



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 24 Sayı-Number 4 Yıl-Year: 2021



# 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
- CiteFactor
- DRJI (Directory of Research Journal Indexing)
- Google Scholar
- Index Copernicus
- International Directory of Agriculture, Food and The Environment
- Journal Index
- Scientific Indexing Services (SIS)
- The International Plant Names Index

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

E-mail: [dogabilimleri@ksu.edu.tr](mailto: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 DERGİSİ

### 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

### Alan Editörleri

**İngilizce Editörü/English Editor**  
[Prof.Dr. Ramazan ÇETİNTAŞ](#)  
KSÜ Ziraat Fak.  
Bitki Koruma Böl.  
cetintas@ksu.edu.tr

**İstatistik Editörü/Statistics Editor**  
[Prof.Dr. Mustafa ŞAHİN](#)  
KSÜ Ziraat Fak.  
Tarımsal Biyoteknoloji Böl.  
ms66@ksu.edu.tr

**Alan Editörü/Associate Editor**  
[Doç.Dr. Mustafa KÜSEK](#)  
KSÜ Ziraat Fak.  
Bitki Koruma Böl.  
mkusek@ksu.edu.tr



# KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

## TARIM ve DOĞA DERGİSİ

### Uluslararası Danışmanlar Kurulu (International Advisory Board)

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

### Ulusal Danışmanlar Kurulu (Advisory Board)

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





# KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

## TARIM ve DOĞA DERGİSİ

### İÇİNDEKİLER/ CONTENTS

#### ARAŞTIRMA MAKALESİ - RESEARCH ARTICLE

- Achillea arabica Kotschy. Liyofilize Etanolik Ekstresinin Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Ratların Adacık  $\beta$  Hücreleri Üzerindeki Koruyucu Etkileri** 689-700  
Protective Effects of Lyophilized Ethanol Extract of *Achillea arabica* Kotschy. on the Islet  $\beta$  Cells of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats  
Hanife HANALP, Burak KAPTANER, Abdulahad DOĞAN
- Paulownia tomentosa Steud.'un Antimikrobiyal, Antioksidan ve Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi** 701-706  
Determination of The Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activity of *Paulownia tomentosa* Steud  
Şule İNCİ, Lütfe KADIOĞLU DALKILIÇ, Sevda KIRBAG, Semih DALKILIÇ
- Balıkgöl, Türkiye'den İzole Edilen *Bacillus* Suşları Tarafından Üretilen Hidrolitik Enzimlerin Kısmi Karakterizasyonu** 707-714  
Partial Characterization of Hydrolytic Enzymes Produced by *Bacillus* Strains Isolated from Balıkgöl, Turkey  
Ebru UYAR, Cengiz ÇORBACI
- Anadolu Florasına Ait Bazı *Alyssum L.* Türlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antibiyofilm Aktivitesinin Belirlenmesi** 715-724  
Determination of Antimicrobial, Antioxidant and Antibiofilm Activity of Some *Alyssum L.* Species in Anatolian Flora  
Vedat TOZYILMAZ, Ali Savaş BÜLBÜL, Yusuf CEYLAN
- Tıbbi Adaçayı ve Oğul Otu Dekoksyonlarının Fitokimyasalları ve Antioksidan Aktiviteleri Üzerine Örnek Miktarı ve Dekoksyon Süresinin Etkisi** 725-732  
The Effect of Sample Amount and Decoction Time on the Phytochemicals and Antioxidant Activities of Decoction Lemon Balm and Sage  
Cennet YAMAN
- Menengiç, Işgın ve Çiriş Otu'nda Antioksidan Aktivitenin Araştırılması** 733-737  
Investigation of Antioxidant Activity In Menengiç, Işgın and Çiriş Otu  
Mehmet ÖZYURT, Hatice KOPAR, Süheyla ÖZYURT, İlter DEMİRHAN  
Ergül BELGE KURUTAS
- Valeriana dioscoridis* Sm. Ekstraktlarının Biyoaktivite ve Fitokimyasal Kompozisyon Değişimleri** 738-746  
Variation of Bioactivities and Phytochemical Compositions of *Valeriana dioscoridis* Sm. Extracts  
Esra UÇAR, Mehmet ATAŞ, Yeter ÇİLESİZ, İlker ÇİNBİLGEL, Nuraniye ERUYGUR  
Tolga KARAKÖY



# KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

## TARIM ve DOĞA DERGİSİ

- Milli Pompalarda Dalma Derinliği Değişiminin Bazı Pompaj Parametrelerine Etkileri** 747-756  
Effects of Submergence Change in Shaft Pumps on Some Pump Parameters  
Nuri ORHAN, Ali Yavuz ŞEFLEK, Osman ÖZBEK
- Tuz Stresi Altındaki Hıyar Bitkilerinde Ekzojen Askorbik Asit Uygulamalarının Fotosistem II Aktivitesi Üzerindeki Etkileri** 757-765  
Effects of Exogenous Ascorbic Acid Application on Photosystem II Activity in Cucumber Plants under Salt Stress  
Sezen TOKSOY, Ali DOĞRU
- Trakya Bölgesi Şaraplık Üzüm Çeşitlerinde Kısıntılı Sulama Uygulamalarının Yaprak ve Stoma Morfolojik Özelliklerine Etkileri** 766-776  
The Effects of Water Deficit on Leaf and Stoma Morphological Properties of Wine Grapes in Thrace Region  
Serkan CANDAR, Bekir AÇIKBAŞ, İlknur KORKUTAL, Elman BAHAR
- Farklı Kızılçık Genotiplerinin (*Cornus mas L.*) Yarı-Odun Çelikleri İle Çoğaltılma Olanakları** 777-783  
Propagation Possibilities With Semi-Hardwood Cuttings of Different Cornelian Cherry Genotypes (*Cornus mas L.*)  
Mehmet Fikret BALTA, İbrahim EROL, Orhan KARAKAYA, Fikri BALTA
- Besni Üzüm Çeşidinin Salkım, Tane ve Bazı Fitokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi** 784-794  
Investigation of Pomological and Some Phytochemical Properties of Besni Grape Variety  
Nazan BALBABA, Sefair BAĞCI
- Yarı Sentetik Spinosin İnsektisidi Spinetoram'ın Alman Hamam Böceği (*Blatella Germanica (L.)*)' Ergin Dönemine Karşı Rezidual Kontak Toksik Etkisi** 795-804  
Residual Contact Toxic Effects of Spinosyn Insecticide, Spinetoram Against German Cockroach (*Blatella germanica*) Adults  
Ferhat KÜÇÜKSARI, Hasan TUNAZ
- Burdur İlinde Plum pox virus'un Tespiti ve Kısmi Kılıf Protein Geninin Moleküler Karakterizasyonu** 805-814  
Determination of Plum pox virus and Molecular Characterization of Partial Coat Protein Gene in Burdur Province  
Ali Ferhan MORCA, Sevgi COŞKAN, Ali ÇELİK
- Albatrellopsis flettii*, Türkiye Albatrellaceae'leri İçin Yeni Bir Cins** 815-819  
*Albatrellopsis flettii*, A New Genus for Turkish Albatrellaceae  
Deniz ALTUNTAŞ, Ergin SAHİN, Şanlı KABAKTEPE, Hakan ALLİ, İlğaz AKATA
- Türkiye'den Yeni Bir Myxomycetes Kaydı (*Myxogastria*): *Didymium listeri* Masee** 820-823  
A New Myxomycetes record (*Myxogastria*) from Turkey: *Didymium listeri* Masee  
Hayri BABA, Mustafa SEVİNDİK



# KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

## TARIM ve DOĞA DERGISİ

- Cyclops vicinus*'ta Cinsel Büyüklük Farklılaşması 824-833  
Diversification of Sexual Size Dimorphism in *Cyclops vicinus*  
Ahmet BOZKURT, Mehmet Fatih CAN
- İskenderun Körfezi'ndeki İki Karides Türünün, *Penaeus semisulcatus* (de Haan, 1844) ve *Metapenaeus monoceros*'un (Fabricius, 1798) Ağır Metal İçeriği Üzerine Bir Meta Analiz 834-849  
A Meta Analysis on The Heavy Metal Content of Two Shrimp Species, *Penaeus semisulcatus* (de Hann, 1844) and *Metapenaeus monoceros* (Fabricius, 1798) from İskenderun Bay  
Mehmet Fatih CAN, Yavuz MAZLUM, A. Bahar YILMAZ, Abdullah ÖKSÜZ
- Bazı Ekmeklik Buğday Genotiplerinde SSR (Mikrosatalit) Markörü Kullanılarak Kahverengi Pas Dayanıklılık Geni Lr10'un Belirlenmesi 850-858  
Identifying Leaf Rust Resistance Gene Lr10 in Some Bread Wheat Using Simple Sequence Repeat (SSR) Marker  
Pakize KURT, Köksal YAĞDI
- Tarım Topraklarının Verimlilik Durumlarının Tematik Düzeyde Haritalanarak Sürdürülebilir Yönetiminin Sağlanması: Osmaniye Örneği 859-870  
Providing Sustainable Management by Mapping the Productivity Status of Agricultural Soils at Thematic Level: Case of Osmaniye  
Nilgün KALKANCI, Tuğba ŞİMŞEK, Nevzat ASLAN, Gökhan BÜYÜK
- Mersin İlinde Fonksiyonel Gıda Satın Alma İstekliliğini Etkileyen Faktörler 871-877  
The Factors Affecting Willingness to Consume Functional Foods in Mersin Province  
Binnur ÇETİN, Emine İKİKAT TÜMER
- Samsun İli Organik Fındık Tarımsal Üretici Birliklerinde Üye Memnuniyeti 878-885  
Member Satisfaction with the Organic Hazelnut Agricultural Producer Union in the Samsun Province, Turkey  
Bakiye KILIÇ TOPUZ, Mehmet BOZOĞLU
- Yozlaşmanın Gambia ve Rekabetçi Komşu Ülkeleri Arasındaki Tarımsal İhracat Potansiyeline Etkisi 886-894  
Impacts of Corruption to Agricultural Export Potential of the Gambia Competitive Neighbours  
Gökhan UZEL, Assan NDİMBALLAN, Serkan GÜRLÜK
- Örtü Altı Sebze Yetiştiriciliğinde Kullanılan Bilgi Kaynaklar: Samsun İli Çarşamba İlçesi Örneği 895-903  
Information Sources Used by Greenhouse Vegetable Growers: The Case of Çarşamba District of Samsun Province  
Yasin Alparslan KURT, İsmet BOZ
- Yetiştirici Koşullarındaki Kıvrıkcık Koyunlarında Meme Özelliklerinin Belirlenmesi 904-913  
Determination of Udder Characteristics in Kıvrıkcık Sheep Under the Breeder Conditions  
Hilal AKGUN, Mehmet KOYUNCU



# KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

## TARIM ve DOĞA DERGİSİ

### HAKEMLER/Referees\*

Prof. Dr. Aydın ADILOĞLU	Tekirdağ Namık Kemal Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Bes. Böl. Tekirdağ
Doç. Dr. Pınar PEKER AKALIN	Hatay Mustafa Kemal Üniv. Veteriner Fak. Veteriner Hek. Temel Bil. Böl. Hatay
Doç. Dr. İlgaz AKATA	Ankara Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Ankara
Prof. Dr. Cuma AKBAY	KSÜ Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Kahramanmaraş
Prof. Dr. Davut AKBOLAT	Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv. Ziraat Fak. Tarım Mak. ve Tek. Müh. Böl. Isparta
Prof. Dr. Erhan AKÇA	Adıyaman Üniv. Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Adıyaman
Prof. Dr. İzzet AKÇA	Samsun Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Samsun
Prof. Dr. Hasan AKGÜL	Akdeniz Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Antalya
Doç. Dr. Çağdaş AKPINAR	Osmaniye Korkut Ata Üniv. Kadirli Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu Osmaniye
Doç. Dr. Kamuran AKTAŞ	Manisa Celâl Bayar Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Manisa
Doç. Dr. Mehmet AKYÜZ	Bitlis Eren Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Bitlis
Doç. Dr. Metin ARMAĞAN	Aydın Adnan Menderes Üniv. Buharkent MYO Kimya ve Kimyasal İşleme Tek. Böl. Aydın
Prof. Dr. Selçuk ARSLAN	Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Biyosistem Mühendisliği Böl. Bursa
Prof. Dr. Recep ASLAN	Afyon Kocatepe Üniv. Veteriner Fak. Veteriner Hek. Temel Bil. Böl. Afyon
Prof. Dr. Mehmet ATAK	Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Hatay
Prof. Dr. Kamuran AYHAN	Ankara Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Ankara
Dr. Öğr. Üyesi Yeşim AYTÖP	KSÜ Pazarcık Meslek Yüksekokulu Dış Ticaret Böl. Kahramanmaraş
Prof. Dr. Metin BAYRAKTAR	Fırat Üniv. Veteriner Fak. Zootehni ve Hayvan Besleme Böl. Elazığ
Prof. Dr. Zeki BAYRAMOĞLU	Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Konya
Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ	KSÜ Tıp Fak. Temel Tıp Bilimleri Böl. Kahramanmaraş
Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ	KSÜ Tıp Fak. Temel Tıp Bilimleri Böl. Kahramanmaraş
Prof. Dr. Abdülbaki BİLGİÇ	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Erzurum
Prof. Dr. Avni BİRİNCİ	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Erzurum
Prof. Dr. İsmet BOZ	Samsun Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Samsun
Prof. Dr. Ali Savaş BÜLBÜL	KSÜ Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Kahramanmaraş
Prof. Dr. Ali Savaş BÜLBÜL	KSÜ Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Kahramanmaraş
Prof. Dr. Rüstem CANGİ	Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Tokat
Prof. Dr. Mustafa Y CANBOLAT	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bil. Ve Bitki Besleme Böl. Erzurum
Prof. Dr. Mustafa Y CANBOLAT	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bil. Ve Bitki Besleme Böl. Erzurum
Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR	Hacettepe Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Ankara
Doç. Dr. Ömer ÇEÇEN	Karamanöğlü Mehmetbey Üniv. Ermenek MYO Karaman
Prof. Dr. Şerafettin ÇELİK	Harran Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Şanlıurfa

\* Soyada göre sıralanmıştır.





# KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

## TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Doç. Dr. Tülay ÇELİK  
Prof. Dr. Talip ÇETER  
Prof. Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN  
Prof. Dr. Mehmet Akif ÇÜRÜK  
Prof. Dr. Birol DAĞ  
Prof. Dr. Hasan DEĞİRMENCİ  
Doç. Dr. Selim DEMİR  
Prof. Dr. Sadık DİNÇER  
Doç. Dr. Ziya DUMLUPINAR  
Prof. Dr. Özgür FIRAT  
Dr. Anissa GARA  
Doç. Dr. Onur GÜNEŞER  
Doç. Dr. İsmail Bülent GÜRBÜZ  
Prof. Dr. Aydın GÜREL  
Prof. Dr. Serkan GÜRLÜK  
Prof. Dr. Emine İKİKAT TÜMER  
Prof. Dr. Özgün KALKIŞIM  
Doç. Dr. Ferhan KAYGISIZ  
Dr. Öğr. Üyesi Bakiye KILIÇ TOPUZ  
Dr. Öğr. Üyesi Asuman PEKGÖZ  
Dr. Öğr. Üyesi Siyami KARACA  
Prof. Dr. Süphan KARAYTUĞ  
Prof. Dr. Ferit KARGIN  
Prof. Dr. Merih KIVANÇ  
Prof. Dr. Ahmet KORKMAZ  
Prof. Dr. Demir KÖK  
Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ  
Doç. Dr. Meryem KUZUCU  
Doç. Dr. Zehra Tuğba MURATHAN  
MSc. Kalbalayi NAMAZOV  
Prof. Dr. Halil İbrahim OĞUZ  
Prof. Dr. İhsan Bülent OKUR  
Prof. Dr. Zübeyde ÖNER  
Doç. Dr. Bahri Devrim ÖZCAN  
Prof. Dr. Celile ÖZÇİÇEK DÖLEKOĞLU

Aydın Adnan Menderes Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Aydın  
Kastamonu Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Kastamonu  
Çukurova Üniv. Ceyhan Veteriner Fak. Temel Bilimler Böl. Adana  
Çukurova Üniv. Tıp Fak. Temel Tıp Bilimleri Böl. Adana  
Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. Konya  
KSÜ Ziraat Fak. Biyosistem Mühendisliği Böl. Kahramanmaraş  
Karadeniz Teknik Üniv. Sağlık Bilimleri Fak. Beslenme ve Diyetetik Böl. Trabzon  
Çukurova Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Adana  
KSÜ Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Kahramanmaraş  
Adıyaman Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Adıyaman  
Tunus Ulusal Agronomik Araştırma Enstitüsü, Tunus  
Uşak Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Uşak  
Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Bursa  
Tekirdağ Namık Kemal Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Tekirdağ  
Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Bursa  
KSÜ Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Kahramanmaraş  
Recep Tayyip Erdoğan Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Rize  
İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Veteriner Fak. Zootečni ve Hayvan Besleme Böl. İstanbul  
İğdır Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. İğdır  
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Burdur  
Van Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Van  
Mersin Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Mersin  
Çukurova Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Adana  
Eskişehir Teknik Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Eskişehir  
KSÜ Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Kahramanmaraş  
Tekirdağ Namık Kemal Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Tekirdağ  
Tekirdağ Namık Kemal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Tekirdağ  
Kilis 7 Aralık Üniv. Teknik Bilimler MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Kilis  
Malatya Turgut Özal Üniv. Battalgazi MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Malatya  
Anadolu Üniv. Eczacılık Fak. Farmasötik Teknoloji Böl. Eskişehir  
Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniv. Mühendislik-Mimarlık Fak. Nevşehir  
Ege Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. İzmir  
Süleyman Demirel Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Isparta  
Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl.  
Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniv. İşletme Fak. İşletme Böl. Adana





# KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

## TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Prof. Dr. Müdahir ÖZGÜL

Prof. Dr. Ahmet ÖZTÜRK

Assist. Prof. Dr. Mustafa N. WAİD

Doç. Dr. Özgür SAĞLAM

Prof. Dr. Savaş SARIÖZKAN

Dr. Öğr. Üyesi Arzu SEÇER

Prof. Dr. Selami SELVİ

Doç. Dr. Mustafa SEVİNDİK

Prof. Dr. Fatih SEYİS

Prof. Dr. Miray SÖKMEN

Prof. Dr. Murad Aydın ŞANDA

Dr. Öğr. Üyesi Kasım TAKIM

Prof. Dr. Sibel TAN

Prof. Dr. Ayda TELLİOĞLU

Prof. Dr. Muammer TİLKİ

Prof. Dr. İskender TİRYAKİ

Prof. Dr. Renan TUNALIOĞLU

Prof. Dr. Rüveyde TUNÇTÜRK

Prof. Dr. Sadettin TURHAN

Prof. Dr. Cihat TÜRK BEN

Prof. Dr. Çiğdem ULUBAŞ SERÇE

Prof. Dr. Mehmet Rifat ULUSOY

Prof. Dr. Veli UYGUR

Prof. Dr. Yusuf UZUN

Dr. Saravanan V. SATHASIVAMPILLAI

Dr. Saravanan V. SATHASIVAMPILLAI

Prof. Dr. Serap YALIN

Prof. Dr. Halit YETİŞİR

Prof. Dr. Çağatay YILDIRIM

Prof. Dr. Mustafa YILDIRIM

Prof. Dr. Ayhan YILMAZ

Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Erzurum

Ankara Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Yapılar ve Sulama Böl. Ankara

University Of Anbar, Dept. Of Environmental Sciences, IRAQ

Tekirdağ Namık Kemal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Tekirdağ

Erciyes Üniv. Veteriner Fak. Zootekni ve Hayvan Besleme Böl. Kayseri

Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Adana

Bahkesir Üniv. Altınoluk MYO Bitkisel Ve Hayvansal Üretim Böl. Bahkesir

Osmaniye Korkut Ata Üniv. Bahçe MYO Gıda İşleme Böl. Osmaniye

Recep Tayyip Erdoğan Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Rize

Samsun Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Samsun

Muş Alparslan Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl. Muş

Harran Üniv. Veteriner Fak. Temel Bilimler Böl. Şanlıurfa

Çanakkale Onsekiz Mart Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Çanakkale

Mersin Üniv. Eğitim Fak. Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Böl. Mersin

Karadeniz Teknik Üniv. Maçka Meslek Yüksekokulu Veterinerlik Böl. Trabzon

Çanakkale Onsekiz Mart Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Çanakkale

Aydın Adnan Menderes Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Aydın

Van Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Van

Ondokuz Mayıs Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Samsun

Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Bursa

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

Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Adana

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Besleme Böl. Isparta

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

Knowledgelink Group, Inc., Waltham, MA 02451, USA

Knowledgelink Group, Inc., Waltham, MA 02451, USA

Mersin Üniv. Eczacılık Fak. Temel Eczacılık Bilimleri Böl. Mersin

Erciyes Üniv. Seyrani Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Kayseri

Samsun Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Samsun

KSÜ Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Kahramanmaraş

Siirt Üniv. Ziraat Fak. Zootekni Böl. Siirt

## Protective Effects of Lyophilized Ethanolic Extract of *Achillea arabica* Kotschy. on the Islet $\beta$ Cells of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Hanife Ceren HANALP<sup>1</sup>, Burak KAPTANER<sup>2\*</sup>, Abdulahad DOĞAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Biology and Genetics, Institute of Natural and Applied Sciences, University of Van Yuzuncu Yil, 65080 Tuşba, Van, Turkey; <sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Science, University of Van Yuzuncu Yil, 65080 Tuşba, Van, Turkey; <sup>3</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Van Yuzuncu Yil, 65080 Tuşba, Van, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-5235-4167>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-2366-6756>; <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-5438-8560>

\*✉: bkaptaner@yyu.edu.tr

### ABSTRACT

In this study, an evaluation of the protective effect of lyophilized ethanolic *Achillea arabica* Kotschy. extract was investigated on the islets of Langerhans in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. The rats were divided randomly into 5 groups: Group I: control; Group II: rats treated with STZ (50 mg kg<sup>-1</sup> body weight (bw)); Group III: rats treated with *A. arabica* (Aa) extract (400 mg kg<sup>-1</sup> bw); Group IV: rats with DM treated with Aa extract; and Group V: rats with DM treated with glibenclamide (2 mg kg<sup>-1</sup> bw) which is a standard drug used in the treatment of DM. STZ treatment caused histopathological changes in the islet and significantly lowered the islet diameter/area,  $\beta$ -cell index values, and blood insulin and C-peptide levels. Administration of the extract of Aa improved the islet histology, diameter/area, and  $\beta$ -cell index values, and caused significant increases in insulin and C-peptide levels similar to the rats treated with glibenclamide when compared to the diabetic rats. Our findings suggested that the Aa extract possessed protective potential on the pancreatic islets due to its repairing or regeneration impact on  $\beta$ -cells.

### Reserach Article

#### Article History

Received : 15.10.2020

Accepted : 03.12.2020

#### Keywords

Streptozotocin

Diabetes

Rat

*Achillea arabica*

Histopathology

## *Achillea arabica* Kotschy. Liyofilize Etanolik Ekstresinin Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Ratların Adacık $\beta$ Hücreleri Üzerindeki Koruyucu Etkileri

### ÖZET

Bu çalışmada, *Achillea arabica* Kotschy. liyofilize etanolik ekstresinin, streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan ratlarda Langerhans adacıkları üzerindeki koruyucu etkisi araştırıldı. Ratlar rastgele olarak 5 gruba ayrıldı; Grup I: kontrol; Grup II: STZ (50 mg kg<sup>-1</sup> vücut ağırlığı (va)) uygulanan ratlar; Grup III: *A. arabica* (Aa) ekstresi (400 mg kg<sup>-1</sup> va) ile muamele edilen ratlar; Grup IV: Aa ekstresi ile muamele edilen diyabetik ratlar ve Grup V: diyabet tedavisinde standart bir ilaç olarak kullanılan glibenklamid (2 mg kg<sup>-1</sup> va) uygulanan diyabetik ratlar. STZ uygulamasının, adacıklarda histopatolojik değişimlere neden olduğu, adacık çapını / alanını,  $\beta$ -hücre indeksini ve kan insulin ve C-peptid seviyelerini anlamlı olarak düşürdüğü belirlendi. Aa ekstre uygulamasının, glibenklamid ile tedavi edilen ratlara benzer olarak, adacık histolojisinde, çap / alanında,  $\beta$ -hücre indeks değerlerinde, kan insulin ve C-peptid seviyelerinde, diyabetik ratlar ile kıyaslandığında, iyileşmeye neden olduğu gözlemlendi. Elde edilen bulgular Aa ekstresinin pankreas adacıklarında,  $\beta$ -hücre onarımını ve yenilenmesini sağlayarak, koruyucu potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 15.10.2020

Kabul Tarihi : 03.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

Streptozotosin

Diyabet

Rat

*Achillea arabica*

Histopatoloji

**To Cite :** Hanalp HC, Kaptaner B, Doğan A 2021. Protective Effects of Lyophilized Ethanolic Extract of *Achillea arabica* Kotschy. on the Islet  $\beta$  Cells of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. KSU J. Agric Nat 24 (4): 689-700. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.811253.

### INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM), which is a grave metabolic

disorder, is defined by hyperglycemia associated with carbohydrate, protein, and lipid metabolism

abnormalities, and is one of the most serious diseases affecting public health globally. DM was reported as the cause of 1.5 million deaths in 2012 by the World Health Organization. It is estimated that the number of people suffering from DM will reach 642 million by 2040. Although the main cause of DM is unknown thus far, researchers believe that the disease is related to genetic and environmental factors, modern life style, unhealthy diet, and a sedentary life. The symptoms of the disease comprise polyuria, polydipsia, polyphagia, weight loss, blurred vision, hyperglycemia and hypertension. The acute complications of DM accompany ketoacidosis or non-ketotic hyperosmolar syndrome, hyperosmolar coma, and diabetic coma. As a result of long-standing DM, high plasma glucose causes blood vessel damage leading to microvascular and macrovascular diseases. Microvascular complications include retinopathy, nephropathy, and neuropathy, while macrovascular diseases lead to cardiovascular diseases and diabetic foot. The classification of DM falls into 3 categories: Type 1 DM (T1DM) is dependent on insulin, Type 2 DM (T2DM) is not dependent on insulin, and Type 3 DM (T3DM) is gestational. T1DM is an autoimmune disease, in which insulin deficiency occurs because of islet  $\beta$ -cell destruction. T2DM is defined by resistance to insulin and impaired insulin secretion. T3DM, which is diagnosed during pregnancy, in the 2nd or 3rd trimester, is impermanent and might be an indication of T2DM (for reviews, see Jarald et al., 2008 and Okur et al., 2017). Chronic hyperglycemia generates reactive free radicals and finally, causes oxidative stress, which plays a pivotal role in the appearance of DM and its complications, leading to pancreatic  $\beta$ -cell damage (Giacco and Brownlee, 2010; Dos Santos et al., 2019). Actually, commercially available drugs for the treatment of DM exist; however, they have limitations because of their high cost and side effects. Therefore, there is a growing interest in herbal medicines for the treatment of DM that possess hypoglycemic, antioxidant, and antidiabetic properties and have few or no side effects (Jarald et al., 2008).

The genus *Achillea* L. (Asteraceae) comprises ~85 species, 42 of which are found in Turkish flora, and 23 are endemic (Huber-Morath, 1975; Duman, 2000). Many species belonging to the genus *Achillea* L. possess medicinal properties and are used for therapeutic purposes in some countries (Bashi et al., 2012). In Turkey, some *Achillea* species have been traditionally used to treat different diseases, such as abdominal pain (Honda et al., 1996), diarrhea (Yesilaada et al., 1993), stomachache, and wound healing (Fujita et al., 1995; Sezik et al., 2001). The antioxidant, antimicrobial, antitumoral, antidiabetic, hypoglycemic, antiulcer, antileishmanial, and antinematodal activities, and wound healing impact of different *Achillea* species have been reported by

different researchers (Conforti et al., 2005; Konyalioglu and Karamenderes, 2005; Bariş et al., 2006; Bashi et al., 2012; Zolghadri et al., 2014; Motavalizadehkakhky et al., 2013; Al-Sokari, 2015; Baharara et al., 2015; Varasteh-Kojourian et al., 2015; Al-Marby et al., 2016; Al-Said et al., 2016, Abd El-Fattah et al., 2018). *Achillea arabica* Kotschy. (Syn.: *Achillea biebersteinii* Afanasiev) has also been observed to possess antioxidant, DNA-protective (Varasteh-Kojourian et al., 2015), hepatoprotective (Al-Said et al., 2016), wound healing (Akkol et al., 2011), antiulcer, and hypoglycemic (Abd-Alla et al., 2016) properties; however, its pancreatic islet-protective and antidiabetic capabilities, and underlying mechanisms, are unknown.

Accordingly, herein, it was aimed to investigate the protective effects of lyophilized ethanolic flower extract of *A. arabica* (Aa) in STZ-induced diabetic rats using histopathology,  $\beta$ -cell immunohistochemistry, and blood insulin/C-peptide levels.

## MATERIALS and METHODS

### Plant Material

The Aa used in this study was collected from Edremit, Van, Turkey (43°15'54"E, 38°25'09"N). The plant samples were taxonomically identified and approved by a plant taxonomist, Süleyman Mesut Pinar (PhD), at Van Yuzuncu Yil University, and the voucher specimens were placed into the Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Science, Department of Biology Herbarium (VANF), under number 164098. The collected samples were washed carefully with distilled water and laid out to dry at room temperature in the dark. Next, the flower parts of the dried samples were finely ground using a blender and the powdered samples were kept at -20 °C while awaiting the extraction procedures.

### Plant Extraction

Extraction of the lyophilized ethanolic was performed according to the methods of Dogan et al., (2018), with some modifications. In brief, 50 g of the ground and powdered dry material from the inflorescence was mixed with an ethanol:water (80:20) solvent (1 L), for 2 h at room temperature, by continuous shaking, and then filtered. Next, the filtrate was centrifuged at 10,000 rpm for 20 min at 4 °C, and the supernatant was then collected. Filtering of the supernatant took place via passing it through a 0.45- $\mu$ m filter, and the solvent was removed by evaporation at 37 °C under decreased pressure. The viscous extract was allowed to falcon tube and freeze-dried under a vacuum at -51 °C to obtain a fine lyophilized powder.

### Animals

A total of 40 *Wistar albino* female rats, which were 2–



3 weeks old and weighed 100–350 g, were acquired from the Experimental Animal Research Center of Van Yuzuncu Yil University. The rats were housed in cages made of plastic at a steady room temperature of  $25 \pm 2$  °C and a 12-h light/dark photoperiod. They were supplied with drinking water and a diet that was wheat and soybean meal-based *ad libitum*.

### Ethical Approval

The animals used, and all of the experimental procedures during the study, were approved of by the Animal Experiments Ethics Committee of Van Yuzuncu Yil University for ethical concerns (Decision no: VAN YUHADYEK-2019/06). During the experiments, the ethical regulations that were followed were in line with the institutional and national guidelines for animal welfare protection.

### Acute Toxicity Test

The acute toxicity test study was employed according to the method of Ibeha and Ezeaja, (2011) as described by Doğan and Çelik, (2016). For evaluation of the acute toxicity of the lyophilized ethanolic Aa extract on the rats, increasing dosages of 25, 50, 100, 250, 500, 1000, and 2000 mg kg<sup>-1</sup> of body weight (bw) were given via oral gavage for 0, 0.4, 4, 8, 12, 24, 48 and 72 h, respectively. Signs or symptoms of toxicity and mortality were not determined for the first 72 h. Thereafter, the favorable dosage of the extract used in the experimental study was ascertained to be 400 mg kg<sup>-1</sup>.

### Induction of the Diabetes and Experimental Design

Randomly, the rats were divided into 5 groups, comprising 7 rats in each.

**Group I:** Control (C) group, where the rats received a 4.5-pH citrate buffer at a dose of 1 mL kg<sup>-1</sup> bw, administered via intraperitoneal (i.p.) injection.

**Group II:** DM group, where the rats were fasted for 12 h and then administered a single dose of freshly prepared streptozotocin (STZ) in a citrate buffer comprising 50 mg kg<sup>-1</sup> bw via i.p. injection. On day 3, at 72 h following administration of the STZ, samples of blood were taken from the tail vein of the rats and glucometer test strips (Accu-Chek Go, Roche Diagnostics, Istanbul, Turkey) were used to measure glucose levels. Rats that had blood glucose levels higher than 200 mg dL<sup>-1</sup> were accepted as diabetic, and implicated in the study.

**Group III:** Aa group, where the rats were administered a single daily dose of lyophilized Aa extract (400 mg kg<sup>-1</sup> bw) via oral gavage for 21 days.

**Group IV:** DM + Aa group, where lyophilized Aa extract (400 mg kg<sup>-1</sup> bw) was administered daily to rats with DM via oral gavage for 21 days.

**Group V:** DM + glibenclamide (Gli) group, where Gli (2 mg kg<sup>-1</sup> bw) as a reference drug was administered daily to rats with DM via oral gavage for 21 days. The dosage of the drug was selected according to Sokolovska et al., (2012) and Okwudili et al., (2017).

### Tissue Sampling and Histological Procedures

After completion of the experimental study, the animals were anesthetized intraperitoneally with ketamine (5 mg 100 g<sup>-1</sup> bw). Blood samples were taken via cardiac puncture with sterile injectors. Next, the samples were immediately transferred into EDTA-coated tubes. The tubes were then centrifuged for 15 min at 4000 g and 4 °C and the plasma was obtained and then stored at -80 °C until the analyses.

The pancreas of each animal was excised carefully, then fixed with 10% neutral buffered formalin for 24 h at 4 °C. The tissues were then washed with phosphate-buffered saline at a pH of 7.4, and passed through a graduated ethanol series for dehydration. After clearing with xylene, they were embedded in paraffin wax. Longitudinal tissue sections (5-µm thick) were taken using a manual rotary microtome (H315, Microm GmbH, Waldrof, Germany) and put onto slides coated with adhesive (Marienfeld GmbH, Lauda-Königshofen, Germany). Sections were deparaffinized with xylene, then rehydrated through decreasing ethanol concentrations. After staining with Hematoxylin and Eosin (H&E), Canada balsam (Merck, Germany), was used to mount all of the preparations and a microscope was used to examine and photograph them (Leica DMI 6000 B, Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar, Germany).

### Insulin Immunohistochemistry

The 5-µm-thick tissue sections were first deparaffinized and then rehydrated, and hydrogen peroxide was then used to incubate them for 10 min, so as to prevent internal peroxidase activity. As a next step, the sections were washed in tris buffered saline (TBS; pH: 7.6, 20 mM Tris, 140 mM NaCl) and, to avoid the occurrence of nonspecific binding, a protein a protein block, supplied in the immunohistochemistry kit used in the onward steps was applied for 10 min. The sections were then incubated with insulin (insulin monoclonal antibody (INS05 (2D11-H5)), catalog no: MA5-12037, Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Illinois, USA) primary antibody at a dilution rate of 1:25, at 4 °C for 24 h. The commercial EXPOSE mouse and rabbit specific IHC/DAB detection immunohistochemistry kit (catalogue number: ab80436, Abcam, Cambridge, UK) was used, following the manufacturer's instructions, for the next steps. First, the sections were rinsed with TBS and they were then incubated, using the complement supplied in the kit, for 10 min, followed by treatment with a conjugate of horseradish peroxidase. Visualization of the

peroxidase activity was performed using a substrate-chromogen solution containing 3,3'-diaminobenzidine, which formed a brown stain, that was then used for section incubation for 1 to 3 min, after which, they were washed using water that was distilled twice. Counterstaining was performed using Mayer's hematoxylin. Next, the sections were dehydrated through 95 and 100% ethanol, cleared in xylene and then mounted with Canada balsam and then covered with cover slips. For testing the antibody specificity, negative control slides were utilized, in which TBS was used in place of the primary antibodies (Kaptaner, 2019). A Leica DMI 6000 B (Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar, Germany) microscope was used to both examine and photograph the preparations.

### Morphometric Measurements and $\beta$ -Cell counting

A total of 8 pancreas optical areas were randomly chosen, that has no points of intersection, and were photographed with a Leica Digital DFC490 camera (Leica Microsystems) attached to a Leica DMI 6000B model microscope at a magnification of 400 $\times$  for each of the insulin immuno-stained sections. ImageJ software (National Institutes of Health, USA, <http://rsbweb.nih.gov/ij/>) was used to process the

images that were captured.

The diameter or area measurements of the pancreatic islets were performed using photomicrographs captured at magnifications of 200 $\times$  and 400 $\times$ , as described in the ImageJ User Guide (version revised edition IJ 1.46r) via the analyze tool. At least 8 randomly selected Langerhans islets pertaining to each animal were used for both of the measurements. The measurement of diameter of pancreatic islets was carried out as described by Dra et al., (2019) with some modifications. Briefly, the mean diameters for each islet in a section was determined, and then the mean islet diameter was calculated from the means of the islet diameters for each animal. Finally, the value pertaining to each animal within the same group was used for statistical analyses. The same procedure was used for the area measurements.

Cell counting in the islets for the  $\beta$ -cell index calculations comprised at least 8 Langerhans islets for each section from each animal. Cell counting in the islets was done using the cell counter plugin of ImageJ Software (<https://imagej.nih.gov/ij/plugins/cell-counter.html>). The  $\beta$ -cell index for each islet was calculated as follow:

$$\beta\text{-cell index (\%)} = \frac{\text{Insulin positive cells in islet}}{\text{Total cells (insulin negative cells + insulin positive cells) in islet}} \times 100$$

Finally, the mean of the  $\beta$ -cell index value was calculated from the means obtained from the islets for each animal.

### Plasma Insulin and C-Peptide Levels

Commercial kits (rat insulin enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kit, catalogue no: YHB0584Ra rat and C-peptide ELISA kit, catalogue no: YHB0281Ra, respectively; Shangai Yehua Biological Technology, Co., Ltd., Shangai, China) were used for the measurement of the plasma insulin and C-peptide. The assays were performed according to the manufacturer's instructions in the kit booklets.

### Statistical Analyses

SPSS v.16.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) was used for the statistical evaluation of the data from the measurements. Duncan's multiple comparison post hoc test and one-way analysis of variance was used to analyze differences among the data. The results were expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (SE).  $P < 0.05$  was considered as statistically significant.

## RESULTS and DISCUSSION

Histological examinations of H&E stained pancreas sections from the control group displayed the normal appearance of the Langerhans islets, where they had well-defined borders, a rich capillary supply, and

normal  $\beta$ - and  $\alpha$ -cell contents (Fig 1A). The number of islets of the STZ-induced diabetic rats was observed to be dramatically reduced, and likewise, the shape and size of the islets was distorted or shrunken. The islet  $\beta$ -cells revealed degenerative and necrotic changes, where they mostly exhibited low staining with eosin or unstained vacuolations in their cytoplasm and their nuclei were stained dark and determined to be condensed, exhibiting pyknotic features (Fig 1B). Few histopathological changes were observed in either the DM + Aa or DM + Gli groups. Improved histological architecture and integrity of the islets were found in the DM + Gli group compared to the DM group (Fig 1C). Similarly, we found improvement in the Langerhans islets of the DM + Aa group compared to the DM group that the size and number of islets were increased and  $\beta$ -cell recovery was observed (Fig 1D).

The morphometric measurements conducted in the Langerhans islets showed that STZ induction caused a significant decrease ( $109.08 \pm 5.54 \mu\text{m}$ ) in the diameter of the islets when compared to the control ( $188.34 \pm 11.59 \mu\text{m}$ ) and Aa ( $178.60 \pm 8.27 \mu\text{m}$ ) groups ( $P < 0.05$ ). A significant increase ( $130.15 \pm 5.82 \mu\text{m}$ ;  $P < 0.05$ ) in the islet diameter was observed in the DM + Aa group when compared to the DM group; however, this increase was less effective than those measured in the islets of the DM + Gli group ( $138.61 \pm 7.96 \mu\text{m}$ ;  $P < 0.05$ ) (Fig 2).



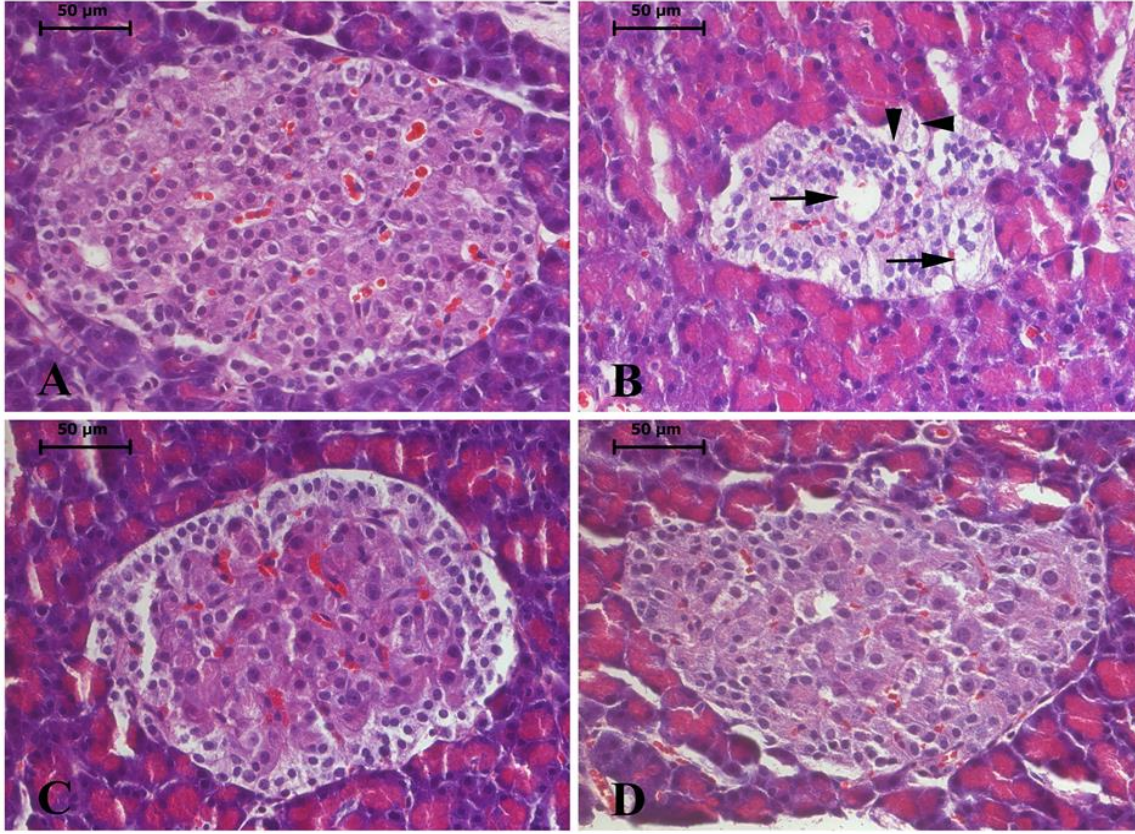


Figure 1. Pancreas sections stained with H&E from the different experimental groups. A) Islet of Langerhans from control group showing normal architecture and integrity. B) Distorted or shrunken islet of Langerhans of a diabetic animal from the DM group showing  $\beta$ -cell loss, cytoplasmic vacuolation (arrows) and darkly stained and condensed nuclei (arrowheads). C) Islet of Langerhans from a Gli-treated animal showing amelioration of diabetic features. D) Islet of Langerhans from an Aa treated diabetic animal showing a marked improvement.

Şekil 1. Farklı deneysel gruplara ait H&E ile boyanmış pankreas kesitleri. A) Kontrol grubuna ait normal yapı ve bütünlük gösteren Langerhans adacığı. B) DM grubuna ait diyabetik bir hayvanın,  $\beta$ -hücre kaybı, sitoplazmik vakuolizasyon (oklar) ve koyu veya yoğun boyanmış nükleuslara sahip olan (ok başları) bozulmuş ve büzülmüş Langerhans adacığı. C) Diyabetik özelliklerin iyileşme gösterdiği glibenklamid ile muamele edilen bir hayvana ait Langerhans adacığı. D) Aa ile muamele edilmiş bir diyabetik hayvanın, belirgin bir iyileşme gösteren, Langerhans adacığı.

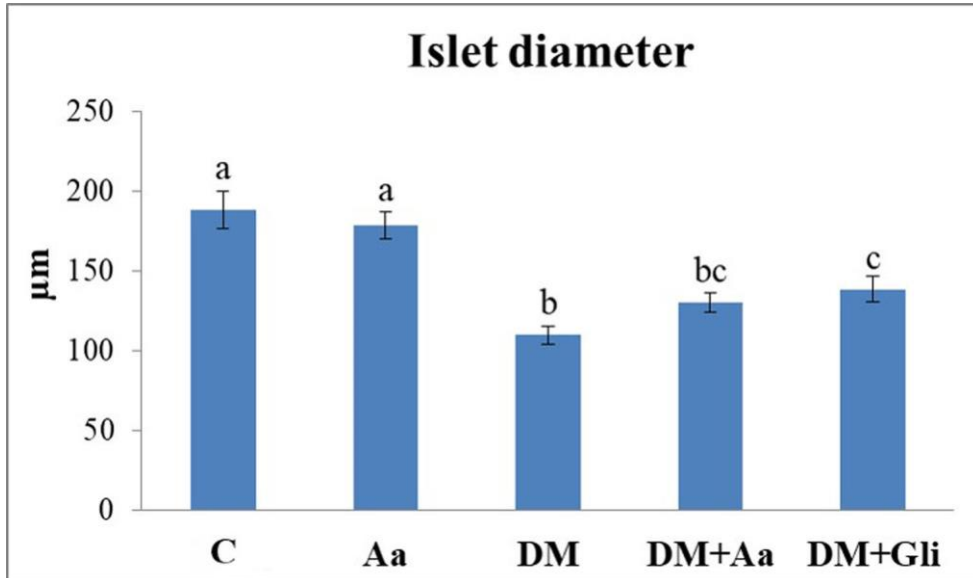


Figure 2. The mean islet diameters for the experimental groups. Data are means  $\pm$  SE, (n = 6). Different letters indicate significant differences between the columns.

Şekil 2. Deneysel gruplara ait ortalama adacık çapları. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur (n = 6). Farklı harfler, sütunlar arasındaki anlamlı farklılıkları göstermektedir.

The same trend was also found in the measurement of the mean islet area. As shown in Fig 3, the mean islet area significantly decreased ( $10.51 \pm 1.56 \text{ mm}^2$ ) in the DM group when compared to the control ( $31.61 \pm 3.01 \text{ mm}^2$ ) and Aa ( $29.35 \pm 1.82 \text{ mm}^2$ ) groups ( $P < 0.05$ ). The islet area was significantly increased in both the DM + Aa and DM + Gli groups ( $16.08 \pm 1.32 \text{ mm}^2$  and  $16.76 \pm 1.99 \text{ mm}^2$ , respectively;  $P < 0.05$ ) when compared to

those observed in the DM group. The increase in the islet area in the DM + Aa group was significantly low when compared to that of the DM + Gli group ( $P < 0.05$ ). On the other hand, both the mean islet diameter and area values in the DM + Aa and DM + Gli groups were still significantly lower than the levels found in the NC and Aa groups ( $P < 0.05$ ).

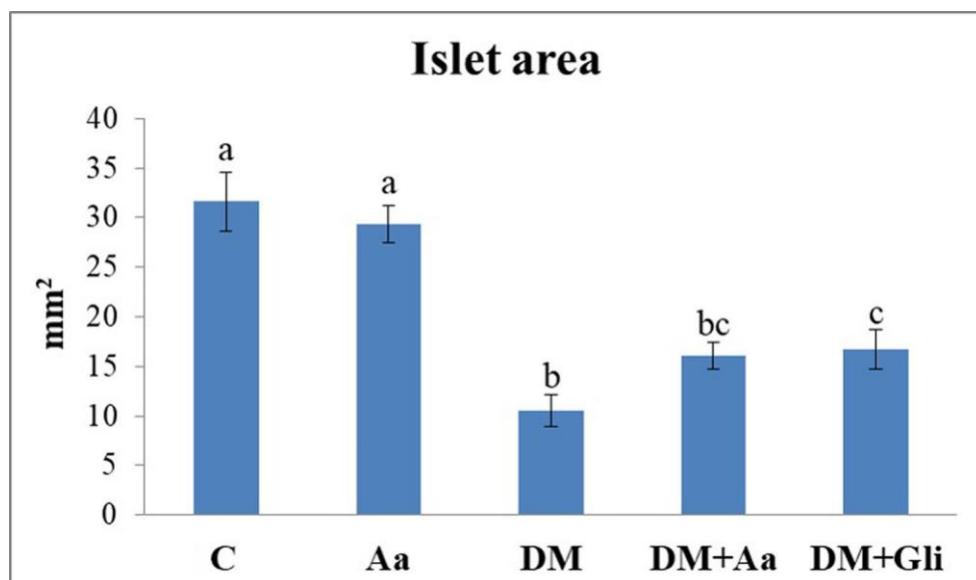


Figure 3. The mean islet areas for the experimental groups. Data are means  $\pm$  SE, ( $n = 6$ ). Different letters indicate significant differences between the columns.

Şekil 3. Deneysel gruplara ait ortalama adacık alanları. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur ( $n = 6$ ). Farklı harfler, sütunlar arasındaki anlamlı farklılıkları göstermektedir.

Immuno-stained sections from the control (Fig 4A) and Aa groups (not shown) displayed a strong cytoplasmic immune-reactivity of  $\beta$ -cells, which are located mainly in the core of the Langerhans islets. In rats with DM, no or a few sporadic immune-positive  $\beta$ -cells were observed in the islets, and some of them exhibited a vacuolated cytoplasm (Fig 4B). A marked reconstitution in the immune-positive  $\beta$ -cells was detected in the DM + Gli and DM + Aa groups (Figs 4C and 4D, respectively). In accordance with those observations, the  $\beta$ -cell index was dramatically reduced in the DM group ( $5.95 \pm 1.01\%$ ) when compared to the control ( $68.13 \pm 3.06\%$ ) and Aa ( $68.33 \pm 4.14\%$ ) groups ( $P < 0.05$ ). Significant increases in the DM + Gli and DM + Aa groups ( $43.70 \pm 6.53\%$  and  $28.37 \pm 11.27\%$ , respectively;  $P < 0.05$ ) were revealed in the  $\beta$ -cell index when compared to the DM group. However, the  $\beta$ -cell index values in both the DM + Aa and DM + Gli groups were still significantly lower than those determined in the control and Aa groups ( $P < 0.05$ ) (Fig 5).

The plasma insulin level exhibited a significant decrease in the DM group ( $0.72 \pm 0.19 \text{ mIU/L}$ ) when compared to the control ( $1.72 \pm 0.30 \text{ mIU/L}$ ) and Aa ( $1.94 \pm 0.16 \text{ mIU/L}$ ) groups ( $P < 0.05$ ). In both the DM

+ Aa and DM + Gli groups, insulin levels increased significantly ( $1.38 \pm 0.20 \text{ mIU/L}$  and  $2.04 \pm 0.12 \text{ mIU/L}$ , respectively) to near normal levels compared to the DM group (Fig 6). The plasma C-peptide level was also considerably decreased in the DM group ( $135.03 \pm 48.91 \text{ pg/mL}$ ,  $P < 0.05$ ) when compared to the control ( $794.00 \pm 114.74 \text{ pg/mL}$ ) and Aa ( $719.68 \pm 32.28 \text{ pg/mL}$ ) groups. In both the DM + Aa and DM + Gli groups, significant increases in the plasma C-peptide levels ( $365.43 \pm 107.98 \text{ mIU/L}$  and  $927.78 \pm 49.56 \pm 0.12 \text{ mIU/L}$ , respectively) were observed when compared to the DM group. The DM + Gli group exhibited plasma C-peptide levels near normal concentration, whereas for DM + Aa group, the Aa extract was less effective than Gli in returning the plasma C-peptide to normal levels (Fig 7).

