür.

TEŞEKKÜR

Bu makale, 2003-2004 yıllarında Çukurova Üniversitesi'nde yapılan bir yüksek lisans tez çalışmasından elde edilen sonuçlar kullanılarak ve bu yıllardan sonraki yeni literatürlerle güncellenerek hazırlanmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKÇA

- Abtew W 2005. Evapotranspiration in the Everglades: Comparison of Bowen Ratio Measurements and Model Estimations. ASAE Meeting 17-21 July 2005, Florida, USA.
- Akpolat A 2011. Mikrometeorolojik ve Lizimetre Yöntemleriyle Belirlenen Buğday Bitki Su

- Tüketimlerinin Karşılaştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, 73 sy.
- Anonim 1991. Campbell Scientific Bowen Ratio System Instruction Manual (Copyright 1987-2005, Campbell Scientific, Inc.).
- Anonim 1995. Campbell Scientific Q-7 Net Radiometer User Guide (Copyright 1991-1996, Campbell Scientific, Inc.).
- Ay H 2003. Çukurova Koşullarında Bazı Ekmeklik Buğday Çeşitlerinde Sulama ve Farklı Azot Dozlarının Verim, Verim Unsurları ve Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi. Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana, 174 sy.
- Beadle CL 1985. Plant Growth Analysis (Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis, Pergamon International Library of Science, Technology, Engineering and Social Studies, UK: Ed. Coombs J, Hall DO, Long SP) 20-25.
- Bowen IS 1926. The Ratio of Heat Losses by Conduction and by Evaporation from Any Water Surface. *Journal of Physical Review* 27:779-787.
- Burman RD, Pochop LO 1994. Evaporation, Evapotranspiration and Climatic Data (Development in Atmospheric Science) Elsevier Science Ltd. The Netherlands, 278 p.
- Djaman K, O'Neill M, Owen C, Smeal D, West M, Begay D, Allen S, Koudahe K, Irmak S, Lambard K 2018. Long-Term Winter Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Seasonal Irrigation Amount, Evapotranspiration, Yield, and Water Productivity under Semiarid Climate. *Agronomy* 8(96):1-16.
- Dicken, U, Cohen, S, Tanny, J 2013. Examination of the Bowen ratio energy balance technique for evapotranspiration estimates in screenhouses. *Biosystems Engineering* 114(4): 397-405.
- Doorenbos J, Pruitt WO 1977. Crop Water Requirements (Irrigation and Drainage Paper) FAO, Rome, 144 p.
- Held A, Steduto P, Orgaz F, Matista A, Hsiao TC 1990. Bowen Ratio Energy Balance Technique for Estimating Crop Net CO₂ Assimilation and Comparison with a Canopy Chamber. *Theoretical and Applied Climatology* 42:203-213.
- Howell TA, Musick JT, Tolck JA 1986. Canopy Temperature of Irrigated Winter Wheat. *Transactions of the ASAE* 29(6):1692-1699.
- Hsiao TC 1993. Plant Atmosphere Interactions, Evapotranspiration and Irrigation Scheduling. Course I.C.A.M.A.S. Bari, Italy, 148 p.
- Irmak S, Djaman K, Sharma V 2015. Winter Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Evapotranspiration and Single and Basal Crop Coefficients. *Transactions of the ASABE* 58(4):1047-1067.
- Kanber R 1999. Sulama Ders Kitabı. 2. Baskı, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Adana, 530 sy.
- Kang S, Gu B, Taisheng D, Zhang J 2003. Crop Coefficient and Ratio of Transpiration to Evapotranspiration of Winter Wheat and Maize in a Semi-Humid Region. *Agricultural Water Management* 59(3):239-254.
- Keklikçi Z, Barut H, Semercioğlu T 2004. Çukurova Bölgesinde Yaygın Olarak Yetiştirilen Bazı Ekmeklik Buğday Çeşitlerinde Fosfor İhtiyacının Belirlenmesi. *Eco-Conference* 7-8 February 2002, Novi Sad, Yugoslavia.
- Kumagai, T, Saitoh TM, Sato Y, Morooka T, Manfroi OJ, Koichiro K, Masakazu S 2004. Transpiration, Canopy Conductance and The Decoupling Coefficient of a Lowland Mixed Dipterocarp Forest in Sarawak, Borneo: Dry Spell Effects. *Journal of Hydrology* 287(1-4): 237-251.
- MGM, 2019. <http://www.mgm.gov.tr/mevbis>
- Musick JT, Porter KB 1990. Wheat (Irrigation of Agricultural Crops USA: Ed. Stewart BA and Nielsen DR) 597-638.
- Özbek H, Dinç U, Kapur S 1974. Çukurova Üniversitesi Yerleşim Sahası Topraklarının Detaylı Etüd ve Haritası. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Adana, 23(8):149.
- Özkoca Y 2015. Mikrometeorolojik Yöntemlerle Bitkilerin Enerji Akılarının Belirlenmesi. Meteoroloji Mühendisliği Anabilim Dalı Atmosfer Bilimleri Programı Yüksek Lisans Tezi, 76 sy.
- Prueger JH, Hatfield JL, Aase JK, Pikul JL 1997. Bowen-Ratio Comparisons with Lysimeter Evapotranspiration. *Agronomy Journal* 89 (5):730-736.
- Reicosky DC, Sharrat BS, Ljungkull, JE, Baker DG 1983. Comparison of Alfalfa Evapotranspiration Measured by a Weighing Lysimeter and a Portable Chamber. *Agricultural Meteorology* 28:205-211.
- Sezen SM 2000. Çukurova ve Harran Ovası Koşullarında Buğdayda Azot-Su-Verim İlişkilerinin Belirlenmesi ve Ceres-Wheat V3 Modelinin Test Edilmesi. *Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı Doktora Tezi*, 211 sy.
- Sezen SM, Yazar A 1996. Çukurova Koşullarında Buğdayda Su-Verim İlişkilerinin Belirlenmesi. *Doğa Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi* 20:41-48.
- Sezen MS 1993. Çukurova Koşullarında Buğdayda Su-Verim İlişkilerinin Belirlenmesi ve Ceres-Wheat Bitki Büyüme Modelinin Test Edilmesi. *Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, 108 sy.
- Shi, T., Guan, D., Wu, J., Wang, A., Jin, C. ve Han, S. (2008). Comparison of Methods for Estimating Evapotranspiration Rate of Dry Forest Canopy: Eddy Covariance, Bowen Ratio Energy Balance, and Penman-Monteith Equation. *Journal of Geophysical Research* 113:1-15.
- Spittlehouse, DL, Black TA 2010. Evaluation of The Bowen Ratio Energy Balance Method for Determining Forest Evapotranspiration.