DM is a metabolic disorder that has been reported worldwide, and is defined by hyperglycemia sourced from a lack of insulin production or deficiency of insulin action, or both, and the disease is still a significant cause of death. Chronic elevation of blood glucose levels leads to complications, including cardiovascular diseases, nephropathy, retinopathy, and neuropathy. Several plant extracts, such as phytochemicals or plant-derived natural compounds, are attractive agents that have been investigated



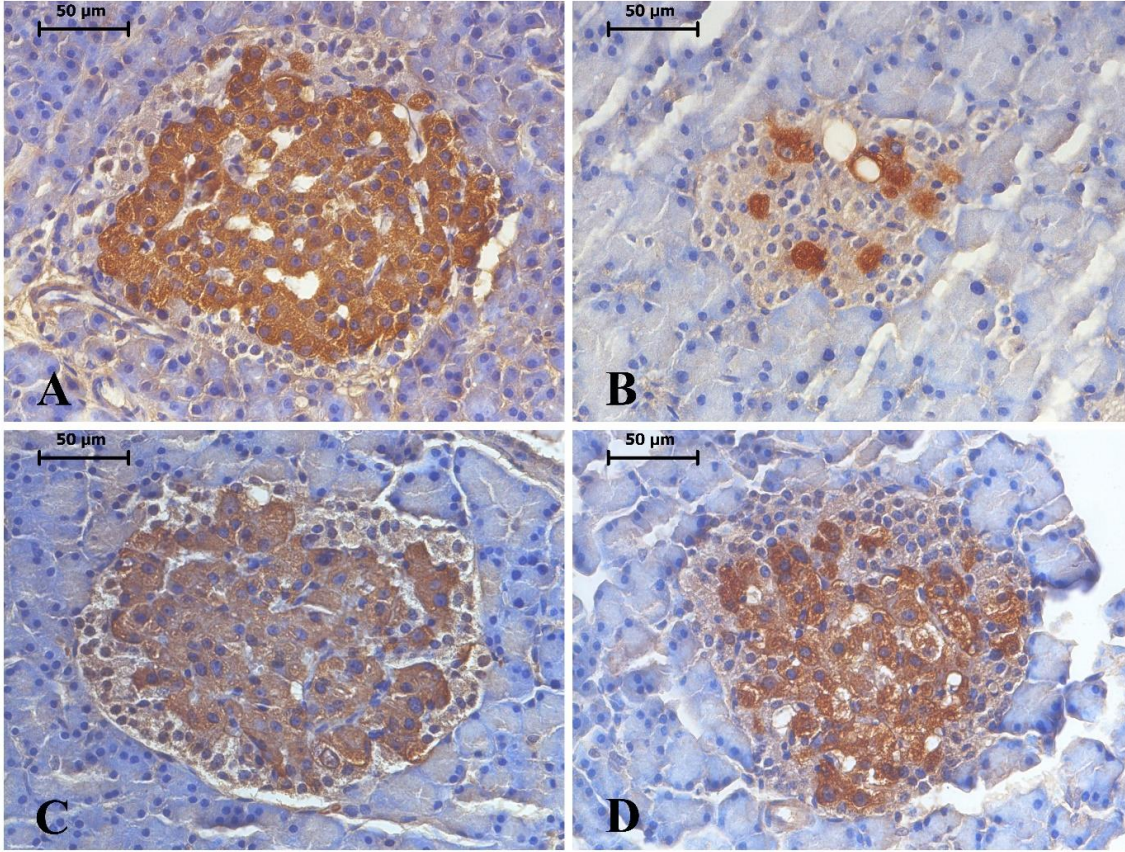


Figure 4. Pancreas sections immunostained with anti-insulin antibody. A)  $\beta$ -cells exhibit strong cytoplasmic immunostaining (brown) and occupying mainly the core of the islet from an animal from the control group. B) Decreased number of  $\beta$ -cells in a shrunken islet from the DM group; some cells exhibit cytoplasmic vacuolation. C) Islet of Langerhans from a Gli-treated animal showing increased number of  $\beta$ -cells compared to DM group. D) Islet of Langerhans from Aa treated diabetic animal showing reconstruction of  $\beta$ -cells comparing to the DM group.

Şekil 4. Anti-insülin antikoruna ile immün boyanan pankreas kesitleri. A) Kontrol grubuna ait bir hayvanın, güçlü sitoplazmik immün boyanma gösteren (kahverengi) ve çoğunlukla adacık merkezini kaplayan  $\beta$ -hücreleri. B) DM grubuna ait büzülmüş bir adacıkta az sayıda  $\beta$ -hücreleri; bazı hücreler sitoplazmik vakuolizasyon göstermektedir. C) DM grubuna kıyasla  $\beta$ -hücre miktarının artış gösterdiği, glibenklamid ile muamele edilen bir hayvana ait Langerhans adacığı. D) Aa ile muamele edilmiş bir diyabetik hayvanın  $\beta$ -hücrelerinin, DM grubuna kıyasla yeniden yapılanma gösterdiği, Langerhans adacığı.

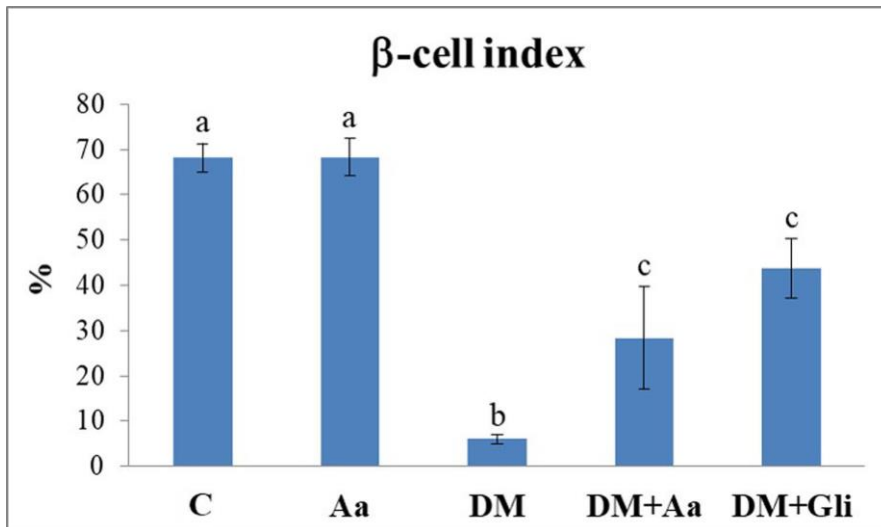


Figure 5.  $\beta$ -cell index values of the islets of Langerhans of different experimental groups. Data are means  $\pm$  SE, (n = 6). Different letters indicate significant differences between the columns.

Şekil 5. Farklı deneysel gruplara ait Langerhans adacıklarının  $\beta$ -hücre indeks değerleri. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur (n = 6). Farklı harfler, sütunlar arasındaki anlamlı farklılıkları göstermektedir.

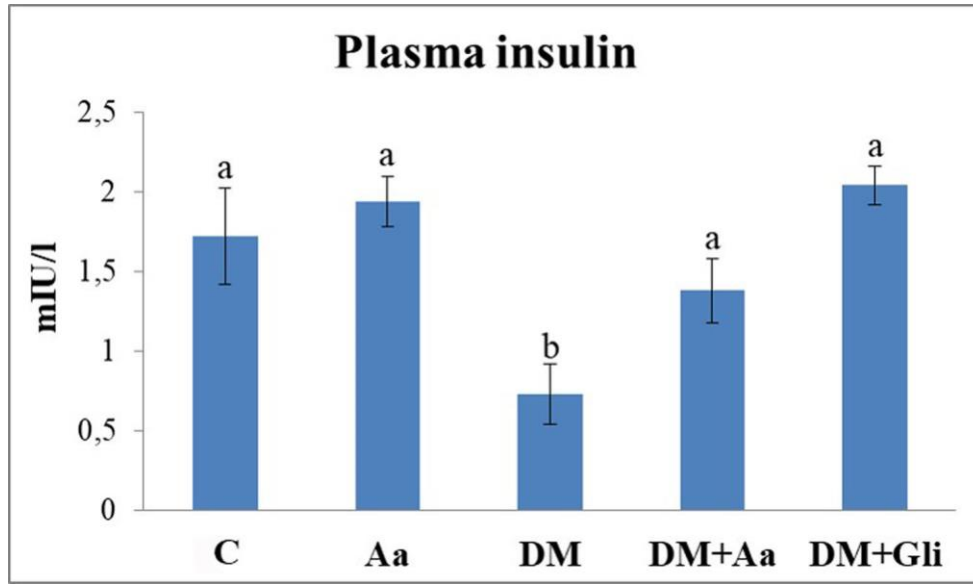


Figure 6. Plasma insulin levels for experimental groups. Data are means  $\pm$  SE, (n = 6). Different letters indicate significant differences between the columns.

Şekil 6. Deneysel gruplara ait plazma insülin seviyeleri. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur (n = 6). Farklı harfler, sütunlar arasındaki anlamlı farklılıkları göstermektedir.

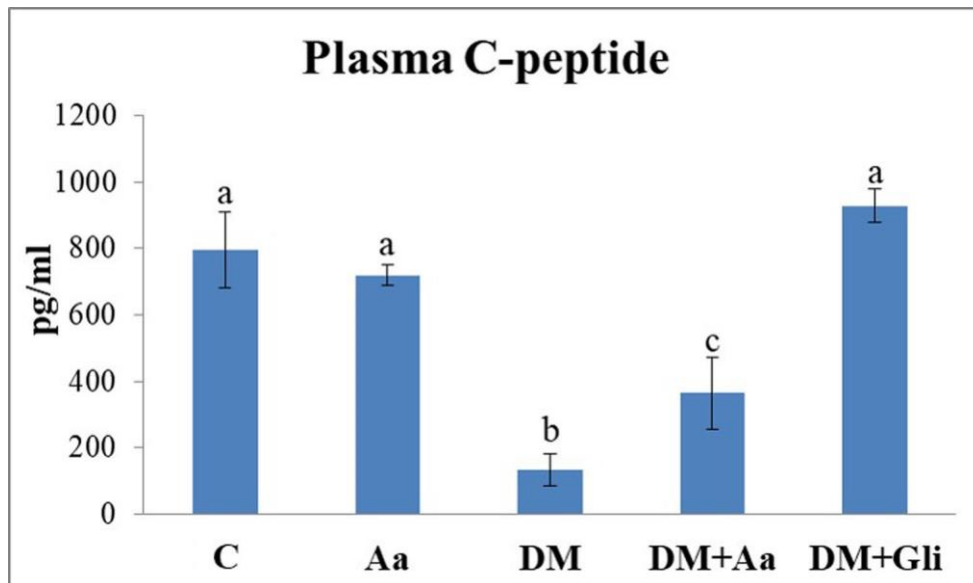


Figure 7. Plasma C-peptide levels for experimental groups. Data are means  $\pm$  SE, (n = 6). Different letters indicate significant differences between the columns.

Şekil 7. Deneysel gruplara ait plazma C-peptid seviyeleri. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur (n = 6). Farklı harfler, sütunlar arasındaki anlamlı farklılıkları göstermektedir.

because of their ameliorative benefits on DM complications, especially over the last 2 decades (Bnouham et al., 2006; Hosseini et al., 2015; Oh, 2015). Members of the genus *Achillea* L. have been traditionally used in many countries for different purposes in the treatment of many diseases, such as fevers, hypertension, hemorrhage, hemorrhoid, wounds, abdominal pain, rheumatic pain, etc. (Hammad et al. 2013). Scientific research has shown that aerial parts of Aa, especially the flowers, have exhibited antioxidant and antitumoral capabilities (Baharara et al., 2015; Al-Said et al., 2016; Varasteh-Kojourian et al., 2017); however, its antidiabetic

impact has been less studied and their actions of mechanisms on diabetic complications remain unknown. Therefore, the specific aim herein was an investigation of the protective effects of Aa flower ethanolic extract on pancreatic  $\beta$ -cells and its antidiabetic role in STZ-induced diabetic *Wistar albino* rats.

The histological and morphometric analyses performed in the H&E stained pancreas sections showed that the islets were shrunken and distorted by STZ. Moreover, degenerative and necrotic changes, such as cytoplasmic vacuolation and dark-stained pynotic

nuclei, were observed in the islet cells, especially located in the central part. The morphometric measurements also supported these observations, where the islet diameter/area were significantly decreased in the STZ-induced diabetic rats. These findings were in agreement with previous studies that used the same dose of STZ to induce DM (Ahmed et al. 2010; Abdel Aziz et al., 2013; Yang and Kang 2018). STZ leads to alkylation of the DNA, after being taken up into the  $\beta$ -cell via a glucose transporter (GLUT 2). Poly ADP-ribosylation, as a result of DNA damage, causes NAD<sup>+</sup> and adenosine triphosphate (ATP) depletion in the  $\beta$ -cell. Increased ATP dephosphorylation provides a substrate for xanthine oxidase, which demonstrates high activity in this cell. Superoxide radicals then develop and following that, hydrogen peroxide and hydroxyl radicals appear, and the cytotoxic action of STZ is demonstrated by the generation of reactive oxygen species. Finally, the  $\beta$ -cell are degenerated and necrosis occurs (Szkudelski, 2001). In the DM + Aa group, the negative impacts induced by STZ were improved, where the histopathological changes observed were lower and the islet diameter/area were significantly increased when compared to the DM group. Supporting those findings, the immuno-histochemical staining showed that decreased numbers of  $\beta$ -cells by STZ-inducement were reconstructed and the  $\beta$ -cell index significantly increased to the levels observed in the DM + Gli group. C-peptide, which is an important protein for insulin synthesis, connects to the  $\alpha$ - and  $\beta$ -chains of insulin in proinsulin. This molecule possesses an insulin-mimicking effect via the activation of insulin receptors and increases in the uptake of amino acid and the synthesis of glycogen. Insulin action is promoted by C-peptide at low levels of hormone and inhibited at high levels, which suggests an effect that regulates insulin signal transduction (Grunberger and Sima, 2004; Cersosimo et al., 2014). Additionally, in this study, insulin, as well as C-peptide deficiencies, in diabetic rats, caused by the damage in  $\beta$ -cells as a consequence of the impact of STZ were improved by the administration of ethanolic Aa extract. It has been reported that plant-derived compounds display their mechanisms of action by increasing the size and number of cells in the islet of Langerhans, protecting  $\beta$ -cells from destruction, regenerating and/or repairing the  $\beta$ -cells, enhancing insulin secretion, preventing  $\beta$ -cell apoptosis, preventing oxidative stress, and modulating  $\beta$ -cell differentiation and proliferation (Jarald et al., 2008; Hosseini et al., 2015; Oh et al., 2015; Uyar et al., 2017; Yaman et al., 2017). The flavonoids and phenolic compounds derived from plants are well-known to exert antidiabetic and antioxidant activities (Li et al., 2014; Dra et al., 2018; Sekiou et al., 2019). Phenolic compounds, such as quercetin and rutin, protect  $\beta$ -cells from STZ-induced oxidative stress, elevate blood insulin and C-peptide

levels, and participate in the regeneration of  $\beta$ -cells (Ahmed et al., 2010; Coskun et al., 2005; Yang and Kang, 2018). On the other hand, flavonoids, such as quercetin and (-)epicatechin, may, at least in part, cause an insulin release changing Ca<sup>2+</sup> metabolism in isolated islet cells (Hi and Howell, 1985). The phytochemical screening of methanolic Aa extract from showed rich phenol and flavonoid contents of its leaves and inflorescence ranging from 149–1657 mg of gallic acid equivalent per 100 g dry weight (dw) and 59–264 mg of quercetin equivalent per 100 g dw, and it has been shown to possess antioxidant activity (Varasteh-Kojourian et al., 2015). In an another study, 8 phenolic compounds, including quercetin 3- $\beta$ -D-glucoside, ferulic acid, rutin, quercetin, kaempferol, myricetin, luteolin, caffeic acid, were identified in the aqueous and ethanolic extracts of the flowering aerial parts of Aa, and the major phenolic compound was detected as quercetin 3- $\beta$ -D-glucoside, and it was reported that the extract from Aa showed radical scavenging activity (Hammad et al., 2013). The main components of Aa essential oil were determined as borneol (4.4%), chrysanthenone (8.2%), camphor (8.8%), eucalyptol (13.0%), and piperitone (34.9%), which comprise 68.3% of the part (Sökmen et al., 2004). Aa essential oil has been shown to be hepatoprotective and it has shown antioxidant activity on CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in rats (Al Said et al. 2016). Abd-Alla et al. (2016) isolated 3 sesquiterpene lactones and 4 derivatives of 3-methoxy flavones from extract of the aerial parts of Aa, and the extract protected rats against ethanol-induced gastric ulcers and inhibited  $\alpha$ -amylase activity that resulted in a postprandial hyperglycaemia lowering effect. In accordance with in this study, the other members of the genus *Achillea* L. have been shown to possess antidiabetic and antioxidant activities. For example, extracts from aerial parts of *A. fragrantissima*, containing polyphenols (gallic acid equivalent) and flavonoids (rutin equivalents), displayed therapeutic potential in the amelioration of a high-fat diet and diabetic rats by exhibiting very promising antidiabetic, hypolipidemic, aninflammatory, and antioxidant activities (Abd El-Fattah et al. 2018). In another study, the methanolic extract of *A. linguistica*, constituting mainly the triterpene moretenol, showed radical scavenging and antidiabetic activities (Conforti et al. 2005). Thus, the mitigating and secretory effect of Aa might be attributed to its phenolic and flavonoid content, showing its free radical scavenging and protective activity, and regenerative role on  $\beta$ -cells in the Langerhans islets.

## CONCLUSION

The data obtained in this study showed that i.p. administration of STZ caused histopathological alterations, decreases in the  $\beta$ -cell number in the islets,



and decreased levels of blood insulin and C-peptide levels in rats. However, the administration of ethanolic Aa extract at a dose of 400 mg<sup>·</sup>kg<sup>·</sup>bw attenuated the pathological alterations and partly regenerated the β-cell number comparing Gli-treated rats, leading to insulin and C-peptide secretion. Hence, it can be concluded that the plant has a islet-protective potential, but more research is necessary to determine the exact mechanism of action of Aa in a protective role on the islet architecture and function in STZ-induced DM.

### Acknowledgments and Funding

This study was partially supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of Van Yuzuncu Yil University under project numbers TYL-2019-865 and FAP-2019-8503. Thanks are given to Dr. Süleyman Mesut Pınar for his helpful taxonomical identification of the plant material.

### Conflict of Interest

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

### Author Contributions

AD and HCH conceived the research. AD and HCH contributed in preparation of the plant extract, animal handling and treatments. BK performed the histological and immunohistochemical works. BK and AD performed the biochemical analyses, analyzed the data and interpreted the results. BK drafted, edited and finalized the manuscript.

### REFERENCES

- Abd El-Fattah AI, Ali SA, Aly HF, Abd-Alla HI, Shalaby NM, Saleh MH 2018. Therapeutic potential of *Achillea fragrantissima* extracts in amelioration of high-fat diet and low dose streptozotocin diabetic rats. *J Complement Med Res* 7(2): 115–130. <https://doi.org/10.5455/jcmr.20180121122758>
- Abd-Alla HI, Shalaby NM, Hamed MA, El-Rigal NS, Al-Ghamdi SN, Bouajila J 2016. Phytochemical composition, protective and therapeutic effect on gastric ulcer and α-amylase inhibitory activity of *Achillea biebersteinii* Afan. *Arch Pharm Res* 39(1): 10–20. <https://doi.org/10.1007/s12272-014-0544-9>
- Abdel Aziz MT, El-Asmar MF, Rezaq AM, Mahfouz SM, Wassef MA, Fouad HH, Hanan HA, Taha FM 2013. The effect of a novel curcumin derivative on pancreatic islet regeneration in experimental type-1 diabetes in rats (long term study). *Diabetol Metab Syndr* 5(1): 75. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-5-75>
- Ahmed OM, Moneim AA, Yazid IA, Mahmoud AM 2010. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of action of *Ruta graveolens* infusion and rutin in nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetol Croat* 39(1): 15–35.
- Akkol EK, Koca U, Pesin I, Yilmazer D 2011. Evaluation of the wound healing potential of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae) by in vivo excision and incision models. *Evid Based Complement Alternat Med* 474026. <http://dx.doi.org/10.1093/ecam/nep039>
- Al-Marby A, Ejike CE, Nasim MJ, Awadh-Ali NA, Al-Badani RA, Alghamdi GM, Jacob C 2016. Nematicidal and antimicrobial activities of methanol extracts of 17 plants, of importance in ethnopharmacology, obtained from the Arabian Peninsula. *J Intercult Ethnopharmacol* 5(2): 114–121. <https://doi.org/10.5455/jice.20160217040157>
- Al-Said MS, Mothana RA, Al-Yahya MM, Rafatullah S, Al-Sohaibani MO, Khaled JM, Alatar A, Alharbi NS, Kurkcuoglu M, Baser HC 2016. GC-MS analysis: in vivo hepatoprotective and antioxidant activities of the essential oil of *Achillea biebersteinii* afan. Growing in Saudi Arabia. *Evid Based Complement Alternat Med* 1867048. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1867048>
- Al-Sokari SS, Ali NAA, Monzote L, Al-Fatimi MA 2015. Evaluation of antileishmanial activity of Albaha medicinal plants against *Leishmania amazonensis*. *Biomed Res Int* 938747. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/938747>
- Baharara J, Namvar F, Ramezani T, Mousavi M, Mohamad R 2015. Silver nanoparticles biosynthesized using *Achillea biebersteinii* flower extract: apoptosis induction in MCF-7 cells via caspase activation and regulation of Bax and Bcl-2 gene expression. *Molecules* 20(2):2693–2706. <https://doi.org/10.3390/molecules20022693>
- Bariş Ö, Güllüce M, Şahin F, Özer H, Kiliç H, Özkan H, Sökmen M, Özbek T 2006. Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Turk J Biol* 30(2): 65–73. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/tbtktbiology/issue/11725/139995>
- Bashi DS, Fazly Bazzaz BS, Sahebkar A, Karimkhani MM, Ahmadi A 2012. Investigation of optimal extraction, antioxidant, and antimicrobial activities of *Achillea biebersteinii* and *A. wilhelmsii*. *Pharm Biol* 50(9): 1168–1176. <https://doi.org/10.3109/13880209.2012.662235>
- Bnouham M, Ziyat A, Mekhfi H, Tahri A, Legssyer A 2006. Medicinal plants with potential antidiabetic activity-A review of ten years of herbal medicine research (1990–2000). *J. Diabetes Metab Disord* 14(1): 1–25. <https://doi.org/10.1159/000497588>
- Cersosimo E, Solis-Herrera C, Trautmann ME, Malloy J, Triplitt LC 2014. Assessment of pancreatic β-cell function: review of methods and clinical applications. *Curr Diabetes Rev* 10(1):2–42.

- <https://doi.org/10.2174/1573399810666140214093600>
- Conforti F, Loizzo MR, Statti GA, Menichini F 2005. Comparative radical scavenging and antidiabetic activities of methanolic extract and fractions from *Achillea ligustica* ALL. Biol Pharm Bull 28(9): 1791–1794. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.1791>
- Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S 2005. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and  $\beta$ -cell damage in rat pancreas. Pharmacol Res 51(2): 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2004.06.002>
- Doğan A 2020. D Investigation of the erythrocyte fragility, hematological and antioxidant effects of oleander (*Nerium oleander* L.) flower ethanolic lyophilized extract in diabetic rats. KSU J. Agric Nat 23 (6): 1495-1502. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.712369>
- Doğan A, Çelik İ 2016. Healing effects of sumac (*Rhus coriaria*) in streptozotocin-induced diabetic rats. Pharm Biol 54(10): 2092–2102. <https://doi.org/10.3109/13880209.2016.1145702>
- Dogan A, Dalar A, Sadullahoglu C, Battal A, Uzun Y, Celik I, Demirel K 2018. Investigation of the protective effects of horse mushroom (*Agaricus arvensis* Schaeff.) against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. Mol Biol Rep 45(5): 787–797. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4218-4>
- Dos Santos JM, Tewari, S., Mendes, RH 2019. The role of oxidative stress in the development of diabetes mellitus and its complications. J Diabetes Res 4189813. <https://doi.org/10.1155/2019/4189813>
- Dra LA, Sellami S, Rais H, Aziz F, Aghraz A, Bekkouche K, Markouk M, Larhsini M 2019. Antidiabetic potential of *Caralluma europaea* against alloxan-induced diabetes in mice. Saudi J Biol Sci 26(6): 1171–1178. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.028>
- Duman H 2000. *Achillea* L., in: Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC, editors. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh. 11: pp 158–159.
- Fujita T, Sezik E, Tabata M, Yesilada E, Honda G, Takeda Y, Tanaka T, Takaishi Y 1995. Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and west Black Sea regions. Econ Bot 49(4): 406–422. <https://doi.org/10.1007/BF02863092>
- Giacco F, Brownlee M 2010. Oxidative stress and diabetic complications. Circ Res 107(9): 1058–1070. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223545>
- Grunberger G, Sima AA 2004. The C-peptide signaling. J. Diabetes Res 5(1): 25–36. <https://doi.org/10.1080/15438600490424497>
- Hammad HM, Albu C, Matar SA, Litescu SC, Al Jaber HI, Abualraghib AS, Afifi FU 2013. Biological activities of the hydro-alcoholic and aqueous extracts of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae) grown in Jordan. Afr J Pharm Pharmacol 7(25): 1686–1694. <https://doi.org/10.5897/AJPP2012.1490>
- Hii CST, Howell SL 1985. Effects of flavonoids on insulin secretion and  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  handling in rat islets of Langerhans. J Endocrinol 107(1): 1–8. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1070001>
- Honda G, Yesilada E, Tabata M, Sezik E, Fujita T, Takeda Y, Takaishi Y, Tanaka T 1996. Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in west Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. J. Ethnopharmacol 53: 75–87. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(96\)01426-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(96)01426-2)
- Hosseini A, Shafiee-Nick R, Ghorbani A 2015. Pancreatic beta cell protection/regeneration with phytotherapy. Braz J Pharm Sci 51(1): 1–16. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000100001>
- Huber-Morath A 1975. *Achillea* L., in: Davis PH, editor. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 5: pp 224–252.
- Ibeha BO, Ezeaja MI 2011. Preliminary study of antidiabetic activity of the methanolic leaf extract of *Axonopus compressus* (P. Beauv) in alloxan-induced diabetic rats. J. Ethnopharmacol 138: 713–716. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.10.009>
- Jarald E, Joshi SB., Jain DC 2008. Diabetes vs. herbal medicines. Iranian J Pharmacol Ther 7(1): 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.10.009>
- Kaptaner B 2019. Immunohistochemical distribution of insulin-, glucagon- and somatostatin-containing cells in the pancreas of Lake Van fish (*Alburnus tarichi* Güldenstädt, 1814) (Cyprinidae). Eur J Histochem 63(1): 2999. <https://doi.org/10.4081/ejh.2019.2999>
- Konyalioglu S, Karamenderes C 2005. The protective effects of *Achillea* L. species native in Turkey against  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes. J. Ethnopharmacol 102(2): 221–227. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.06.018>
- Li D, Peng C, Xie X, Mao Y, Li M, Cao Z, Fan D 2014. Antidiabetic effect of flavonoids from *Malus toringoides* (Rehd.) Hughes leaves in diabetic mice and rats. J Ethnopharmacol 153(3): 561–567. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.026>
- Motavalizadehkakhky A, Shafaghat A, Zamani HA, Akhlaghi H, Mohammadhosseini M, Mehrzad J, Ebrahimi Z 2013. Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils and extracts of two *Achillea* species from Iran. J Med Plant Res 7(19): 1280–1292. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.300>
- Oh YS 2015. Plant-derived compounds targeting pancreatic beta cells for the treatment of diabetes. Evid Based Complement Alternat Med 629863. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/629863>
- Okur ME, Karantas ID, Siafaka PI 2017. Diabetes mellitus: a review on pathophysiology, current

- status of oral pathophysiology, current status of oral medications and future perspectives. *Acta Pharm Sci* 55(1): 61-82. <http://dx.doi.org/10.23893/1307-2080.APS.0555>
- Okwudili OS, Chimaobi NG, Ikechukwu EM, Ndukaku OY 2017. Antidiabetic and in vitro antioxidant effects of hydromethanol extract of *Paullinia pinnata* root bark in alloxan-induced diabetic rat. *J. Altern Complement Med* 15(2): 20150017. <https://doi.org/10.1515/jcim-2015-0017>
- Sekiou O, Boumendjel M, Taibi F, Boumendjel A, Messarah M 2019. Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia herba alba* aqueous extract on hyperlipidemia and oxidative damage in alloxan-induced diabetic rats. *Arch Physiol Biochem* 125(2): 163–173. <https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1443470>
- Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T 2001. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in central Anatolia. *J Ethnopharmacol* 75(2-3): 95–115. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(00\)00399-8](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(00)00399-8)
- Szkudelski T 200). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 50(6): 537–546. <https://doi.org/10.1002/ptr.1438>.
- Sokolovska J, Isajevs S, Sugoka O, Sharipova J, Paramonova N, Isajeva D, Rostoka E, Sjakste T, Kalvinsh I, Sjakste N 2012. Comparison of the effects of glibenclamide on metabolic parameters, GLUT1 expression, and liver injury in rats with severe and mild streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Medicina (Kaunas)* 48(10): 532–543. <https://doi.org/10.3390/medicina48100078>
- Sökmen A, Sökmen M, Daferera D, Polissiou M, Candan F, Ünlü M, Akpulat HA 2004. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan. (Asteraceae). *Phytother Res* 18(6): 451-456. <https://doi.org/10.1002/ptr.1438>
- Uyar A, Yaman T, Keles OF, Alkan EE, Celik I, Yener Z 2017. Protective effects of *Bryonia multiflora* extract on pancreatic beta cells, liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats: histopathological and immunohistochemical investigations. *Indian J Pharm Educ Res* 51(3): 403–411. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.57>
- Varasteh-Kojourian M, Abrishamchi P, Matin MM, Asili J, Ejtehadi H, Khosravitarab F 2017. Antioxidant, cytotoxic and DNA protective properties of *Achillea eriophora* DC. and *Achillea biebersteini* Afan. extracts: a comparative study. *Avicenna J Phytomed* 7(2): 157–168.
- Yaman T, Uyar A, Celik I, Alkan EE, Keles OF, Yener Z 2017. Histopathological and immune histochemical study of antidiabetic effects of *Heracleum persicum* extract in experimentally diabetic rats. *Indian J Pharm Educ Res* 51(3): 450–457. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.66>
- Yang DK, Kang HS 2018. Anti-diabetic effect of cotreatment with quercetin and resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomol Ther* 26(2): 130–138. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2017.254>
- Yesilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Goto, K, Ikeshiro, Y 1993. Traditional medicine in Turkey IV. Folk medicine in the Mediterranean subdivision. *J. Ethnopharmacol* 39: 31–38. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(93\)90048-A](https://doi.org/10.1016/0378-8741(93)90048-A)
- Zolghadri Y, Fazeli M, Kooshki M, Shomali T, Karimaghayee N, Dehghani M 2014. *Achillea millefolium* L. hydro-alcoholic extract protects pancreatic cells by down regulating IL-18 and iNOS gene expression in diabetic rats. *Int J Mol Cell Med* 3 (4): 255–262. <http://ijmcmmed.org/article-1-221-en.html>

## Determination of The Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activity of *Paulownia tomentosa* Steud.

Şule İNCİ<sup>1\*</sup>, Lütfiye KADIOĞLU DALKILIÇ<sup>2</sup>, Sevda KIRBAĞ<sup>3</sup>, Semih DALKILIÇ<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Firat, 23119, Elazığ/Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-4022-5269>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-6791-3811>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0002-6892-247X>

✉: [sule.inci@hotmail.com](mailto:sule.inci@hotmail.com)

### ABSTRACT

*Paulownia tomentosa*, used in traditional Chinese medicine, is used in the treatment of diseases such as bronchitis and asthma thanks to its biological activities. In addition, it is known to have antimicrobial, antioxidant, anticancer effects and it is also used in the treatment of diseases such as dysentery, gonorrhoea, hemorrhoids. In this study, the antimicrobial activity of extracts obtained from methanol solvent of flower and petal parts of *P. tomentosa* was determined according to the disk diffusion method. The antioxidant activity of the different concentrations of the extracts obtained from methanol solvent of flower and petal extracts was determined via the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity method. Anticancer activity of different concentrations of extracts obtained from solvents such as methanol, ethanol and hexane was determined using the 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) test method. As a result, it was found that methanol extract of the flower part of *P. tomentosa* showed the best antimicrobial activity against *S. aureus* (18 mm). It was determined that antioxidant activity of *P. tomentosa* increased depend to increasing concentrations. It was concluded that *P. tomentosa* has the best cytotoxic effect in hexane extract.

### Research Article

#### Article History

Received : 02.10.2020

Accepted : 03.12.2020

#### Keywords

Medical Plant

*Paulownia tomentosa*

Antimicrobial effect

Antioxidant effect

Cytotoxic effect

## *Paulownia tomentosa* Steud.'un Antimikrobiyal, Antioksidan ve Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi

### ÖZET

Geleneksel Çin tıbbında kullanılan *Paulownia tomentosa* sahip olduğu biyolojik aktiviteler sayesinde bronşit ve astım gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra antimikrobiyal, antioksidan, antikanser gibi etkilerinin olduğu ve dizanteri, bel soğukluğu, hemoroid gibi hastalıkların tedavisinde de kullanıldığı bilinmektedir. Bu çalışmada *P. tomentosa*'nın çiçek, petal, kabuk, yaprak ve odun kısımlarının metanol çözücüsünden elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metoduna göre belirlenmiştir. Çiçek ve petal kısımlarının metanolden elde edilen ekstraktının farklı konsantrasyonlarının antioksidan aktivitesi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü kapasitesi yöntemine göre tespit edilmiştir. Metanol, etanol ve heksan gibi çözücülerden elde edilen ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının antikanser aktivitesi 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-ii)-2,5-difenil tetrazolium bromür (MTT) test yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçta en iyi antimikrobiyal aktiviteyi *P. tomentosa*'nın çiçek kısmının metanol özütü *S. aureus*'a (18 mm) karşı gösterdiği tespit edilmiştir. *P. tomentosa*'nın antioksidan aktivitesinin artan konsantrasyonlara bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. *P. tomentosa*'nın en iyi sitotoksik etkiyi heksan ekstresinde gösterdiği tespit edilmiştir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 02.10.2020

Kabul Tarihi : 03.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

Tıbbi Bitki

*Paulownia tomentosa*

Antimikrobiyal etki

Antioksidan etki

Sitotoksik etki



## INTRODUCTION

Since ancient times, societies have benefited primarily from plants to obtain nutrients and treat diseases. It has come to date day with some changes and developments in usage patterns (Adıgüzel and Kızılaslan, 2016). Especially with the increasing number of chronic diseases, the importance of the drug used in treatment, the amount of the drug and the desired physiological response have increased the use of herbal medicine in the World (Doğan & Avcı, 2018). These herbal medicines used are known to be effective in the treatment of cancer prevention, joint pain, treatment of anxiety and depression, back pain, heart disease and kidney diseases (Eisenberg et al., 1998; King and Pettigrew, 2003; Faydaoğlu and Sürücüoğlu, 2011; Kardaş, 2019). For this purpose, studies and evaluation of the biological activities of plant extracts are needed.

The *Paulownia tomentosa* Steud., called the princess tree, belongs to the Scrophulariaceae family, is tree a fast growing and deciduous has economic value (San Jose Mdel et al., 2014). The bark, timber and flowers of the paulownia tree are used in the treatment of infectious and inflammatory diseases in traditional Chinese medicine (Ji et al., 2015). It is also known to be used in the treatment of diseases such as hemorrhoids, traumatic bleeding, bacteriological diarrhea, hypertension, dysentery and as an expectorant in upper respiratory diseases (Uğuz, 2018; Lee et al., 2018).

In this study, It was aimed to determine the antimicrobial activity of the extracts of *P. tomentosa* obtained from methanol solvent of its flower and petals, and to determine antioxidant activity of different concentrations of flower and petal extracts obtained from methanol and to determine anticancer activity of different concentrations of extracts obtained from solvents including methanol, ethanol and hexane.

## MATERIAL and METHODS

### Collection and Identification of the Material

*P. tomentosa* was collected from the Elazığ-Fırat University campus in 2019. The taxonomic identification of plant material was determined by using the Flora of Turkey (Davis, 1970, 1984, 1985) and with help of systematic-botanic specialist Prof. Dr. Semsettin Civelek from Fırat University.

### Obtaining and Preparing the Material

The flower and petal parts of *P. tomentosa* were dried and grounded and 5 g of each extract were taken. Extraction performed for 7 hours in a soxhlet device using 150 ml of %96 methanol, ethanol and hexane solvents. Then, the alcohol remaining in the extracts was concentrated at 40°C using a rotary evaporator.

### Test Microorganisms

In this study; *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25322, *Candida albicans* FMC17 and *Trichophyton sp.* microorganisms were used. Microorganism cultures were obtained from Fırat University, Faculty of Science, Department of Biology, Microbiology Laboratory culture collection.

### Preparation of Microorganism Cultures and Testing Antimicrobial Effect

Antimicrobial activity of the methanol extracts of flower and petal parts of *P. tomentosa* was determined according to the disk diffusion method (Collins and Lyne, 1987). Bacterial strains (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25322) were inoculated in Nutrient Buyyon (Difco) and incubated at 35±1°C for 24 hours. Yeast strains (*Candida albicans* FMC17) were inoculated in Malt Extract Buyyon (Difco), dermatophyte fungi (*Trichophyton sp.*) were inoculated in Glucose Sabouroud Buyyon (Difco) and incubated at 25 ± 1°C for 48 hours. The culture of prepared bacteria, yeast and fungi in broth are respectively; was inoculated into Müeller Hinton Agar, Sabouraud Dextrose Agar and Potato Dextrose Agar at a rate of 1% (10<sup>6</sup> bacteria ml, 10<sup>4</sup> yeast ml, 10<sup>4</sup> fungi ml). After shaking thoroughly, 25 ml was poured in sterile petri dishes with a diameter of 9 cm and homogeneously of the medium was dispersed. The discs (6 mm diameter) each of which 100 µl of different extracts were impregnated, and added to the appropriate agar media inoculated with microorganism. Then, petri dishes were stored at 40 °C for 2 h. The inoculated petri dishes were incubated at 37±0.10 °C at 24 h for bacterial strains and also at 25±0.10 °C at 72 h for yeasts and dermatophyta fungi. As a control, different standard discs were used for bacteria (Streptomycin sulfate 10 µg disk) and yeasts (Nystatin 30 µg disk). Dimethyl sulfoxide (DMSO) was used for negative control. Inhibition zones formed on the medium at the end of the period were evaluated in mm.

### Testing the Antioxidant Effect

The antioxidant activity of the different concentrations of the methanol extract of the mixture of flower and petal parts (1:1) of *P. tomentosa* was determined according to the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity method (Cuendet et al., 1997; Kirby and Schmidt, 1997). The solution was prepared in methanol at a concentration of 2 mg ml of the extract obtained. The prepared solution was diluted four times and the calibration curve of DPPH was obtained. By taking 40 µl of the prepared solution, 160 µl of DPPH solution was added. After thorough mixing, the mouth was closed and kept in the dark for 30 minutes. The same procedures were repeated for all



concentrations and methanol was used as a control. At the end of this period, the absorbances of each mixture were read at 517 nm in the spectrophotometer. % inhibition values were calculated;

$$I(\%) = (A_{control} - A_{sample} / A_{control}) \times 100 \quad (1)$$

### Testing The Cytotoxic Effect

#### Cell culture

Breast cancer cell line used in this study was supplied from İnönü University and Erzurum Technical University and cultured in DEMEM medium supplemented with 2 mM L-Glutamine, 1% Penicillin-Streptomycin and 10% FBS. Cells were incubated at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub> incubator. The stock solution was prepared in DMSO.

#### MTT reduction assay

The anticancer activity of hexane, ethanol and methanol extracts of *P. tomentosa* was determined by using 3-(4,5dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay method. MTT, which is one of the tetrazolium salts, is transformed into a structure called formazan by the reduction of the electron and provides the color change. Briefly, the tetrazolium rings that are broken by the active mitochondria causing the color change in the living cells (Mossmann, 1983).

The MDA-MB-231 cell line, grown in 25 cm<sup>2</sup> flasks, was confluent and the medium was removed by washing with 5 ml sterile PBS solution. Then, 1 ml of Trypsin-EDTA was added to the flask and incubated for 2 minutes at 37°C in 5% CO<sub>2</sub> medium. After the

cells were removed from the surface, trypsin-EDTA was inactivated by adding 5 ml medium. Cells were removed from the flask and centrifuged at 1200 rpm for 5 minutes. The supernatant was discarded and the pellet was dissolved in a new medium. Then, the cells were counted and their concentration adjusted to 5000 cells per well. 100 µl was added to 96 well plate wells. Then, it was incubated for 24 hours at 37°C in 5% CO<sub>2</sub> medium. After incubation, 100 µl from different concentrations (1/1000, 1/2000, 1/4000) of methanol, ethanol and hexane extracts of *P. tomentosa* were added and incubated for 24 hours at 37°C in 5% CO<sub>2</sub> medium. At the end of the incubation, 20 µl of MTT solution was added and at the end of 4 hours incubation, absorbance measurements at 570 and 540 nm wavelengths were made. Doxorubicin was used as positive control and DEMEM as negative control.

#### Statistical Analyses

The absorbance values measured by ELISA plate reader were compared with the control groups and plotted. Statistical analysis was performed using SPSS 21, Paired Samples T Test was used to determine the differences between the groups. Quantitative data were expressed as mean ± standard deviation (Mean ± SD) and p < 0.05 was considered significant level.

## RESULTS and DISCUSSION

### Antimicrobial Effect

Antimicrobial activity results against *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* and *Trichophyton sp.* of the methanol extracts of *P. tomentosa*'s flower and petal parts are given in Table 1.

Table 1. Antimicrobial effect of flower and petal parts of *P. tomentosa*

Çizelge. *P. tomentosa*'nın çiçek ve petal kısımlarının antimikrobiyal etkisi

	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>Trichophyton sp</i>
P.T- Flower ( <i>P.T-Çiçek</i> )	18	16	-	13
P.T- Petal ( <i>P.T-Petal</i> )	-	12	8	9
Control ( <i>Kontrol</i> )	12	10	30	11

P.T Flower: Flower part of *P. tomentosa*; P.T Petal: Petal part of *P. tomentosa*

Methanol extracts of flower part of *P. tomentosa* showed antimicrobial effects against *S. aureus* (18mm). But, it was determined that the methanol extract of petal part sustained no antimicrobial effect (Table Çizelge 1).

Inhibition zones of methanol extracts of the flower and petal parts of *P. tomentosa* against *E. coli* were determined to be 16mm and 12mm, respectively (Table 1).

It was determined that methanol extracts of the petal part of *P. tomentosa* had little antimicrobial effect against *C. albicans* (8mm) and the flower part had no antimicrobial effects (Table 1).

Inhibition zones of the methanol extracts of flower and

petal parts of *P. tomentosa* against *Trichophyton sp.* were determined as 13mm and 9mm, respectively (Table 1).

In a study, it was determined that some C-granule flavanones selected from *P. tomentosa* fruits have minimum inhibitor concentrations between 2-64 µg ml against MRSA 287, MRSA 4211, MRSA 6975, MRSA 630 and MRSA 62059 strains (Navrátilová et al., 2013). The antiviral effect of methanol extract of flowers of the same species against enterovirus 71 and coxavirus A16 has been tested and the results have only been reported to show antiviral effects against enterovirus 71 (Ji et al., 2015). Minimum inhibitor concentrations of C6 granulated compounds of *P. tomentosa* (30-O-methyl-50-hydroxydiplocon, 30-O-

methyl-50-O-methyldiplacone, 30-O-methyldiplacol, 30-O-methyldiplacone, mimulo and diplacone) have been found between 2-64 µg ml against MRSA 1903, MRSA 63718, MRSA 3202, MRSA 62097, MRSA 67755 and MRSA 1679 strains (Navrátilová et al., 2016). The antiviral effect against Brunhilde strain poliovirus type 1 and Leon strain type 3 was studied using *P. tomentosa* Hela cells. IC50 values were determined to be 0.3 µg mL and 0.6 µg mL, respectively (Kang et al., 1999). Eight different C-6-geranilflavonoids were isolated from the ethanol extract of the fruits of *P. tomentosa* and their antibacterial effect was tested. According to the results obtained, it shown antibacterial activity against at 2-16 µg mL against *B. cereus*, 4-8 µg mL against *B. subtilis*, 4-8 µg mL against *E. faecalis*, 2-32 µg mL against *L. monocytogenes*, 2-16 µg mL against *S. aureus*, 2-32 µg mL against *S. epidermidis* but it didnt show antibacterial activity against *P. aeruginosa*, *S. enteritidis* and *E. coli* (Smejkal et al., 2008). It was reported in the study that the inhibition zones of *P. elongata* leaves and silage extract against *S. enterica*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. alvei* and *C. albicans* ranged between 12.7-17.3 mm (Popova and Baykov, 2013). The extract from the epicarp of the fruits of *P. fortunei* and *P. tomentosa* showed antimicrobial activity against *S. aureus* and *B. subtilis*, while showed lower antimicrobial activity against *S. carlsbergensis* and *E. coli* (Cercos, 1982). In a different study, the antibacterial and antifungal activity of the DMSO extract of the oil obtained from the seed of *Ceplalaria syriaca* (L.) was investigated. In the results obtained, it has been determined that it shows different antimicrobial effects (10.66-2.6 mm) at different concentration against *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *E. coli*, *S. marcescens*, *S. epidermis*, *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *L. innocua*, *E. faecalis*, *P. fluorescens*, *S. infantis*, *E. aerogenes*, *S. kentucky*, *E. durans*. It created a 2.16 mm inhibition zone against *C. albicans* at a concentration of 70 µl ml (Atalan et al., 2020). While *A. acerosum* created different inhibition zones in different concentrations against *E.coli* and *S.aureus*, it did not show antifungal activity against *C. albicans*. In the same study, it was reported that extracts of *A. microcephalum* at different concentrations did not show antimicrobial effects against *E.coli*, *S.aureus* and *C. albicans* (Bülbül et al., 2018). It has been determined that *Gypsophila laricina*, *Centaurea aphrodisia*, *Centaurea polyclada* and *Limoniopsis davisii* form 3-16.6 mm inhibition zone against *S. aureus* at different concentrations (Tozyilmaz et al., 2020). When the obtained results are compared with the results from previous studies and species such as *Gypsophila laricina*, *Centaurea aphrodisia*, *Centaurea polyclada* and *Limoniopsis davisii*, *A. acerosum*, *A. microcephalum*, *Ceplalaria syriaca*, it is seen that their antibacterial and

antifungal effects deffered with the particular solvents, microorganisms and plant materials used in the studies.

### Antioxidant Effect

The inhibition percentage of the DPPH radical of different concentrations of the methanol extract of the flower and petal parts of *P. tomentosa* in is shown in Table 2.

Table 2. Percentage of inhibition of the DPPH radical of flower and petal parts of *P. tomentosa*

Çizelge 2. *P. tomentosa*'nın çiçek ve petal kısımlarının DPPH radikalinin inhibisyon yüzdesi

Concentration Konsantrasyon	Percentage of inhibition of the DPPH radical DPPH radikalinin inhibisyon yüzdesi
2 mg ml	28.195
1 mg ml	23.684
0.5 mg ml	10.902
0.25 mg ml	9.022
0.125 mg ml	1.127

According to the results obtained, DPPH radical scavenging effect of the methanol extract of flower and petal parts of *P. tomentosa* on the was increased depend to increasing concentrations (Table 2).

The IC50 values of the DPPH radical scavenging effect of *P. tomentosa*'s butanol, ethylacetate, chloroform, methanol and hexane extracts were determined to be %0.008, %0.007, %0.0166, %0.0316, and %0.74 mg ml, respectively (Smejkal et al., 2007). The antioxidant effect of some flavanides of the same species was tested using different methods. TEAC<sub>ABTS</sub> and TEAC<sub>DPPH</sub> were determined to be in the range of 3.2-0.97 and 1.06-0.12 respectively. (Zima et al., 2010). It is known that *P. tomentosa*'s leaf (1104,908 µmolTE g) and flower (223,280 µmolTE g) extracts have a sweeping effect on the DPPH radical (Uğuz and Kara, 2019). In a different study of the same species, IC50 value of DPPH radical scavenging effect was determined as 0.025 ± 0.001 mg mL. TEAC<sub>ABTS</sub> value was calculated as 0.821 ± 0.013 mM Trolox eq. mg and FRAB value as 1.647 ± 0.018 mM FeSO<sub>4</sub> eq. mg (Jo and Kim, 2019). The components of the flower extract of *P. tomentosa* were separated using ethanol elution and it was determined that these components have strong antioxidant properties (Meng et al., 2014). DPPH radical scavenging effect of *P. coreana*'s shell using 50°C hot water and 25°C methanol was %32.51 and %87.22, respectively (Lee and Jeong, 2013). The percentage of DPPH scavenging inhibition percentages at concentrations 70 µl ml, 35 µl ml, 17.5 µl ml, 8.75 µl ml and 4.375 µl ml of the oil obtained from the seed of *Ceplalaria syriaca* (L) was calculated 9.27 ± 8.16, 7.4 ± 3.79, 8.79 ± 0.58, 2.06 ± 1.57 and 8.7 ± 4.98, respectively (Atalan et al., 2020). IC50 values of DPPH radical scavenging effect of *Gypsophila laricina*,

*Centaurea aphrodisea*, *Centaurea polyclada* and *Limoniopsis davisii* were reported as 1.51, 2.11, 10.7 and 0.48 mg ml, respectively (Tozyılmaz et al., 2020). When we compare the obtained results with other results in the literature, it is seen that the antioxidant effect of *P. tomentosa* is higher than some plant species and lower than others. Because the concentrations

used affect the study results.

### Cytotoxic Effect

The cytotoxic effects of different concentrations of hexane, ethanol and methanol extracts of *P. tomentosa* against the MDA-MB-231 cell line at 540 nm wavelength are shown in Table 3.