- Atmosphere-Ocean 2:98-116.
- Steduto P, Çetinkökü, Ö 1999. Bitki-Atmosfer İlişkilerine Dayalı Evapotranspirasyon Yöntemleri (Bitki Su Tüketiminin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntem Bilimi: İnceleme ve Değerlendirmeler, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, CIHEAM/IAM-B, Adana: Der. Kanber R, Steduto P) 61-84.
- Ünlü M, 2000. Çukurova Koşullarında Mikrometeorolojik Yöntemlerle Pamuk Su Tüketiminin ve Bitki Katsayılarının Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana, 106 sy.
- Ünlü M, Kanber R, Kapur B 2010. Comparison of Soybean Evapotranspirations Measured by Weighing Lysimeter and Bowen Ratio-Energy Balance Methods. African Journal of Biotechnology 9(30): 4700-4713.
- Ünlü M, Kanber R, Koç DL, Özekici B, Kekeç U, Yeşiloğlu T, Ortaş İ, Ünlü F, Kapur B, Tekin S, Kathner J, Gebbers R, Zude M, Peeters A, Ben-Gal A 2014. Irrigation Scheduling of Grapefruit Trees in a Mediterranean Environment throughout Evaluation of Plant Water Status and Evapotranspiration. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 38: 908-915.
- Wang W, Xiao W, Cao C, Gao Z, Hu Z, Shoudong L, Shuanghe S, Linlin W, Qitao X, Jiaping X, Dong Y, Xuhui L 2014. Temporal and Spatial Variations in Radiation and Energy Balance across a Large Freshwater Lake in China. Journal of Hydrology 511:811-824.
- Zhang Y, Kendy E, Qiang Y, Changming L, Yanjun S, Hongyong S 2004. Effect of Water Deficit on Evapotranspiration, Crop Yield and Water Use Efficiency in the North China Plain. Agricultural Water Management. 64:107-122.