Table 3. Cytotoxic effect of *P. tomentosa* at 540 nm wavelength against MDA-MB-231 cell line

Çizelge 3. *P. tomentosa*'nın MDA-MB-231 hücre hattına karşı 540 nm dalga boyundaki sitotoksik etkisi

	1/1000	1/2000	1/4000
Doxorubicin ( <i>Dokсорubisin</i> )	0.0982	0.0982	0.0982
(-) Control (-)Kontrol)	0.4395	0.4395	0.4395
<i>P. tomentosa</i> -H	0.241	0.633	0.4665
<i>P. tomentosa</i> -E	0.3712	0.7202	0.5287
<i>P. tomentosa</i> -M	0.3807	0.9792	0.6252

*P. tomentosa*-H: Hexane extract of *P. tomentosa*; *P. tomentosa*-E: Ethanol extract of *P. tomentosa*; *P. tomentosa*-M: Methanol extract of *P. tomentosa*

According to the results obtained, the hexane, ethanol and methanol extracts of *P. tomentosa* showed the best cytotoxic effect at a concentration of 1/1000 against the MDA-MB-231 cell line at a wavelength of 540 nm. The cytotoxic effects of these extracts were determined as 0.241, 0.3712 and 0.3807, respectively. However, it has been observed that 1/2000 and 1/4000 concentrations of *P. tomentosa*'s hexane, ethanol and methanol extracts have no cytotoxic effects compared to control (Table 3).

In the cytotoxicity study of the active component isolated from *P. tomentosa* against HEPG2, A-549 and MCF-7 cell lines, IC50 values were reported as 14.5, 68.4 and 3.5 µg l\*10<sup>4</sup>, respectively (Ali et al., 2019). Some flavanoids isolated from *P. tomentosa* have shown different levels of cytotoxic effect against human erythro-leukemia K562 cells. In especially, it was determined that diplacone shows the best cytotoxic activity with the IC50 value of 4.4 µM (Smejkal et al., 2008). In the cytotoxic study of different concentrations of the same species (25, 50, 100, 200 µg mL) against the RAW264.7 cell line, it was observed that it did not affect cell viability at concentrations of 200 µg mL or less and was non-toxic (Jo and Kim, 2019).

### CONCLUSION

Since plants are more frequently used in pharmacology in recent years, it is medically important to be preferred as natural agents in the treatment of diseases. For this purpose, we think that *P. tomentosa* may be a natural antibiotic or a therapeutic agent. Especially, we anticipate that its antimicrobial, antioxidant and cytotoxic effects may be due to of the flavonides that it contains. The better understanding of the role of *P. tomentosa* components in medicine requires further studies for upcoming years.

### Conflict Of Interest

The authors declared no conflict of interest.

### REFERENCES

- Adıgüzel F, Kızılaslan N 2016. İstanbul ilinde tıbbi, aromatik ve baharat bitkileri satışı yapan aktarların yapısal özellikleri ve mevzuat hakkındaki görüşleri. Ana Tarım Bilim Derg 31:40-59.
- Atalan E, Bülbül AS, Ceylan Y 2020. *Cephalaria Syriaca* (L.): Investigation of antimicrobial, antibiofilm, antioxidant potential and seed morphology. Fresen Environ Bull 29(5):3641-3649.
- Bülbül AS, Ceylan Y, Armağan M 2018. Investigation of antibacterial and antifungal properties of *Acanthophyllum acerosum* and *Acanthophyllum microcephalum*. Re J Bio Sci 11(2): 14-17.
- Cercós AP 1982. Antimicrobial activity of the epicarp of the fruits of *Paulownia fortunei* and *Paulownia tomentosa*. Rev Argen de Microbio 14(2):111-114.
- Collins CM, Lyne PM 1987. Microbiological methods. Butterworths & Co. Ltd., London.
- Cuendet M, Hostettmann K, Potterat O, Dyatmiko W 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. Helvetica Chimica Acta 80(4):1144-1152.
- Davis PH 1970-1984-1985. Flora of Turkey and the Aegean Islands. V:7, 8, 9 Edinburgh Univ. Press. England.
- Doğan Ö, Avcı A 2018. Bitkilerle tedavi ve ilaç etkileşimleri. Turk Klin J Pub Heal 4(1): 49-54.
- Eisenberg DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S, Van Rompay M, Kessler RC 1998. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990- 1997: results of a follow-up national survey. JAMA 280:1569-75.
- Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS 2011. Geçmisten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin



- Kullanılması ve Ekonomik Önemi. KÜ Orman Fak Derg 11(1):52-67.
- Ji P, Chen C, Hu Y, Zhan Z, Pan W, Li R, Li E, Ge HM, Yang G 2015. Antiviral Activity of *Paulownia tomentosa* against Enterovirus 71 of Hand, Foot, and Mouth Disease. Biol Pharm Bull 38:1-6.
- Kang KH, Huh H, Kim BK, Lee CK 1999. An Antiviral Furanoquinone from *Paulownia tomentosa* Steud. Phytother Res 13:624-626.
- Kardaş C 2019. Muş'ta Yabani Bitkilerin Halk Hekimliğinde Kullanılması. Lokman Hekim Derg 9(1):85-96.
- King M, Pettigrew A 2003. Complementary and alternative therapy use by older adults in three ethnically diverse populations: A pilot study. Geriatric Nursing 25(1): 30-7.
- Kirby AJ, Schmidt RJ 1997. The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs. I. J Ethnopharma 56(2): 103-8.
- Lee JW, Seo KH, Ryu HW, Yuk HJ, Park HA, Lim YR, Ahn KS, Oh SR 2018. Anti-inflammatory effect of stem bark of *Paulownia tomentosa* Steud. in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 macrophages and LPS-induced murine model of acute lung injury. J Ethnopharma 210:23-30.
- Mossman T 1983. Rapid Colorimetric Assay For Cellular Growth And Survival: Application To Proliferation And Cytotoxicity Assays. J Immunol Methods 65:55-63.
- Navrátilová A, Schneiderová K, Veselá D, Hanáková Z, Fontana A, Dall'acqua S, Cvacka J, Innocenti G, Novotná J, Urbanová M, Pelletier J, Cízek A, Zemlicková H, Šmejkal K 2013. Minor C-Geranylated Flavanones From *Paulownia tomentosa* Fruits With Mrsa Antibacterial Activity. Phytochem 89:104-113.
- Navrátilová A, Nešuta O, Vančatová I, Čížek A, Varela-M RE, López-Abán J, Villa-Pulgarin JA, Mollinedo F, Muro A, Žemličková H, Kadlecová D, Šmejkal K 2016. C-Geranylated Flavonoids From *Paulownia tomentosa* Fruits With Antimicrobial Potential And Synergistic Activity With Antibiotics. Pharma Bio 54 (8):1398-1407.
- Popova TP, Baykov BD 2013. Antimicrobial Activity of Aqueous Extracts of Leaves and Silage from *Paulownia elongata*. American J Bio Chem and Pharma Sci 1(2):8-15.
- San Jose Mdel C, Cernadas MJ, Corredoira E 2014. Histology of the regeneration of *Paulownia tomentosa* (Paulowniaceae) by organogenesis. Rev De Bio Tropical 62:809-818.
- Šmejkal K, Chudík S, Klouček P, Marek R, Cvacka J, Urbanová M, Julínek O, Kokoška L, Šlapetová T, Holubová P, Zima A, Dvorská M 2008. Antibacterial C-Geranyl flavonoids from *Paulownia tomentosa* Fruits. J Nat Prod 71:706-709.
- Smejkal K, Holubova P, Zima A, Muselik J, Dvorska M 2007. Antiradical Activity of *Paulownia tomentosa* (Scrophulariaceae) Extracts. Molecules 12:1210-1219.
- Tozyılmaz V, Bülbül AS, Ceylan Y, Armağan M 2020. Antibacterial, antifungal, antibiofilm and antioxidant activities of some endemic plants in Anatolian flora. Fresen Environ Bull 29(6):4338-4346.
- Uğuz Ö 2018. Denizli'de Yetişen *Paulownia tomentosa* Steud'nın Fitokimyasal Profilinin Ve Elektriksel İletkenliğinin Belirlenmesi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 65 s.
- Uğuz Ö, Kara Y 2019. Determination of Antioxidant Potential in the Leaf and Flower of *Paulownia tomentosa*. In J Second Metabolite 6(2):106-112.
- Zima A, Hošek J, Tremel J, Muselik J, Suchý P, Pražanová G, Lopes A, Žemlička M 2010. Antiradical and Cytoprotective Activities of Several C-Geranyl-substituted Flavanones from *Paulownia tomentosa* Fruit, Molecules 15:6035-6049.

## Partial Characterization of Hydrolytic Enzymes Produced by *Bacillus* Strains Isolated from Balıklıgöl, Turkey

Ebru UYAR<sup>1\*</sup>, Cengiz ÇORBACI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Molecular Biology Section, Harran University, Şanlıurfa, Turkey, <sup>2</sup>Faculty of Engineering, Department of Genetics and Bioengineering, Giresun University, Giresun, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-4022-3845>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-8697-0945>

✉: ebruuyar@harran.edu.tr

### ABSTRACT

In the present study, forty-five bacterial isolates were obtained from previously unstudied soil samples in Balıklıgöl, Şanlıurfa. Based on their enzyme production capacities, six bacterial isolates designated as BGL-22, BGL-26, BGL-27, BGL-37, BGL-38 and BGL-39 were selected for further studies. Conventional and molecular identification results showed that the bacteria belonged to *Bacillus* genus. Among these strains, the highest activities for amylase (11.44 U mL<sup>-1</sup>), lipase (1.12 U mL<sup>-1</sup>) and protease (2.61 U mL<sup>-1</sup>) were determined for *Bacillus* sp. BGL-37. Enzymatic characterization studies demonstrated that the activities of acid-stable amylase and alkaline-stable lipase remained unchanged up to 50°C, while alkaline-protease was retained about 90% of its activity up to 40°C. The findings suggested that these enzymes providing environmentally compatible processes under relatively mild conditions have potential to be used in several fields such as food processing and detergent industry.

### Research Article

#### Article History

Received : 12.10.2020

Accepted : 03.12.2020

#### Keywords

*Bacillus* sp.

Extracellular enzymes

Characterization

16S rRNA sequencing

## Balıklıgöl, Türkiye'den İzole Edilen *Bacillus* Suşları Tarafından Üretilen Hidrolitik Enzimlerin Kısmi Karakterizasyonu

### ÖZET

Bu çalışmada, Balıklıgöl, Şanlıurfa'dan elde edilmiş ve daha önceden çalışılmamış toprak örneklerinden kırk beş bakteriyel izolat elde edilmiştir. Enzim üretim kapasitelerine göre bu izolatlar arasında BGL-22, BGL-26, BGL-27, BGL-37, BGL-38 ve BGL-39 olarak isimlendirilen altı bakteriyel izolat ileriki denemeler için seçilmiştir. Konvansiyonel ve moleküler tanılama sonuçları, bu bakterilerin *Bacillus* cinsine dahil olduğunu göstermiştir. Bu suşlar arasında *Bacillus* sp. BGL-37, amilaz (11.44 U mL<sup>-1</sup>), lipaz (1.12 U mL<sup>-1</sup>) ve proteaz (2.61 U mL<sup>-1</sup>) açısından en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Enzimatik karakterizasyon çalışmaları, alkali proteazın 40°C'ye kadar yaklaşık %90 aktivitesini koruduğunu, asit-kararlı amilaz ve alkali-kararlı lipazın ise 50°C'ye kadar aktivitelerinde herhangi bir düşüş yaşanmadan aktivite gösterdiklerini ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, nispeten ılımlı koşullar altında çevresel olarak uyumlu süreçlerin gerçekleşmesini sağlayan bu enzimlerin, gıdaların işlenmesi ve deterjan endüstrisi gibi çeşitli alanlarda kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 12.10.2020

Kabul Tarihi : 03.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

*Bacillus* sp.

Hücre dışı enzimler

Karakterizasyon

16S rRNA dizileme

**To Cite:** Uyar E, Çorbacı C 2021. Partial Characterization of Hydrolytic Enzymes Produced by *Bacillus* Strains Isolated from Balıklıgöl, Turkey. KSU J. Agric Nat 24 (4): 707-714. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.809131.

### INTRODUCTION

Enzymes from microbial origin have been mostly preferred due to the countless advantages that they offer as compared to traditional catalysts. Preventing formation of impurities, reducing overall cost of the products, and performing the reactions under mild conditions were among the superiorities resulting from

chemo-, regio-, and stereo-selectivity of the enzymes (Sanchez and Demain, 2017; Prasad and Roy, 2018). Although the first industrial enzyme production dates back to the late part of 19<sup>th</sup> century, the early processes were based on microbial enzymes from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* demonstrated to be safe and thereby indicating the applicability of these enzymes in multifarious food processes (Rastall, 2007;

Ray and Rosell, 2017; Raveendran et al., 2018). Mostly being hydrolytic in action, commercial microbial enzymes serve versatile areas such as food, detergent, leather, agriculture, feed, and textile industries. Thus, the market for industrial enzymes is predicted to reach from \$5.01 billion in 2016 to \$6.32 billion in 2021 (Chapman et al., 2018). Amylase, lipase and protease constitute the largest market share within industrial enzymes.

For over 500 biotechnological substances, at present, are industrially produced by microbial enzymes. Notwithstanding, some insufficiencies of the enzymes such as low tolerance to solvents or activity lost under extreme temperature and pH conditions restrict the yield of industrial processes which in turn results in an increase in the product cost (Adrio and Demain, 2014; Sanchez and Demain, 2017). Thus, search for the novel enzymes that match specific requirements of the relevant industrial processes will undoubtedly remain an important research topic in the future. Microorganisms, especially bacteria and fungus, are the largest sources of industrial enzymes. Among the bacteria, members of *Bacillus* genus possess varied biochemical pathways and thereby are able to synthesize enzymes as well as other secondary metabolites. High growth rates that shorten production times, extracellular secretion capability of the proteins into the fermentation media, and their long history in industrial use along with the knowledge of their biochemistry and genetics make these bacteria favorable for the synthesis of various biotechnological products (Schallmey et al., 2004; Parrado et al., 2014). Therefore, they continue to be dominant bacterial workhorses in numerous medical, pharmaceutical and agricultural processes.

The aim of this study was to isolate novel *Bacillus* strains capable of producing amylase, lipase and protease with biotechnological importance. To the best of the knowledge, this is the first study investigating the extracellular enzyme production potential of indigenous bacteria from terrestrial areas of Balıklıgöl. Following successive bacterial isolation and screening steps, six bacterial strains identified as *Bacillus* sp. by conventional and molecular identification techniques were selected for comparison of enzyme production. Moreover, partial characterization of the enzymes showing the highest production activities from the best producing strain was performed.

## MATERIALS and METHODS

### Samples and isolation of bacteria

To select potential extracellular enzyme producing *Bacillus* isolates, soil samples aseptically collected from various locations of Balıklıgöl-Şanlıurfa were exposed to heat treatment at 80°C for 10 min to eliminate vegetative form of any kind of bacterial species. Serially diluted soil samples in sterile 0.85%

(w/v) physiological saline solution were spread on Nutrient Agar (NA) plates to allow the germination of remaining spores in order to form vegetative colonies. Morphologically different colonies were chosen and purified by consecutive streaking several times on NA plates. Pure bacterial cultures were stocked in 20% (v/v) glycerol at -80°C.

### Screening for enzyme production

Bacterial isolates were scored for enzyme production by spotting onto NA plates including the following components per L of distilled water: peptone, 5.0 g; beef extract, 1.5 g; yeast extract, 1.5 g; NaCl, 5.0 g; agar, 15.0 g. For screening of amylolytic, lipolytic and proteolytic activities, NA plates were supplemented with soluble starch (0.5%, w/v), tributyrin (1%, v/v), and skim milk (10%, w/v), respectively. All plates were incubated at 37°C for 2 days before the measurements of hydrolysis zones. Amylase activities were visualized by flooding with Lugol's solution, comprised of iodine (I<sub>2</sub>) and potassium iodide (KI).

### Morphological and biochemical identification of bacteria

The isolates were initially subjected to morphological examination as well as Gram and endospore staining. The Gram-positive, spore forming, rod-shaped bacilli were then subjected to additional identification tests. For the genus level identification, biochemical tests were performed as described in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Bergey and Holt, 1994).

### Molecular identification and phylogenetic analysis of bacteria

DNA isolation was performed from pure cultures grown overnight in Luria-Bertani (LB) medium using the PureLink Genomic DNA kit (Invitrogen, USA). By using universal primer pair 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') and 1492R (5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'), 16S rRNA genes were amplified by TrueStart Hot Start Taq DNA polymerase (Thermo Scientific, USA) under the following PCR conditions: DNA polymerase activation at 95°C for 2 min, denaturation at 95°C for 30 sec, annealing at 60°C for 30 sec, and extension at 72°C for 90 sec was repeated for 35 cycles and the reaction was terminated with the final extension at 72°C for 7 min. After which the PCR amplicons were purified, sequencing analysis of the fragments was carried out by ABI 3130XL automated sequencer (Applied Biosystems, USA). Comparisons of the sequences were performed by the BLAST search at the NCBI database. The sequences for 16S rRNA genes of all six newly isolated bacteria were deposited in GenBank under the Accession numbers MH647664 to MH647669.

The evolutionary distances of 16S rRNA regions of the



bacteria were computed using the p-distance method (Nei and Kumar, 2000) and phylogenetic analysis was inferred by using the Neighbor-Joining method (Saitou and Nei, 1987) in MEGA 7 (Kumar et al., 2016). The confidence values were obtained from the bootstrap analysis using 1000 replicates are presented next to the branches (Felsenstein, 1985).

### Production of hydrolytic enzymes

The extracellular productions of amylase, lipase and protease were carried out by using submerged fermentation (SmF) in amylase medium (g L<sup>-1</sup>: soluble starch, 10.0; yeast extract, 3.0; peptone, 5.0; NaCl, 3.0; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.5) (Deljou and Arezi, 2016); lipase medium (g L<sup>-1</sup>: tributyrin, 10.0; yeast extract, 5.0; peptone, 5.0; NaCl, 0.5; CaCl<sub>2</sub>, 0.05; Tween 80, 5.0) (Kumar et al., 2005); and protease medium (g L<sup>-1</sup>: D-glucose, 10.0; yeast extract, 5.0; peptone, 5.0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.0; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.2) (Mehrotra et al., 1999), respectively. 50 mL of the production media buffered with phosphate buffer (pH 7.0) in Erlenmeyer flasks were inoculated with one mL of overnight cultures of the bacterial strains and incubated at 37°C for 3 days on a rotary shaker at 150 rpm. After the incubation, crude enzyme solutions were obtained by centrifuging the production media at 8000 rpm and 4°C for 10 min.

### Enzyme assays

For amylase, the analysis was performed by using the dinitrosalicylic acid (DNS) method (Rick and Stegbauer, 1974). 500 µL of the enzyme solution and 500 µL of 1% soluble starch were incubated at 37°C for 15 min. Then, one mL of DNS reagent was pipetted, and the tube was incubated in boiling water for 5 min. After cooling at room temperature, it was diluted up to 10 mL with distilled water. The absorbance was measured spectrophotometrically in a microplate reader (BioRad iMark, USA) at 546 nm. A unit of amylase was defined as the amount of enzyme catalyzing the hydrolysis of soluble starch to one µmol of maltose per mL per min under assay conditions.

The lipase activity was analyzed by quantifying the release of p-nitrophenol from p-nitrophenyl palmitate (pNPP) according to the slightly modified method by Rapp and Backhaus (1992). The enzyme solution (500 µL) was added to 750 µL pNPP solution and incubated at 37°C for 15 min. By adding 100 µL of 1 M sodium carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) into the tube, the reaction was terminated and then re-incubated at 37°C for 15 min. The absorbance of the filtrate was measured at 415 nm using a microplate reader. A unit of lipase activity was expressed as the amount of the enzyme that releases one µmol of p-nitrophenol from pNPP per mL per min under assay conditions.

The protease activity was determined using Sigma's universal protease assay with minor modifications. 320 µL of the enzyme solution was mixed with 800 µL

of 0.65% casein solution. After 15 min incubation at 37°C, the reaction was terminated by pipetting 800 µL of 0.11 M trichloroacetic acid (TCA) solution. The tube was allowed to stand at 37°C for 30 min. Then, 500 µL of the filtrate obtained by centrifuging at 8000 rpm, 1.25 mL of 0.5 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solution and 250 µL of Folin-Ciocalteu reagent (1:4 dilution) were mixed, and the mixture was incubated at 37°C for 30 min. The absorbance was read at 655 nm by a microplate reader. A unit of protease activity was expressed as the amount of the enzyme that catalyzes the hydrolysis of casein to one µmol of tyrosine per mL per min under assay conditions.

### Estimation of protein content

Protein concentrations in the crude extracts were quantified by using Bradford reagent (Bradford, 1976) and bovine serum albumin was used as a standard.

### Effects of pH and temperature on enzyme activity and stability

The optimum pH values for the enzymes were determined with soluble starch, casein and pNPP as substrates, dissolved in 50 mM of different buffers (citrate-phosphate, pH 5.0 and 6.0; phosphate, pH 7.0 and 8.0; glycine-NaOH, pH 9.0 and 10.0). The effect of pH on stability was investigated by incubating the enzyme solution without substrate at varied pH conditions ranging from 3.0 to 10.0 adjusted with 0.2 M HCl or 1 M NaOH for 2 h at 37°C.

The effect of temperature on enzyme activity was evaluated by performing the analysis procedure within a temperature range of 30-60°C in 50 mM phosphate buffer (pH 8.0) containing substrate solutions as described above. Thermostability was assessed by incubating the enzyme solution at different temperatures varied from 20 to 70°C for 2 h.

### Statistical analysis

All tests in the study were analyzed triple and the findings were presented as the mean of three independent experiments.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Screening of bacteria producing hydrolytic enzymes

For evaluation of enzyme production, forty-five bacteria were isolated from soil samples collected from Balıklıgöl. Preliminary screening for amylase, lipase and protease were carried out on agar plates including starch, tributyrin and skim milk, respectively. Among the isolates, the bacteria designated as BGL-39 (17 mm), BGL-26 (13 mm) and BGL-37 (27 mm) exhibited the highest clearing zones for amylase, lipase and protease, respectively (Table 1).

Table 1. Hydrolysis zones formed on the agar plates including starch, tributyrin and skim milk individually for screening of hydrolytic enzymes

*Çizelge 1. Hidrolitik enzimlerin taranması için nişasta, tributirin ve yağsız sütü ayrı ayrı içeren agar petrilerinde oluşan hidroliz zonları*

Strain no.	Hydrolysis zones (mm)		
	Amylase	Lipase	Protease
BGL-22	2	10	20
BGL-26	6	13	24
BGL-27	14	4	25
BGL-37	12	9	27
BGL-38	8	9	14
BGL-39	17	2	14

The isolates showing an ability to produce all three enzymes, including strains BGL-26, BGL-37 and BGL-39, were selected for conventional and molecular identification studies.

### Phenotypic characterization of potential enzyme-producing bacteria

Morphological identification results demonstrated that all isolates were Gram-positive, spore forming rod shaped bacteria. Biochemical tests including motility, citrate hydrolysis, Voges-Proskauer (VP), Methyl Red (MR), indole production, oxidase, urease, catalase, starch and gelatin hydrolysis, nitrate reduction, glucose fermentation and production of H<sub>2</sub>S were performed for genus level identification of the bacterial isolates. The results were summarized in Table 2. Although some biochemical test results were different among the bacterial isolates, it was determined that the isolates belonged to the *Bacillus* genus.

Table 2. Morphological and biochemical characteristics of bacteria

*Çizelge 2. Bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal karakteristikleri*

Characteristics	Strain no.					
	BGL-22	BGL-26	BGL-27	BGL-37	BGL-38	BGL-39
Gram's reaction	+	+	+	+	+	+
Morphology	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Spore formation	+	+	+	+	+	+
Motility	+	+	+	+	+	+
Indole production	-	-	-	-	-	-
Methyl red	-	-	-	-	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+
Citrate utilization	+	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+
Oxidase	-	-	-	-	-	+
Urease	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S production	-	-	-	-	-	-
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+	+
Gelatin hydrolysis	+	+	+	+	+	+
Glucose fermentation	+	+	+	+	+	+

### Molecular identification and phylogenetic analysis of bacteria

To gain further insight on the bacterial identification, a molecular technique whose reliability is more than that of conventional identification, was also used. 16S rRNA regions of the isolates were amplified using 27F/1492R primer pair and the amplification yielded a single PCR product ranging from 1429 to 1392 bp. The BLASTN tool-based assignment of all isolates against the NCBI database found out that the selected bacteria belonged to the *Bacillus* genus with 100% homology. Phylogenetic tree constructed with Neighbor-Joining method also showed that newly isolated *Bacillus* strains share close relationships with other members of *Bacillus* genus (Figure 1). Despite occasional inconsistencies between conventional and molecular identification techniques, the identification results we obtained supported each other.

### Production and characterization of hydrolytic enzymes

Extracellular production of the enzymes was investigated using SmF in media buffered at pH 7.0 and the findings were presented in Table 3. Briefly, the enzymes from strain BGL-37 showed the highest activities for the production conditions tested. On the other hand, for amylase and protease, the highest specific activities were obtained by strains BGL-38 (82.00 U mg<sup>-1</sup>) and BGL-27 (23.27 U mg<sup>-1</sup>) respectively due to the low amounts of total proteins expressed. Compared to the findings with other results in the literature, we found that strain BGL-37 was a good producer of the hydrolytic enzymes (Divakaran et al., 2011; Jamrath et al., 2012; Sharma et al., 2014) and therefore, the enzymes from this strain were selected for further studies for determining the influences of pH and temperature on activity and stability.

The optimal pH and temperature conditions for strain BGL-37 amylase were pH 7.0 and 37°C (Figure 2). The enzyme displayed the highest stability at acidic pHs, followed by neutral and alkaline values. The enzyme showed over 95% of its relative activity for 2 h at 37°C in acidic conditions while it was found to be stable approximately 80% of the activity at alkaline pH values (Figure 2a). The enzyme remained nearly 100%

stable up to 50°C. After that temperature, the enzyme activity rapidly decreased. However, the enzyme still showed 66% of its activity at 70°C (Figure 2b).

Compared to the stability of strain BGL-37 amylase with results in literature, we observed that amylase from this study had greater pH and temperature stability (Mahdavi et al., 2010; Dahiya and Rathi,

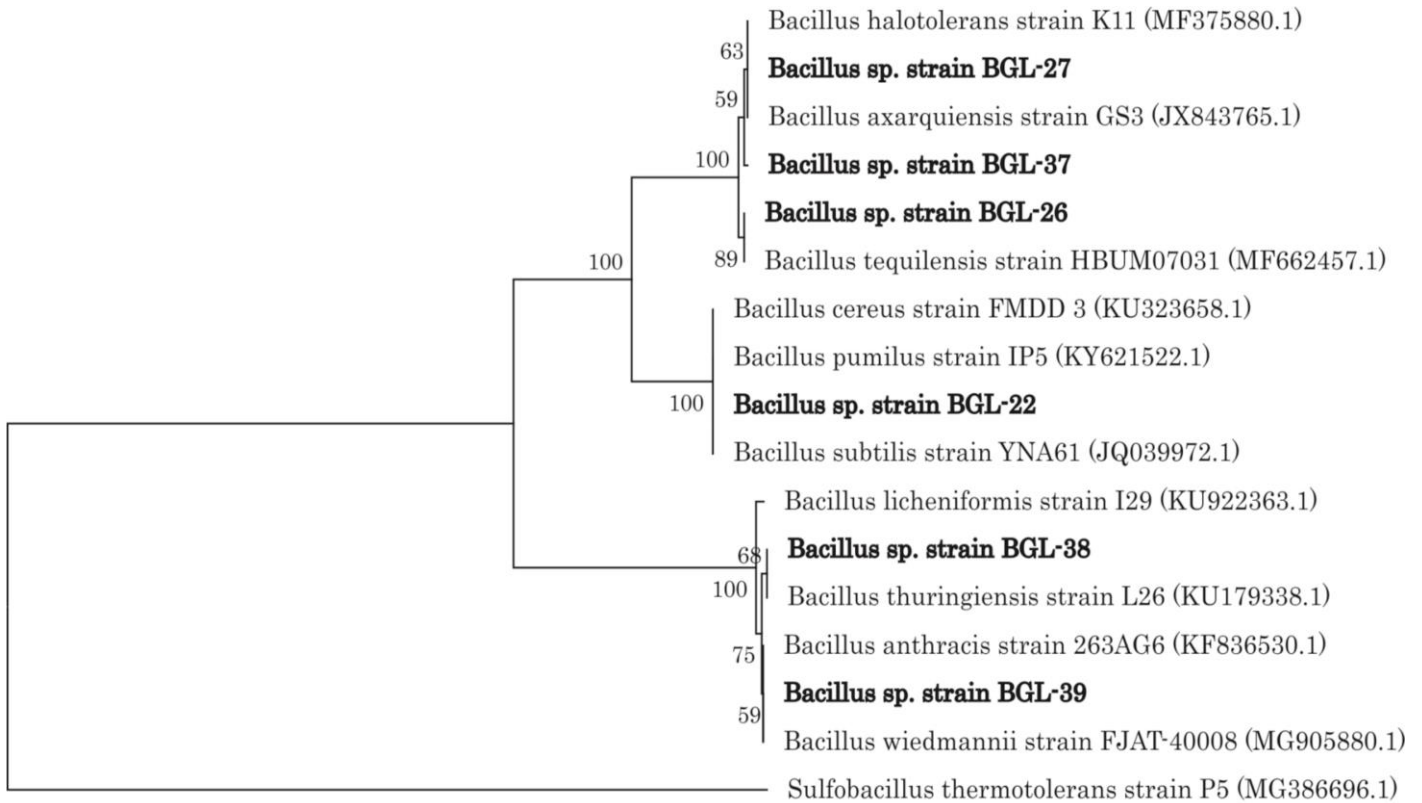


Figure 1. Phylogenetic tree constructed based on 16S rRNA of bacterial strains and closely related species. *Sulfolobacillus thermotolerans* was used as an out-group taxon. Bootstrap percentages are shown at branch points

Şekil 1. Bakteri suşları ve yakın türlerin 16S rRNA'larına göre oluşturulmuş filogenetik ağaç. Out-group takson olarak *Sulfolobacillus thermotolerans* kullanılmıştır. Bootstrap yüzdeleri, dal noktalarında gösterilmiştir

Table 3. Extracellular production of hydrolytic enzymes by *Bacillus* sp. strains (values represent mean of three experimental results)

Çizelge 3. *Bacillus* sp. suşları tarafından hidrolitik enzimlerin hücre dışı üretimi (değerler üç deneysel sonucun ortalamasını temsil etmektedir)

Strain no.	Enzymes								
	Amylase			Lipase			Protease		
	Activity (U mL <sup>-1</sup> )	Total protein (mg mL <sup>-1</sup> )	Specific activity (U mg <sup>-1</sup> )	Activity (U mL <sup>-1</sup> )	Total protein (mg mL <sup>-1</sup> )	Specific activity (U mg <sup>-1</sup> )	Activity (U mL <sup>-1</sup> )	Total protein (mg mL <sup>-1</sup> )	Specific activity (U mg <sup>-1</sup> )
BGL-22	0.92	0.05	18.40	0.16	0.08	2.00	2.13	0.18	11.83
BGL-26	11.13	0.23	48.39	0.58	0.10	5.80	1.97	0.27	7.30
BGL-27	6.17	0.18	34.28	1.04	0.17	6.12	2.56	0.11	23.27
BGL-37	11.44	0.14	81.71	1.12	0.11	10.18	2.61	0.12	21.75
BGL-38	3.28	0.04	82.00	0.24	0.11	2.18	0.67	0.12	5.58
BGL-39	1.61	0.13	12.38	0.54	0.10	5.40	0.67	0.03	22.33



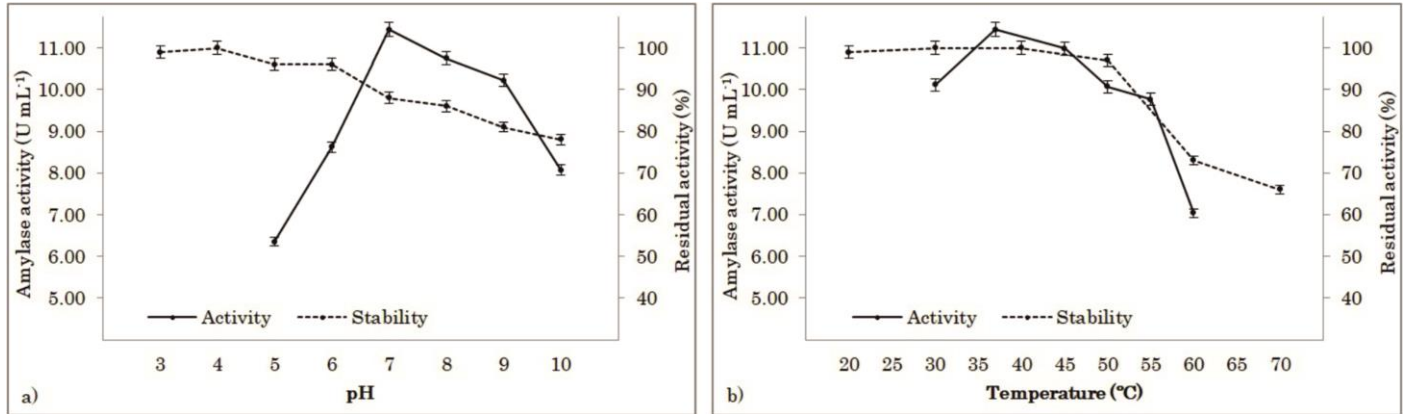


Figure 2. Effects of pH (a) and temperature (b) on activity and stability of amylase produced by strain BGL-37. Bars represent standard errors of means, n=3

Şekil 2. pH (a) ve sıcaklığın (b) BGL-37 suşu tarafından üretilen amilaz aktivitesi ve stabilitesi üzerine etkileri. Barlar standart hataların ortalamalarını temsil etmektedir, n=3

2015). Mahdavi et al. (2010) aimed to characterize an  $\alpha$ -amylase from acid-neutralizing *Bacillus cereus* and investigated its thermal stability. Although the enzyme remained stable more than 80% at 60°C for 1 h, complete inactivation was detected after incubation at 70°C for 25 min. In another study, Dahiya and Rathi (2015) studied an alkaline amylase for application as a detergent additive from *B. licheniformis* MTCC1483. The researchers indicated that about 80% of the original activity of the amylase remained relatively stable for 45 min at 40°C at varied pH values from 6.0 to 10.0. However, the enzyme lost nearly 50% of its relative activity at pH 10.0 for 1 h. As a result of thermo-acid-stable properties, amylase from strain BGL-37 has potential usage in baking, fruit juice processing and starch liquefaction.

Lipase from strain BGL-37 showed activity at the pH values ranging from 5.0 to 10.0, and the optimal activity was observed in alkaline condition at pH 8.0 (Figure 3a). Further increasing or decreasing in the pH value of the solution reduced the enzyme activity dramatically. The enzyme remained stable 69% at pH

3.0, and its stability increased as pH value increased. It was found to be stable 100% at pH 10.0. BGL-37 lipase was optimally active at 37°C (Figure 3b). Below or above this temperature, the activity rapidly decreased. As stated for strain BGL-37 amylase, the lipase enzyme retained 100% of its activity up to 50°C and its relative stability decreased with increasing temperature. Even so, it was stable more than 60% at 70°C for 2 h. Compared to other lipases in literature, strain BGL-37 lipase showed higher pH and temperature stability. For instance, in a study, Saraswat et al. (2017) investigated a thermotolerant alkaline lipase from *Bacillus* sp. and found that the lipase remained stable more than 85% of its relative activity at pH 8.0 while over 60% at pH 6.0, 7.0 and 9.0. According to these results, the researchers indicated that this enzyme could be used in the leather industry and detergent formulation. The authors also studied the thermostability of the enzyme, and 40% of the lipase activity was observed at 50°C, while this rate decreased to about 20% at 55 and 60°C.

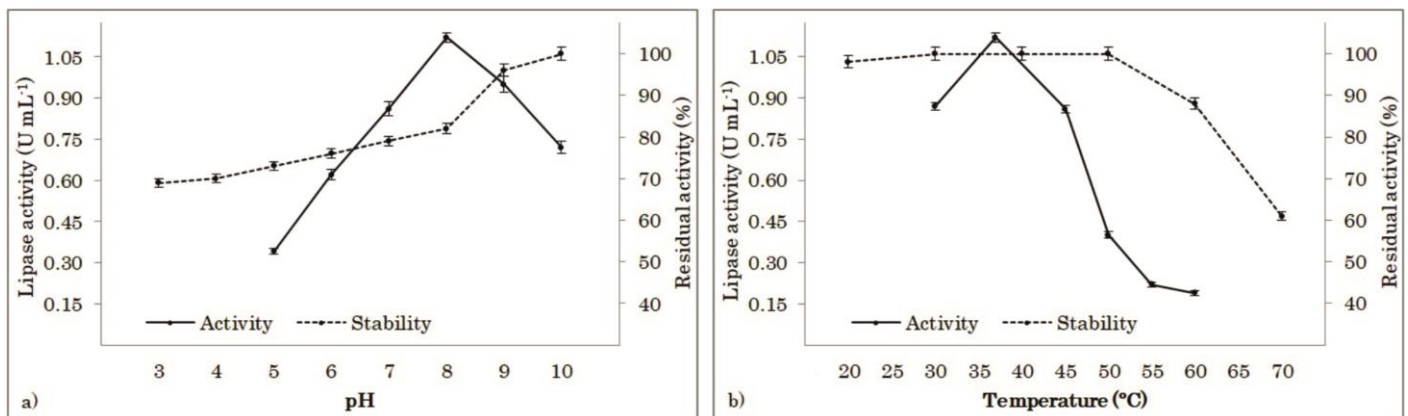


Figure 3. Effects of pH (a) and temperature (b) on activity and stability of lipase produced by strain BGL-37. Bars represent standard errors of means, n=3

Şekil 3. pH (a) ve sıcaklığın (b) BGL-37 suşu tarafından üretilen lipaz aktivitesi ve stabilitesi üzerine etkileri. Barlar standart hataların ortalamalarını temsil etmektedir, n=3

In another study, Sharma et al. (2002) studied an alkaline and thermostable lipase from *Bacillus* sp. RSJ-1 and revealed that the enzyme remained stable nearly 40% of its relative activity at 70°C for 2 h. Considering the lipase activity of strain BGL-37 in a wide range of pH and temperature, the enzyme might have a potential application in enhancement of cheese ripening or enzyme modified cheese processes. Protease from strain BGL-37 showed its highest activity at pH 8.0, followed by at pH 7.0 and 9.0 (Figure 4a). Unlike many other proteases studied before, the enzyme was able to preserve over 90% of its activity at the pH conditions tested. The protease showed its maximal activity at 37°C followed by at 45 and 30°C and remained stable nearly 90% up to 40°C. Above this temperature, the stability decreased sharply and 31% of the activity was observed at 70°C for 2 h (Figure 4b). In several studies, researchers obtained alkaline and thermotolerant proteases from different *Bacillus*

strains and investigated their pH and thermal stability (El Hadj-Ali et al., 2007; Bhunia et al., 2011; Gomaa, 2013; Yilmaz et al., 2016). The stability of BGL-37 protease was at a comparable level to those of above-mentioned enzymes, even in some cases protease from this study had higher pH stability and thermostability. For example, the alkaline protease from *Bacillus pumilus* ATCC7061 retained about 80% of its activity at pH 8.0 and 9.0 for 1 h at 40°C (Gomaa, 2013) although protease from strain BGL-37 remained stable over 90% at all tested pH values. In the study conducted by El Hadj-Ali et al. (2007), a detergent stable protease from *B. licheniformis* NH1 showed no activity at 70°C regardless of presence or absence of CaCl<sub>2</sub>, while strain BGL-37 protease remained stable more than 30% of its activity. Consequently, strain BGL-37 protease might be used as flavor enhancing agent in food products due to its alkali tolerance.

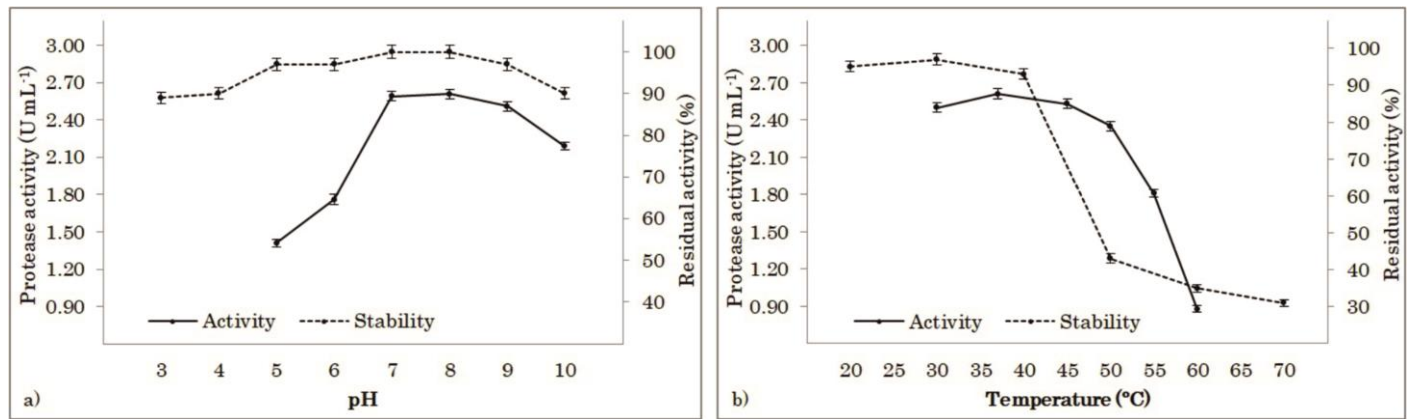


Figure 4. Effects of pH (a) and temperature (b) on activity and stability of protease produced by strain BGL-37. Bars represent standard errors of means, n=3

Şekil 4. pH (a) ve sıcaklığın (b) BGL-37 suşu tarafından üretilen proteaz aktivitesi ve stabilitesi üzerine etkileri. Barlar standart hataların ortalamalarını temsil etmektedir, n=3

## CONCLUSIONS

Industrial enzyme market will continue to grow steadily for improved outcomes such as environmental sustainability and efficiencies in biotechnological processes. Needless to say, interest in microorganisms capable of producing compatible enzymes that can meet all the requirements of a specific biotechnological process will increase. The majority of the enzymes produced by biotechnology companies over the world are originated from *Bacillus* species. Thus, we focused on the *Bacillus* members from the local environments to evaluate the production potentials for extracellular enzymes including amylase, lipase and protease. To isolate novel *Bacillus* species, we selected terrestrial areas of Balıklıgöl which has not been studied before. Partial characterization studies indicating that all three enzymes produced by the novel *Bacillus* strains were alkali-tolerant and fully functional at 40°C suggest that these enzymes are good prospect for their potential substitution especially in food and detergent

industries. When considering the ease of genetic manipulation, *Bacillus* sp. BGL-37 might be used as a source for evaluation of possible modification of these enzymes offering a better alternative in different greener industrial processes not only by energy saving but also reducing hazardous substances/wastes.

## Acknowledgment

This study was supported by the Scientific Research Unit of Harran University (Project No: HUBAK-12007).

## Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

## Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

## REFERENCES

Adrio JL, Demain AL 2014. Microbial enzymes: tools

- for biotechnological processes. *Biomolecules* 4: 117-139.
- Bergey DH, Holt JG 1994. *Bergey's manual of determinative microbiology*, 9<sup>th</sup> edn. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Bhunja B, Dutta D, Chaudhur S 2011. Extracellular alkaline protease from *Bacillus licheniformis* NCIM-2042: improving enzyme activity assay and characterization. *Eng Life Sci* 11: 207-215.
- Bradford MM 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
- Chapman J, Ismail AE, Dinu CZ 2018. Industrial applications of enzymes: recent advances, techniques, and outlooks. *Catalysts* 8: 238.
- Dahiya P, Rathi B 2015. Characterization and application of alkaline  $\alpha$ -amylase from *Bacillus licheniformis* MTCC1483 as a detergent additive. *Int Food Res J* 22: 1293-1297.
- Deljou A, Arezi I 2016. Production of thermostable extracellular  $\alpha$ -amylase by a moderate thermophilic *Bacillus licheniformis*-AZ2 isolated from Qinarje Hot spring (Ardebil prov. of Iran). *Period Biol* 118: 405-416.
- Divakaran D, Chandran A, Chandran P 2011. Comparative study on production of  $\alpha$ -amylase from *Bacillus licheniformis* strains. *Braz J Microbiol* 42: 1397-1404.
- El Hadj-Ali N, Agrebi R, Ghorbel-Frikha B, Sellami-Kamoun A, Kanoun S, Nasri M 2007. Biochemical and molecular characterization of a detergent stable alkaline serine-protease from a newly isolated *Bacillus licheniformis* NH1. *Enzyme Microb Technol* 40: 515-523.
- Felsenstein J 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Gomaa EZ 2013. Optimization and characterization of alkaline protease and carboxymethyl-cellulase produced by *Bacillus pumilus* grown on *Ficus nitida* wastes. *Braz J Microbiol* 44: 529-537.
- Jamrath T, Lindner C, Popovic MK, Bajpai R 2012. Production of amylases and proteases by *Bacillus caldolyticus* from food industry wastes. *Food Technol Biotech* 50: 355-361.
- Kumar S, Kikon K, Upadhyay A, Kanwar SS, Gupta R 2005. Production, purification, and characterization of lipase from thermophilic and alkaliphilic *Bacillus coagulans* BTS-3. *Protein Expr Purif* 41: 38-44.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol* 33: 1870-1874.
- Mahdavi A, Sajedi, RH, Rassa M, Jafarian V 2010. Characterization of an  $\alpha$ -amylase with broad temperature activity from an acid-neutralizing *Bacillus cereus* strain. *Iran J Biotechnol* 8: 103-111.
- Mehrotra S, Pandey PK, Gaur R, Darmwa NS 1999. The production of alkaline protease by a *Bacillus* species isolate. *Bioresour Technol* 67: 201-203.
- Nei M, Kumar S 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Parrado J, Rodriguez-Morgado B, Tejada M, Hernandez T, Garcia C 2014. Proteomic analysis of enzyme production by *Bacillus licheniformis* using different feather wastes as the sole fermentation media. *Enzyme Microb Technol* 57: 1-7.
- Prasad S, Roy I 2018. Converting enzymes into tools of industrial importance. *Recent Pat Biotechnol* 12: 33-56.
- Rapp P, Backhaus S 1992. Formation of extracellular lipases by filamentous fungi, yeasts, and bacteria. *Enzyme Microb Technol* 14: 938-943.
- Rastall R 2007. *Novel enzyme technology for food applications*. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Raveendran S, Parameswaran B, Ummalyma SB, Abraham A, Mathew AK, Madhavan A, Rebello S, Pandey A 2018. Applications of microbial enzymes in food industry. *Food Technol Biotech* 56: 16-30.
- Ray RC, Rosell CM 2017. *Microbial enzyme technology in food applications*. CRC Press, Boca Raton.
- Rick W, Stegbauer HP 1974.  $\alpha$ -amylase measurement of reducing group (Methods of enzymatic analysis, Academic Press, New York: Ed. Bergmeyer HU) 885-890.
- Saitou N, Nei M 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4: 406-425.
- Sanchez S, Demain A 2017. Useful microbial enzymes- an introduction (Biotechnology of microbial enzymes: production, biocatalysis and industrial applications, Elsevier Academic Press, Amsterdam: Ed. Brahmachari G, Demain AL, Adrio JL) 1-11.
- Saraswat R, Verma V, Sistla S, Bhushan I 2017. Evaluation of alkali and thermotolerant lipase from an indigenous isolated *Bacillus* strain for detergent formulation. *Electron J Biotechnol* 30: 33-38.
- Schallmey M, Singh A, Ward OP 2004. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. *Can J Microbiol* 50: 1-7.
- Sharma D, Kumbhar BK, Verma AK, Tewari L 2014. Optimization of critical growth parameters for enhancing extracellular lipase production by alkalophilic *Bacillus* sp. *Biocatal Agric Biotechnol* 3: 205-211.
- Sharma R, Soni SK, Vohra RM, Gupta LK, Gupta JK 2002. Purification and characterization of a thermostable alkaline lipase from a new thermophilic *Bacillus* sp. RSJ-1. *Process Biochem* 37: 1075-1084.
- Yilmaz B, Baltaci MO, Sisecioglu M, Adiguzel A 2016. Thermotolerant alkaline protease enzyme from *Bacillus licheniformis* A10: purification, characterization, effects of surfactants and organic solvents. *J Enzyme Inhib Med Chem* 31: 1241-1247.



## Determination of Antimicrobial, Antioxidant and Antibiofilm Activity of Some *Alyssum* L. Species in Anatolian Flora

Vedat TOZYILMAZ<sup>1</sup>, Yusuf CEYLAN<sup>2</sup>, Ali Savaş BÜLBÜL<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Bartın University, Institute of Science, Department of Biology, Bartın, TURKEY, <sup>2</sup>Bartın University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Bartın, TURKEY, <sup>3</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Science and Letters, Department of Biology, Kahramanmaraş, TURKEY

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-0799-0089>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-8186-7252>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-2200-7348>

✉: asavasbulbul@gmail.com

### ABSTRACT

The *Alyssum* L. genus which is spread in the Eastern Mediterranean is known by the public as 'Rabid weed' or 'Kevke'. Many of these species are seen as a way to prevent disasters such as erosion, both due to drought resistance and low soil selectivity. Also *Alyssum* known as 'Tooth weed', it has been used to reduce tooth sore, bladder stones and spasm. In this study, in order to examine antibacterial and antifungal activities, extracts obtained from three naturally growing plants (*Alyssum caricum* T.R.Dudley and Hub.-Mor., *Alyssum discolor* T.R.Dudley and Hub.-Mor. and *Alyssum sibiricum* Willd.) in Turkey were examined on seventeen bacteria and two fungal strains by disc diffusion method. In addition, antimicrobial activity was supported by the Minimum Inhibition Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) method. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method was used to investigate the antioxidant activities of plant extracts, and crystal violet binding method was used to prevent biofilm formation. As a result, *A. caricum* ethanol extract showed the best effects in antimicrobial activities. None of plants were effective against fungi. *A. sibiricum* shows the best activity in antibiofilm activity and *A. caricum* was showed the best result in antioxidant activity.

### Araştırma Makalesi

### Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 21.10.2020

Kabul Tarihi : 03.12.2020

### Anahtar Kelimeler

*Alyssum discolor*

*Alyssum caricum*

*Alyssum sibiricum*

Antimicrobial activity

Antioxidant

## Anadolu Florasına Ait Bazı *Alyssum* L. Türlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antibiyofilm Aktivitesinin Belirlenmesi

### ÖZET

Doğu Akdeniz'de yayılış gösteren *Alyssum* L. cinsi, halk tarafından 'Kuduz otu' veya 'Kevke' olarak bilinir. *Alyssum* türlerinin çoğu kuraklığa karşı dayanıklı olması ve toprak seçimlerinin olmaması sebebi ile erozyon gibi felaketleri önlemede önemlidir. Ayrıca *Alyssum* diş otu olarak bilinmekte olup diş ağrılarında, spazm ve mesane taşlarını düşürmede kullanılan bir bitkidir. Bu çalışmada, antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri incelemek için ülkemizde doğal olarak yetişen üç bitkiden (*Alyssum caricum* T.R.Dudley ve Hub.-Mor., *Alyssum discolor* T.R.Dudley ve Hub.-Mor. ve *Alyssum sibiricum* Willd.) elde edilen ekstraktlar, disk difüzyon yöntemi ile on yedi bakteri ve iki mantar suşu üzerinde incelenmiştir. Ayrıca, antimikrobiyal aktivite Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBC) yöntemi ile desteklenmiştir. Bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini araştırmak için DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi, biyofilm oluşumunu önlemek için ise kristal viyole bağlama yöntemi kullanılmıştır. Sonuç olarak, antimikrobiyal çalışmada en iyi sonucu *A. caricum* etanol ekstraktı gösterdi. Bitkilerin hiçbiri funguslara karşı etki gösteremedi. Antibiyofilm çalışmada en iyi sonucu *A. sibiricum* gösterirken antioksidan çalışmada ise en iyi aktiviteyi *A. caricum* ekstraktı gösterdiği tespit edildi.

### Research Article

### Article History

Received : 21.10.2020

Accepted : 03.12.2020

### Keywords

*Alyssum discolor*

*Alyssum caricum*

*Alyssum sibiricum*

Antimikrobiyal aktivite

Antioksidant

**To Cite :** Tozyılmaz V, Ceylan Y, Bülbül AS 2021. Determination of Antimicrobial, Antioxidant and Antibiofilm Activity of Some *Alyssum* L. Species in Anatolian Flora. KSU J. Agric Nat 24 (4): 715-724. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.814167.

## INTRODUCTION

Turkey, Asia, Europe and Africa are rich areas in terms of plant flora due to their location. Generally plant species are abundant in phyto-geographical areas such as Iran-Turanian, Euro-Siberian and Mediterranean (Bülbül et al., 2018). Some Medicinal plants are used to treat living being and have active substances obtained from their certain parts (Yaldiz and Kulak, 2014). Previous studies by World Health Organization (WHO) indicated that there were about 20.000 medicinal plants (Ulgen et al., 2020). The plants used in treatment have attracted the attention of microbiologists over time and studies on the antimicrobial activities of plants have begun to intensify (Erdogru, 2002; Altuner and Çetin, 2018; Bülbül et al., 2018). Medicines obtained from plants are used in the treatment of diseases caused by microorganisms. In research on plants, by determining the chemical composition of plants and dosage level of treatment of diseases depends on the resolution of the antimicrobial mechanism (Erdoğan and Everest, 2012). Antimicrobial research was accelerated with the discovery of penicillin and antibiotics was started to be produced from microorganisms (Shinji, 1993; Iwu et al., 1999).

Biofilms are microorganism communities where bacteria live on a damp surface and live-in harmony with each other in the extracellular matrix (Ceyhan, 2008). Organic molecules like proteins, have a role in the binding of bacteria to the surface. Furthermore, some of them lead to biofilm formation in the presence of extracellular polymeric structure (Tozyılmaz et al., 2020). The biofilm community can be found in many suitable areas such as wood, glass, tissue, plastic (Kokare et al., 2009). Microorganisms provide to communicate with chemical signals after they are attached to a surface (Taga and Bassler, 2003; March and Bentley, 2004). With the formation of biofilms, resistance of bacteria against antibiotics started to increase and researchers righted to find new alternative methods against antibiotic resistance of bacteria (Ceyhan, 2008). It is very important for scientists to work on the characterization of new antimicrobial agents in order to eliminate bacteria resistant to antimicrobial agents used for commercial purposes (Altuner et al., 2018).

Brassicaceae family is ranked on the top for the United States with a total 616 species. including 148 endemic species, while Turkey is ranked the second with a total 606 species, including 226 endemic species (Al-Shehbaz et al., 2007; Mutlu, 2012). While the family contains cultural products such as radish, cabbage, cress and mustard it also contains ornamental plants such as gillyflower, venus (Couvreur et al., 2010).

Belonging to Brassicaceae family, *Alyssum* L. genus is among the largest with consisting of 107 species and subspecies for flora of Turkey (Babaoğlu et al., 2006). Brassicaceae family is rich in antioxidant compounds, including polyphenols, owing to its beneficial health effects, and contains medically important components in terms of showing anticancer and antioxidant activities (Cartea, 2011). Therefore, directly consuming products or vegetables that contain important health-related ingredients provides protection against many common diseases (Duthie et al., 2000; Pandey and Rizvi, 2009; Avato and Argentieri, 2015).

The aim of this study was to contribute to the literature by obtaining extracts from the above-ground parts of the *A. caricum*, *A. discolor* and *A. sibiricum* in Anatolian flora and examining their antibacterial, antifungal, antibiofilm activities and antioxidant capacities on 17 different bacteria and 2 different fungus strains. It was aimed to provide guidance in the medical and industrial plants used in the flora of Turkey as well as in the world.

## MATERIAL and METHOD

### Plant Material

*Alyssum caricum* T.R. Dudley and Hub.-Mor., *Alyssum discolor* T.R. Dudley an Hub.-Mor. and *Alyssum sibiricum* Willd. plants which are grown naturally in Turkey and used in this study, collected by Metin Armağan from various locations of Anatolia. A list of taxa and full voucher data is provided in Table 1. The above-ground parts of the plants were washed in tap water and dried in a cool and moisture-free condition and made ready for grinding.

### Extraction

Soxhlet device was used for extraction. Aboveground parts of all *Alyssum* species were crushed by means of liquid nitrogen and ground. Each milled plant sample and solvent were placed in the soxhlet device. Extraction was performed at 55°C for 8 hours. At the end of the period, the plant extract dissolved in ethanol was kept in the evaporator for 30 minutes at 40°C to remove it from the solvent. The plant extract dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) and made ready for use.

### Determination Antimicrobial Activity

#### Test microorganisms and culture medium

In order to investigate the antibacterial and antifungal activities of the plant extracts prepared after extraction process, seventeen bacteria (*Salmonella kentucky*, *Salmonella enteritidis* ATCC 13075, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus*

*epidermidis* DSMZ 20044, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Bacillus subtilis* DSMZ 1971, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus durans*, *Pseudomonas aeruginosa* DSMZ 50071, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*) and two fungi

(*Candida albicans* DSMZ 1386, *Candida albicans*) strains were activated on Luria-Bertani (LB) broth medium. Furthermore, LB broth medium was also used for minimum inhibition concentration (MIC) determination. Nutrient Agar (NA) was used for the development of bacterial strains and minimum bactericidal concentration (MBC), while Sabouraud Dextrose Agar (SDA) was used for fungi development.

Table 1. Collection data of *Alyssum L.* species.  
Tablo 1. *Alyssum L.* türlerinin toplanma verileri.

Collector Number	Taxon	Gps	Altitude (m)	Collection Date	Habitat	Phytogeographic Region	Localities
A. 7356	<i>A. caricum</i>	36° 59' 32.4"N 28° 39' 15.3"E	7	2017	Rocky area	Eastern mediterranean	Muğla: Köyceğiz, west of Toparlar
A. 7443	<i>A. discolor</i>	36° 52' 25.8"N 28° 16' 29.6"E	81	2017	Step	Eastern mediterranean endemic	Muğla: Marmaris, Beldibi neighborhood, Muğla highway exit
A. 7353	<i>A. sibiricum</i>	37° 12' 53.1"N 28° 23' 4.3"E	736	2017	Rocky area	-----	Muğla: Karşıyakaneighborhood Center,

#### Determination of disc diffusion method

Disk diffusion susceptibility test of Kirby and Bauer was used to determine the antibacterial activities of plant extracts (Dağcı and Dığrak, 2005). The dry extracts of the plants were dissolved in DMSO and three different concentrations (200 mg/ml, 100 mg/ml and 50 mg/ml) were prepared under sterile conditions. The prepared concentrations were absorbed into sterile discs. Furthermore, Tetracycline (TE 30) standard antibiotic disk was used for positive control. The test microorganisms were activated in LB broth medium for 16-18 hours and prepared a dilution of  $1.5 \times 10^8$  cell/ml with 0.5 McFarland turbidity. Microorganisms were cultured in the sterile petri dishes involved NA agar for bacteria and SDA agar for fungi. After a while, discs with extract placed in petri dishes properly. Bacteria were incubated at 37°C for 16-18 hours and fungi were incubated at 25°C for 24-48 hours and the end of time, zones diameters of the inhibitions around the discs were measured. This study was replicated three times for each of the three plants and the arithmetic mean of the results were measured in millimeters.

#### Determination minimum inhibition concentration (MIC)

The MIC values of the extracts were determined using the Microwell Dilution method specified by Sahin et al. (2003). Microorganisms were grown according to McFarland 0.5 turbidity. Sterile LB broth was added into all wells and 200 mg/mL plant extracts were

diluted in an equal volume (200-6,25 mg/ml) and added into all wells. In addition, seventeen of different strains of microorganisms were inoculated in each well. Moreover, positive and negative control wells were prepared were comparison of absorbance values and control of the medium. Finally, microplates were incubated at 37 ° C for 16 hours, and the absorbance values of the samples were evaluated by measuring against the positive control at 600 nm in the spectrophotometer to determine the lowest concentration that the plant extracts inhibit the microorganism.

#### Determination minimum bactericidal concentration (MBC)

After obtaining the MIC results, MBC results were obtained against bacterial strains of plant extracts In the MIC results, wells that bacteria could not reproduce were determined. Samples taken from these wells cultivated on NA and incubated during for 18-24 hours at 37°C.

#### Determination Antibiofilm Activity

Biofilms means the community living in a polysaccharide layer on the surface where microorganisms adhere (Tozyılmaz and Bulbul, 2018). Antibiofilm activities the prepared were determined using the method described by Atalan et al. (2020). Firstly, after the MIC results obtained in antimicrobial activity, the bacterial solutions in the microplate were incubated for an additional 24 hours at 37°C. After the



incubation, the microplate wells were completely drained, washed with distilled water and allowed to dry at room temperature. Then, 130 µl of 95% methanol was added to the wells and left for 15 minutes. At the end of the time, the wells were emptied and allowed to dry. Following by this, 125 µl of a 0.1% crystal violet solution was placed in the wells and allowed to incubated at room temperature for 10 minutes. Then microplate was washed again with distilled water and allowed to dry. It was placed in 33% glacial acetic acid solution for gram positive bacteria and 95% ethanol solution for gram negative bacteria and incubated under room conditions for 15 minutes. At the end of the period, microplates were measured at 600 nm on a spectrophotometer. All these procedures were also performed for the positive control and the percentage reduction of biofilm inhibition was calculated by comparing the data obtained from the positive control in the evaluation of the antibiofilm activity of the plant extracts against bacteria.

% Decrease:  $(1 - (T/C)) \times 100$  was made according to the formula. According to this formula;

C: Positive control

T: Test

#### Determination of Antioxidant Activity

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) is a commercially produced nitrogen radical (Huang et al., 2005). DPPH method is frequently used to measure the antioxidant activity of extracts obtained from nature (Mot et al., 2011). The DPPH radical sweep stage used in the study was carried out according to the method of Blois (Blois, 1958). Dilute concentrations of plant extracts (12.5-0.39mg/ml) and diluted concentrations of ascorbic acid solution (12.5-0.39 mg/ml) were mixed well by adding 1/4 of 0.1 mM DPPH solution. 1/4 of 0.1 mM DPPH solution and ethanol was added for the sample control. Then, the absorbance values were measured with a spectrophotometer at a wavelength of 517 nm for 30 minutes under dark room conditions. The standard material (ascorbic acid) used and the DPPH solution were prepared daily. The DPPH radical scavenging activity of extracts and standard substance concentrations was calculated by the following formula;

% DPPH scavenging activity:  $((C-T)/C) \times 100$  was made according to the formula. According to this formula;

C: Control absorbance

T: Test absorbance

Concentrations of standard substances and plant extracts that inhibition the DPPH radical by 50% are defined as EC<sub>50</sub> (Effective Concentration). Three parallel repetitions of each concentration were made plotted graphs according to the measurement results.

## RESULT

### Disk Diffusion Results

In Table 2 shows the antimicrobial activities of *Alyssum* species and standard antibiotics studied by disc diffusion method. Accordingly, determined it does not show inhibition zone against the strains *B. subtilis* DSMZ 1971, *C. albicans*, *C. albicans* DSMZ 1386, *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. faecalis* ATCC 29212, *L. monocytogenes* and *P. fluorescens* which at three concentrations (200, 100 and 50 mg/ml) for three plant species.

### MIC and MBC Results

According to the MIC and MBC results shown in Table 3, it was observed that three plant extracts at the specified concentrations showed antimicrobial activity against 17 applied strains of bacteria.

*Alyssum caricum* extract had a minimum inhibitory effect against *E. coli* ATCC 25922 bacterial strains (MIC), while a minimum inhibitory effect against other bacterial strains at a concentration of 100 mg/ml. In addition, *A. caricum* extract was found to have the lowest bactericidal concentration that inhibits bacterial strains at a concentration of 100 mg/ml and 200 mg/ml. *Alyssum discolor* extract showed minimal inhibition against the *Listeria innocua* bacterial strain at a concentration of 100 mg/ml, while it showed a minimal inhibitory effect at the other bacterial strains at a concentration of 50 mg/ml (Figure 1). In addition, It was also found that extract had the lowest bactericidal concentration, which inhibited all bacterial strains at a concentration of 100 mg/ml. *Alyssum sibiricum* extract shows minimum inhibition against *E. durans*, *E. faecium*, *K. pneumoniae*, *P. fluorescens* bacterial strains at a concentration of 100 mg/ml, while it showed minimum inhibitory effect against other bacterial strains at a concentration of 50 mg/ml. In addition, at concentration 200 mg/ml, *A. sibiricum* extract showed the lowest bactericidal concentration that inhibited *P. aeruginosa* DSMZ 50071 and *E. durans* bacterial strains, while 50 mg/ml against *B. subtilis* DSMZ 1971 and *E. aerogenes* ATCC 13048 bacterial strains and it was found to have the lowest bactericidal concentration at 100 mg/ml against other microorganisms.

### Antibiofilm Results

The effects of three plant extracts on biofilm formation of test microorganisms were investigated, as shown in Table 4. Accordingly, it was determined that *Alyssum caricum* extract at 50 mg/ml concentration inhibited biofilm formation of *Enterococcus faecium* and *Pseudomonas aeruginosa* DSMZ 50071 strains by 12,6% but did not inhibit biofilm formation of other bacterial strains. Similarly, when the effects of *Alyssum discolor* extract on the biofilm formation of

the test microorganisms were examined, no antibiofilm activity was observed against the bacteria tested in all three concentrations. When antibiofilm activity of *Alyssum sibiricum* extract was tested against test microorganisms, it was observed that biofilm formation was usually inhibited at concentrations of

100 mg/ml and 50 mg/ml. However, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 observed no antibiofilm activity at all three concentrations against *Enterobacter faecium* and *Listeria monocytogenes* bacterial strains.

Table 2. Antimicrobial zone measurements (mm) of *Alyssum* L. species.

Tablo 2. *Alyssum* L. türlerinin antimikrobiyal zon ölçümleri (mm).

Species	<i>Alyssum caricum</i>			<i>Alyssum discolor</i>			<i>Alyssum sibiricum</i>			(+) Control
Microorganisms	200	100	50	200	100	50	200	100	50	TE30 mg/ml
<i>B. subtilis</i> DSMZ 1971	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14
<i>C. albicans</i> DSMZ 1386	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17
<i>E. durans</i>	4	2	2	-	-	-	-	-	-	16
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15
<i>E. faecium</i>	4	-	-	-	-	-	7.6	7	6.3	20
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	6.3	-	-	-	-	-	-	-	19
<i>K. pneumoniae</i>	2.3	-	6.6	4	4	4	-	-	-	16
<i>L. innocua</i>	7	6.6	7	-	-	-	-	-	-	16
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23
<i>P. aeruginosa</i> DSMZ 50071	6	2	6	-	-	-	-	-	-	16
<i>P. fluorescens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13075	2	6.6	2	14	10	9.6	7	6.3	-	23
<i>Salmonella infantis</i>	6.6	6.6	4.3	4.6	6	4	-	-	-	10
<i>S. kentucky</i>	4	-	-	-	-	-	-	-	-	15
<i>S. typhimurium</i>	6.6	6.6	7	-	-	-	-	-	-	14
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	7.3	6	2	-	-	-	-	-	-	25
<i>S. epidermidis</i> DSMZ 20044	7.3	7	6.6	-	-	-	-	-	-	18

(-): No inhibition.

ATCC: American Type Culture Collection.

DSMZ: German Cell Culture and Microorganism Collection.

TE: Tetracycline

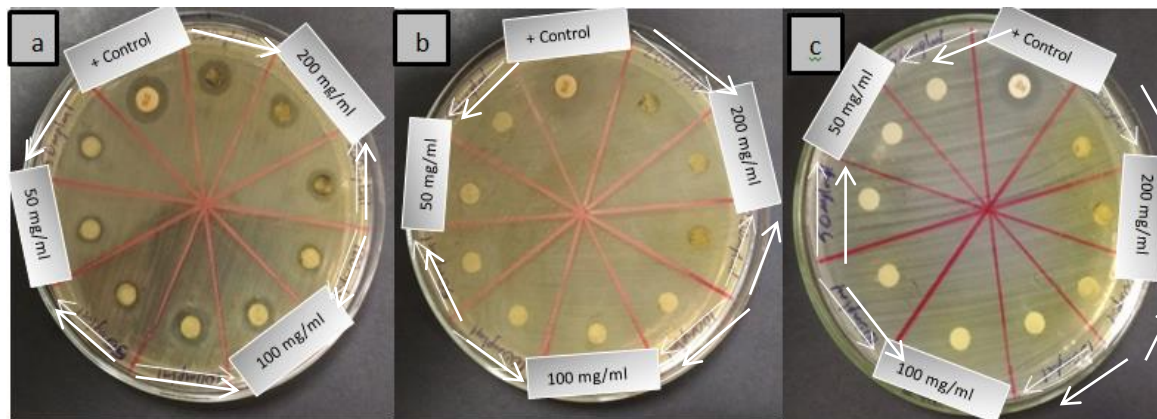


Figure 1. Antimicrobial activities of *Alyssum* species against the tested microorganisms at concentrations of 200, 100 and 50 mg/ml (+ Control: Tetracycline (TE 30), a: Effect of *A. discolor* extract against *S. Enteritidis* ATCC 13075 strain, b: Effect of *A. caricum* extract against *L. innocua* strain, c: Effect of *A. sibiricum* extract against *S. enteritidis* ATCC 13075 strain).

Şekil 1. *Alyssum* türlerinin 200, 100 ve 50 mg / ml konsantrasyonlarda test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri (+ Kontrol: Tetrasiklin (TE 30), a: *A. discolor* ekstresinin *S. Enteritidis* ATCC 13075 suşuna etkisi, b : *A. caricum* ekstresinin *L. innocua* suşuna etkisi, c: *A. sibiricum* ekstresinin *S. enteritidis* ATCC 13075 suşuna etkisi).

Table 3. MIC and MBC results of Alyssum L. species (mg/ml).  
 Tablo 3. Alyssum L. türlerinin MIC ve MBC sonuçları (mg / ml).

Species	<i>Alyssum Caricum</i>		<i>Alyssum discolor</i>		<i>Alyssum sibiricum</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Microorganisms						
<i>B. subtilis</i> DSMZ 1971	100	100	50	100	50	50
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	100	200	50	100	50	50
<i>E. durans</i>	100	200	50	100	100	200
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	100	100	50	100	50	100
<i>E. faecium</i>	100	200	50	100	100	100
<i>E. coli</i> ATCC 25922	50	100	50	100	50	100
<i>K. pneumoniae</i>	100	200	50	100	100	100
<i>L. innocua</i>	100	200	100	100	50	100
<i>L. monocytogenes</i>	100	200	50	100	50	100
<i>P.aeruginosa</i> DSMZ 50071	100	100	50	100	50	200
<i>P. fluorescens</i>	100	200	50	100	100	100
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13075	100	200	50	100	50	100
<i>S. infantis</i>	100	100	50	100	50	100
<i>S. kentucky</i>	100	100	50	100	50	100
<i>S. typhimurium</i>	100	100	50	100	50	100
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	100	200	50	100	50	100
<i>S.epidermidis</i> DSMZ 20044	100	200	50	100	50	100

Table 4. Biofilm inhibition (%) of Alyssum species.  
 Tablo 4. Alyssum türlerinin biyofilm inhibisyonu (%).

Species	<i>Alyssum Caricum</i>			<i>Alyssum discolor</i>			<i>Alyssum sibiricum</i>		
	200	100	50	200	100	50	200	100	50
Microorganisms									
<i>B. subtilis</i> DSMZ 1971	-	-	-	-	-	-	-	26.1	23.8
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. durans</i>	-	-	-	-	-	-	15.7	46.4	37.7
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-	-	-	35	34
<i>E. faecium</i>	-	-	12.6	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	26.5	31.6
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	38	41.5
<i>L. innocua</i>	-	-	-	-	-	-	14.1	31.3	36.3
<i>L.monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> DSMZ 50071	-	-	12.6	-	-	-	-	40.4	43.8
<i>P. fluorescens</i>	-	-	-	-	-	-	-	39.3	-
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13075	-	-	-	-	-	-	13	41.5	42.3
<i>S.infantis</i>	-	-	-	-	-	-	16.3	52.4	55.3
<i>S.kentucky</i>	-	-	-	-	-	-	-	24.7	24.7
<i>S.typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-	18.1	47.5	44
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	-	21.8	22.9
<i>S. epidermidis</i> DSMZ 20044	-	-	-	-	-	-	-	39.1	32.6

(-): No biofilm inhibition

### Antioxidant Activity Results

#### DPPH Radical Sweeper Activity Determination

Basen on comparative DPPH radical scavenging activities studies in different concentrations of the *Alyssum* species, three *Alyssum* species showed close antioxidant activity at the compared concentrations (Figure 1). However, plant extracts found to have lower antioxidant activity when compared with ascorbic acid.

*Alyssum* species generally sweep DPPH radical at 1.56 mg/ml, 3.12 mg/ml, 6.25 mg/ml and 12.5 mg/ml (Figure 2). The best results in all concentrations respectively

were; *Alyssum caricum* > *Alyssum sibiricum* > *Alyssum discolor* showed antioxidant activity .

The effective concentration that enables removal of the DPPH radical of 50% of the studied plant extracts is defined as the EC<sub>50</sub> value. The low EC<sub>50</sub> value indicates that the antioxidant activity is high. After DPPH removal percent inhibition values of extracts were determined on the chart, EC<sub>50</sub> values are shown in Table 5.



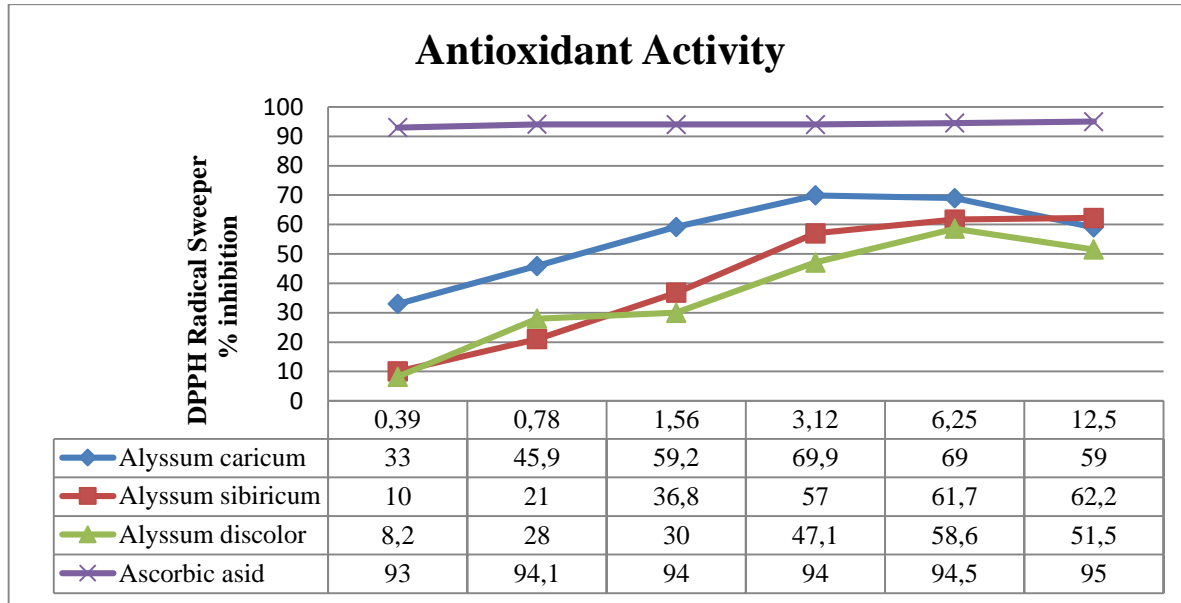


Figure 2. Plant extracts and the activity of the standard substance to sweep the DPPH radical (%)  
Şekil 2. Bitki özleri ve standart maddenin DPPH radikalini süpürme etkinliği (%)

Table 5. Effective concentration (EC<sub>50</sub>) values obtained from DPPH radical removal results of the studied plant extracts and standard substance.

Tablo 5. İncelenen bitki özütleri ve standart maddenin DPPH radikal giderme sonuçlarından elde edilen etkin konsantrasyon (EC<sub>50</sub>) değerleri.

Plant Species	EC <sub>50</sub> Values
<i>A. caricum</i>	1.08
<i>A. sibiricum</i>	3.63
<i>A. discolor</i>	5.72
Ascorbic acid	--

## DISCUSSION

Benli et al. (2007) investigated antimicrobial activities against *E. faecalis* ATCC 29212, *B. subtilis*, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* 845981 strains in their study on six endemic plant species. *Alyssum pateri* subsp. *pateri* (seed) extract was observed to show no antimicrobial activity against any strain. Kumar et al. (2017) found that the ethanol and methanol extracts of *Camelina sativa* (Brassicaceae) which is from the same family as *Alyssum* L. plant showed a good antimicrobial effect against *Trichoderma reesei*, *Tilletia indica* and *Phanerochaete chrysosporium* strains.

Tozyılmaz and Bülbül (2018), reported their antimicrobial activities against some microorganisms with disc diffusion, MIC and MBC method against methanol extract from *Alyssum corsicum* and *Alyssum caricum* plants at 50 mg/ml concentration and observed that plant extracts showed low activity on microorganisms. *A. corsicum* extract showed the best

effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Enterococcus faecium* strain, while *A. caricum* extract was showed the best activity against *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Enterococcus faecium* and *Salmonella infantis*.

In this study, *Alyssum caricum* extract showed the best results against *Staphylococcus* strains. It was determined that the MIC of the extract was 100 mg/ml against most bacteria and the MBC value was 200 mg/ml. Although *Alyssum discolor* ethanol extract showed low activity against *S. infantis*, *K. pneumoniae* and *L. innocua* strains, it was found that it showed good antimicrobial activity against *S. enteritidis* ATCC 13075 strain and also no antimicrobial activity against other microorganisms. It was also observed that the extract had a MIC value of 50 mg/ml and a MBC value of 100 mg/ml against most bacteria.

*Alyssum sibiricum* extract was also unable to show antimicrobial activity against any of the other test bacteria except for *Enterococcus faecium* and *Salmonella enteritidis* ATCC 13075 bacterial strains. It was determined that the MIC of the extract was 50 mg/ml against most bacteria and the MBC value was 100 mg/ml. Since antimicrobial studies related to some species are not sufficient in the literature, comparison has been made with some antimicrobial studies from family belonging to the species. Accordingly, it was observed that the ethanol extracts used in the studies may vary according to the plant species in antimicrobial activities and the effect level is low. In this study, it was found that the plant extract did not affect most bacteria except for a few bacteria mentioned in the evaluation against bacterial strains. It is believed that the antimicrobial effect of *Alyssum*

*discolor* species will be contributed to the literature by repeating in different solvent or different concentrations.

Antioxidant activity methods are frequently used to purify plants directly or indirectly and to determine their biological effect capacities. Therefore, free radical removing methods such as DPPH and ABTS using determine the total antioxidant effect (Gülçin 2006).

Martinez-Sanchez et al. (2008), reported that *Nasturtium officinale* plant belonging to Brassicaceae family is high in flavonoid amount, while *Diplotaxis tenuifolia* (L.) DC. plant high in vitamin C. It was examined that the antioxidant effect of plants with DPPH, FRAP and ABTS methods and polyphenols showed high value in terms of vitamin C content as a result. Akagün (2009), examined the DPPH radical scavenging activity of *Brassica oleracea* var. *gongylodes* (Brassicaceae) plant extract and reported that ethanol extract has antioxidant activity. Consequently, it was determined that ethanol strain.

Extract had 52.4% radical removal activity at a concentration of 750 µg/ml, while was observed 67.5% activity at a concentration of 1000 µg/ml. In this study, *Alyssum discolor* ethanol extract exhibited the highest DPPH removal activity at 6.25 mg/ml with 58.6%, and also it was found that the effective concentration (EC50) value was 5.72 mg/ml. *Alyssum caricum* extract exhibited the highest DPPH removal activity with 69.9% at 3.12 mg / ml and it was found that the effective concentration (EC50) value was 1.08 mg/ml. In addition those, *Alyssum sibiricum* extract exhibited the highest DPPH relieving activity with 62.2% at a concentration of 6.25 mg/ml and it was determined that the effective concentration (EC50) value was 3.63 mg/ml. Also the antioxidant values of all three *Alyssum* extracts were found to be lower than the standard substance. Due to the lack of sufficient resources about the plant species in the literature, studies regarding the family of the plant have been taken into consideration. The antioxidant activity of ethanol extracts from family-owned plants showed close radical scavenging activity although the ethanol extract of the plants used i at different concentrations in this study. Especially, since the good effect of the *Alyssum caricum* species compared to the others, it is necessary to carry out studies that support this study with different antioxidant methods.

Biofilm consists one or more microorganisms coming together and organized and materials that absorb the extracellular matrix of the surface they adhere to and the chemicals that form it (Franklin et al., 2015). Biofilms prevent the antibiotics from infecting bacteria and cause microorganisms to be more resistant to antimicrobial agents (Franklin et al., 2015; Oliveira et al., 2016).

Based on the results of the antibiofilm belonging to

*Alyssum* species, *A. caricum* extract *E. faecium* and *Pseudomonas aeruginosa* DSMZ 50071 strains inhibited biofilm by 12.6%, while *A. sibiricum* extract showed antibiofilm activity against most microorganisms, showed the highest biofilm inhibition against 55.3% *Salmonella infantis* strain at a concentration of 50 mg/ml. However, it was determined that *A. discolor* plant does not show any biofilm inhibition against test bacteria. The antimicrobial, antibiofilm and antioxidant activities of all plants used in the study were studied for the first time and the literature studies of the families belonging to the species were low. Therefore, it can be said that in this study is an original study.

## CONCLUSION

Recently, there is growing interest in medicinal herbal products due to the resistance of microorganisms against artificial drugs used as antimicrobial and the side effects of artificial drugs are high. It is extremely important to investigate the medical plant components which contain antimicrobial agents. Phenolic compounds in the structure of plants play an important role especially in determining antimicrobial activity. It is important to ensure that the active substance is obtained without damage and the appropriate dosage is used for therapeutic use of plants that are rich in the components they contain. In addition, the use of extracts, which are used in the industry to extend food storage times, is increasing day by day. It is predicted that plant extracts will be used more in many industries, especially in the food industry, because the plants are natural and do not leave residue.

Researchers have focused on researching plants that may have natural antioxidant activity instead of artificial antioxidants in terms of human health. So, studies have started to supplement natural antioxidants to be obtained from plants. In diseases such as cancer, it is increasing that foods containing antioxidants are consumed directly and such extracts are being used as preservatives in the foods we consume.

Some plant extracts have antibiofilm properties as well as antimicrobial activity. Biofilm-forming bacteria show higher antimicrobial resistance than non-biofilm-forming bacteria. Biofilm structure bacteria clustering into living or inanimate surfaces as colonies can cause antimicrobial resistance to decrease by extensively producing polymeric components outside the cell. Therefore, in cases where antimicrobial agents are insufficient against biofilm-forming bacteria, new antimicrobial agents and alternative treatment methods are searched. The plants used in the study were shown to have a weak effect in terms of antibiofilm. Plants are thought to can be effective using different solvent and dosage.

### Acknowledgements

This study was supported by Bartın University Scientific Research Office and the project number is 2017-FEN-CY-015 within the scope of the master's thesis research. We thank Prof Dr Handan UCUN ÖZEL for giving permission to use his laboratory at Bartın University Central Research Laboratory Research and Application Centre.

### Conflict of Interests

Authors declare that there is no conflict of interests.

### Author Contribution Rates

The authors declare that they contribute equally to the article.

### REFERENCES

- Akagün G 2009. Alabaş (*Brassica oleracea* var. *gongyloides*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin incelenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek lisans Tezi, 106 sy.
- Al-Shehbaz IA, Mutlu B, Dönmez AA 2007. The Brassicaceae (*Cruciferae*) of Turkey, updated. Turkish Journal of Botany, 31: 327-336.
- Altuner EM, Çeter T, Gür M, Güney K, Kıran B, Akwieten HE, Soulman SI 2018. Chemical composition and antimicrobial activities of cold-pressed oils obtained from nettle, radish and pomegranate seeds. Kastamonu University Journal of Forestry Faculty, 18(3): 236-247.
- Altuner EM, Çetin B 2018. Antimicrobial activity of *Isothecium alopecuroides* and potential effect of some climate elements on the activity of this bryophyte sample. Kastamonu University Journal of Forestry Faculty, 18(2): 126-137.
- Atalan E, Bülbül AS, Ceylan Y 2020. *Cephalaria Syriaca* (L.): Investigation of antimicrobial, antibiofilm, antioxidant potential and seed morphology. Fresenius Environmental Bulletin, 29(5): 3641-3649.
- Avato P, Argentieri MP 2015. Brassicaceae: A rich source of health improving phytochemicals. *Phytochemistry Reviews*, 14(6): 1019-1033.
- Babaoğlu S, Bani B, Açık L, Adıgüzel N 2006. Taxonomic relations among some Turkish serpentine endemic *Alyssum* (Brassicaceae). Fifth International Balkan Botanical Congress, 20-26 June 2006, Sofia.
- Benli M, Bingöl U, Geven F, Güney K, Yigit N 2007. An Investigation on the antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey. African Journal of Biotechnology, 7(1) . 1-5.
- Blois MS 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical, *Nature*, 181(4617): 1199-1200.
- Bülbül AS, Atalan E, Ülgen H, Ceylan KB 2018. The effect of kombucha fermentation on chestnut cancer factor (*Cryphonectria parasitica* (Murrill) E.M Barr). Kastamonu University, Journal of Forestry Faculty, 18(3): 304-313.
- Bülbül AS, Ceylan Y, Armağan M 2018. Investigation of antibacterial and antifungal properties of *Acanthophyllum acerosum* and *Acanthophyllum microcephalum*. Research Journal of Biology Sciences. 11(2): 14-17.
- Cartea ME, Francisco M, Soengas P, Velasco P 2011. Phenolic compounds in *Brassica* vegetables. *Molecules* 16: 251-280.
- Ceyhan N 2008. Klinikte biyofilmlerin önlenmesi için antibiyofilm stratejileri, *Infekt*, 22: 227-240.
- Couvreux TLP, Franzke A, Al-Shehbaz IA, Bakker FT, Koch MA, Mummenhoff K 2010. Molecular phylogenetics, temporal diversification and principles of evolution in the mustard family (Brassicaceae), *Molecular Biology and Evolution*, 27: 55-71.
- Dağcı EK, Dıǧrak M 2005. Bazı meyve ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri. *KSU. J. Sci. and Eng*, 8: 1-8.
- Duthie GG, Duthie SJ, Kyle JAM 2000. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutrition Research Reviews*. 13: 79-106.
- Erdogan AE, Everest A 2012. Antimikrobiyal ajan olarak bitki bileşenleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6(2): 27-32.
- Erdogruol ÖT 2002. Antibacterial activities of some plant extracts used in folk medicine. *Pharmaceutical Biology*, 40(4): 269-273.
- Franklin MJ, Chang C, Akiyama T, Bothner B 2015. New technologies for studying biofilms. *Microbiology spectrum*, 3(4): 1-32.
- Gülçin İ 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3): 213-220.
- Huang D, Ou B, Prior RL 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- Iwu GMW, Duncan AB, Okuuji CO 1999. New Antimicrobials of Plant Origin. ASHS Pres, Alexandria, 457-462
- Kokare CR, Chakraborty S, Khobade AN, Mahadik KR 2009. Biofilms: Importance and Applications. *Indian J Biotechnology*, 8: 159-168.
- Kumar K, Gupta SM, Arya MC, Nasim M 2017. *In vitro* antimicrobial and antioxidant activity of *camelina* seed extracts as potential source of bioactive compounds. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 87(2): 521-526.
- March JC, Bentley WE 2004. Quorum sensing and bacterial cross-talk in biotechnology. *Curr Opin Biotech*, 15(5): 495-502.



- Martinez-Sanchez A, Gil-Izquierdo A, Gil MI, Ferreres F 2008. A comparative study of flavonoid compounds, vitamin C, and antioxidant properties of baby leaf *Brassicaceae* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7): 2330-2340.
- Mutlu B, Karakuş Ş 2012. A new species of *Ornithogalum* (*Hyacinthaceae*) from East Anatolia, Turkey, *Turkish Journal of Biology*, 36: 125-133.
- Oliveira A, Cataneli Pereira V, Pinheiro L, Moraes Riboli DF, Ribeiro de Souza BMK, Cunha M de L 2016. Antimicrobial resistance profile of planktonic and biofilm cells of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *International Journal of Molecular Sciences*. 17 (118): 133-140/ E1423.
- Pandey KB, Rizvi SI 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2: 270-278.
- Shinji M 1993. Research on antibiotic screening in japan over the last decade: a producing microorganism approach. *Actinomycetol*. 7: 100-106.
- Taga ME, Bassler BL 2003. Chemical Communication Among Bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(2): 14549–14554.
- Tozylmaz V, Bulbul AS 2018. Antibacterial effects of *Alyssum* L. against some gram-positive and gram-negative bacteria, *International Symposium Ecology*, 19-23 June 2018, Kastamonu.
- Tozylmaz V, Bulbul AS, Ceylan Y, Armagan M 2020. Antibacterial, antifungal, antibiofilm and antioxidant activities of some endemic plants in Anatolian flora. *Fresenius Environmental Bulletin*, 29(6): 4338-4346.
- Ulgen H, Bulbul AS, Ceylan KB 2020. Investigation of antimicrobial, antibiofilm, antioxidant potential and seed morphology of *Camelina Sativa* L. Crantz. *Fresenius Environmental Bulletin*, 29(7): 5121-5129.
- Yaldiz G, Kulak M 2014. Assessment on adaptation of some selected medicinal and aromatic plants to the northern parts of Turkey: Agricultural and chemical property based evaluation. *Medicinal and Aromatic Plant Research Journal*, 2(3): 50-56.

## The Effect of Sample Amount and Decoction Time on The Phytochemicals and Antioxidant Activities of Decoction Lemon Balm and Sage

Cennet YAMAN<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Yozgat Bozok University, Yozgat, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-2364-8171>

✉: cennet.yaman@bozok.edu.tr

### ABSTRACT

In this study, decoctions (herbal tea) of sage (*Salvia officinalis* L.) and lemon balm (*Melissa officinalis* L.), two of the important medicinal plants, were analysed for antioxidant activity, antioxidants, and minerals (K, Na, Mg, Ca, Fe, Ba, Ag and Ga) were determined in each sage and lemon balm dry leaves as well as decoctions by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). The antioxidant activities of decoctions were evaluated by scavenging activities against 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) radicals, and varied from 19.4 to 109.1 mg trolox equivalent (TE) cup<sup>-1</sup> for DPPH and from 35.0 to 168.0 mg ascorbic acid equivalent (AAE) cup<sup>-1</sup> for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The highest antioxidant activity and antioxidants such as total phenolic, flavonoid and flavanol contents were found in the decoction of lemon balm. The analysed minerals were most efficiently observed in sage decoctions. The study also showed that the best sample amount in terms of the minerals was 3 g for both species, but decoction time was statistically insignificant for sage and 10 min more effective for lemon balm. As a result, it was tried to determine the most appropriate sample amount and decoction time for the decoctions of both species according to the analysed parameters.

### Research Article

#### Article History

Received : 15.10.2020

Accepted : 03.12.2020

#### Keywords

Decoction

*Melissa officinalis*

Mineral

*Salvia officinalis*

Phenolics

## Tıbbi Adaçayı ve Oğul Otu Dekoksiyonlarının Fitokimyasalları ve Antioksidan Aktiviteleri Üzerine Örnek Miktarı ve Dekoksiyon Süresinin Etkisi

### ÖZET

Bu çalışmada, önemli tıbbi bitkilerden olan tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.) ve oğul otu (*Melissa officinalis* L.) dekoksiyonlarının antioksidan aktivitesi ve antioksidantları analiz edilmiştir. Ayrıca bu türlerin yaprak ve dekoksiyonlarındaki mineral içerikleri (K, Na, Mg, Ca, Fe, Ba, Ag and Ga) indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) tarafından tespit edilmiştir. Dekoksiyonların antioksidan aktivitesi 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) radikalleri ile belirlenmiş, DPPH radikalli için 19.4 - 109.1 mg trolox eşdeğeri (TE) / fincan<sup>-1</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikali için 35.0 - 168.0 mg askorbik asit eşdeğeri (AAE) / fincan<sup>-1</sup> arasında değişmiştir. En yüksek antioksidan aktivite ve toplam fenolik, flavonoid ve flavanol gibi antioksidantlar oğul otu dekoksiyonlarından elde edilmiştir. Analiz edilen mineraller en verimli tıbbi adaçayı dekoksiyonlarında gözlenmiştir. Ayrıca mineraller açısından en iyi örnek miktarının her iki tür için 3 g olduğu, ancak dekoksiyon süresinin tıbbi adaçayı için istatistiksel olarak önemsiz ve oğul otu için 10 dk uygulamanın daha etkili olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, analiz edilen parametrelere göre her iki türün dekoksiyonları için en uygun örnek miktarı ve kaynatma süresi belirlemeye çalışılmıştır.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 15.10.2020

Kabul Tarihi : 03.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

Dekoksiyon

*Melissa officinalis*

Mineral

*Salvia officinalis*

Fenolikler

## INTRODUCTION

Natural botanical resources have long been used as therapeutical, disease preventive or refreshment, in many forms of traditional medicine, usually in the form of herbal teas which known also as tisanes (Büyükbalci and El, 2008; Poswal et al., 2019). Herbal teas are infusions or decoctions made from flowers, leaves, roots, seeds or twigs of herbs, spices, or other plants in hot water, usually devoid of caffeine. Since the infusions or decoctions are rich in antioxidants, their consumption is becoming more and more preferred among health-conscious people (Ivanova et al., 2005). They are usually consumed individually or as a mixture of herbs (Guimarães et al., 2011).

Sage (*Salvia officinalis* L.) and lemon balm (*Melissa officinalis* L.), well-known medicinal herbs of Lamiaceae commonly used as herbal tea since very early times, are aromatic plants and are still in wide use today. Although well-established traditional uses of sage and lemon balm include the treatment of various cancers, respiratory and cardiovascular problems, diabetes, and as a memory enhancer, sleeping aid, cardiac tonic, and antidepressant (Walch et al., 2011; Shakeri et al., 2016). Especially, the decoction of lemon balm is consumed due to these ethnopharmacological benefits and other uses in many countries such as Brazil, Greece, Kosova and Turkey (Walch et al., 2011).

The therapeutic properties of sage and lemon balm are generally related to their phytochemical content such as phenolics, flavonoids, triterpenes and volatile compounds as the main active constituents. Most of the polyphenolic compounds consist of rosmarinic acid, quercetin, rutin, caffeic acid, chlorogenic acid and gallic acid in both sage and lemon balm (Ghorbani and Esmaeilzadeh, 2017; Shakeri et al., 2019). These compounds are related to impressive many health benefits, such as antidepressant, improved brain health and support memory, reduce blood sugar levels and cholesterol (Fonteles et al., 2016; Alagawany et al., 2017; Ghorbani and Esmaeilzadeh, 2017; Asadi et al., 2018; Khedher et al., 2018). These are especially due to the high antioxidant and inflammatory activities of these compounds (Nunes et al., 2017; Shinjyo and Green, 2017). Antioxidant compounds help fortify your body's defenses, reducing the harmful effects of free radicals that are related to many diseases (Khansari et al., 2009).

Also, sage and lemon balm herb parts are rich sources of minerals like potassium, sodium, magnesium, calcium and iron. The minerals have many effects on human health. Potassium is an important mineral of cell and body fluids, which helps control heart rate and blood pressure (Nowak et al., 2019). Magnesium acts as a cofactor for many enzymes (Al Alawi et al., 2018). There are many studies on the leaves of these species

and their herbal teas (Arceusz et al., 2013; Herrera et al., 2018). There are no comprehensive reports about the variations in antioxidant activities, antioxidants and minerals of decoctions made from sage and lemon balm prepared with different sample amount and decoction time. Therefore, the aim of this study is to investigate the effect of different sample amounts and decoction time on the antioxidant activities, antioxidants and mineral compositions in decoctions of sage and lemon balm.

## MATERIAL and METHOD

### Plant material

Cultivated and exported populations of the lemon balm (*Melissa officinalis* L) and sage (*Salvia officinalis* L.) species grown in Yalova province of Turkey were used to prepare herbal teas. The fresh leaves of the plants containing thirty individuals of each species were harvested at the end of flowering in 2018, mixed and used to prepare herbal tea.

### Preparation of Decoctions

The fresh leaves of both species were dried and powdered. As indicated in Fig. 1, the decoctions for both species were prepared by adding two different amounts (2g and 3g) in 100 ml of distilled water and heated (heating plate, Mipro MHP Series) until boiling. The mixtures of each amount were left to stand at boiling temperature for two different decoction times (5 min and 10 min) in order to determine the optimum decoction time, and at room temperature until cooled (Guimarães et al., 2011). Each experiment was conducted for 4 replicates. Each decoction obtained was filtered through Whatman filter papers and kept at -20 °C until the analyses. The samples were diluted 1/1 before mineral analysis.

### Analysis of Antioxidant Capacity

The antioxidant capacity was evaluated by DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hydrogen peroxide) radical scavenging activities, according to procedures previously described by the authors (Yaman et al., 2019 and Ruch et al., 1989).

DPPH and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical scavenging activities of decoctions were calculated from the graphs of trolox and ascorbic acid standards, respectively. The results were expressed as equivalents of trolox (TE) cup<sup>-1</sup> (150 ml) and equivalents of ascorbic acid (AAE) cup<sup>-1</sup> of decoction.

### Evaluation of Antioxidants

Total phenolics, flavonoids (Yaman et al., 2019) and flavanol (Quettier-Deleu et al., 2000) in the decoctions of lemon balm and sage were measured following spectrophotometer assays described by the authors.



Total phenolics and flavonoids were calculated using gallic acid and quercetin to obtain the standard curves. The results were expressed as mg gallic acid equivalents (GAE) cup<sup>-1</sup> (150 ml) and mg quercetin equivalent (QE) cup<sup>-1</sup> of decoction sample, respectively, for phenolics and flavonoids. The flavanol content was calculated on the basis of the calibration curve of authentic catechin and the results were expressed as µg catechin equivalent (CE) cup<sup>-1</sup> of decoction sample.

### Analysis of Mineral Content

Method for digestion of the samples as reported by Turksoy et al. (2019) was used to solubilize leave of the sage and lemon balm with a few modifications. 200 mg of samples were weighed and added to microwave Teflon tubes. After adding 5 ml suprapure HNO<sub>3</sub>, 2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 3 ml ultrapure water to the samples, the caps were closed and digested with Microwave Digestion System (Milestone Stat D). The tubes cooled to the room temperature. On the other hand, their herbal tea samples were analyzed directly (without digestion). The digested samples were diluted to 1/1 with distilled water. Appropriately diluted samples were measured by an ICAPQc ICP-MS (Thermo Scientific, USA). The internal standard (Hafnium, Hf) for the minerals was used, and all analyses were performed at least three times. Calibration curves of all tested minerals were

found at least R<sup>2</sup>>0.9918 for all minerals. Determination of the minerals in sage and lemon balm as well as their herbal teas and were analyzed using ICP-MS with the following operating conditions: RF power, 1550 W; RF matching, 1.80 V; carrier gas, 0.97 l min<sup>-1</sup>; spray chamber temperature, 2.7 °C.

### Statistical Analysis

The results were expressed as mean values and standard deviations (±SD). The experiments of total bioactive contents and antioxidant activities were conducted by using one-way analysis of variance (ANOVA). Differences between the means were compared by Duncan's multiple range tests using SPSS (IBM SPSS 20.0 statistical software) computer program. The Pearson correlation analysis (p < 0.05) was used to evaluate the correlation between antioxidant activities and total phenolic contents, as well as minerals of the two species.

## RESULTS and DISCUSSION

### Antioxidant Capacity

The antioxidant capacities of decoctions prepared from sage and lemon balm with different sample amounts and decoction time were evaluated by two different assays: DPPH and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical scavenging activities (Figure 1).

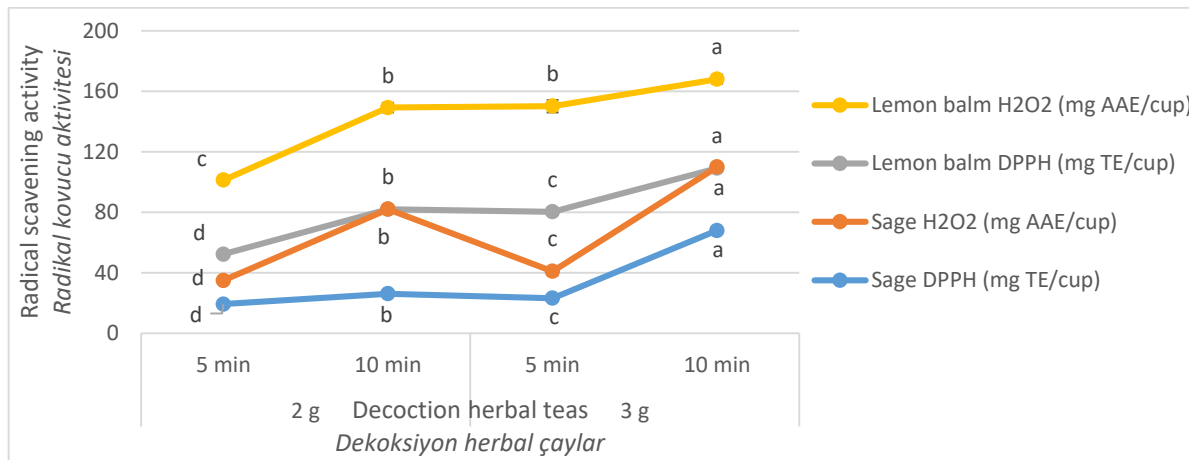


Figure 1. Antioxidant capacities of decoctions obtained from sage and lemon balm prepared with different sample amount and decoction times

Şekil 1. Farklı örnek miktarı ve dekoksasyon süresi ile hazırlanan tıbbi adaçayı ve oğul otu dekoksasyonlarının antioksidan kapasiteleri

Antioxidant activities of the decoctions were ranged from 19.4 to 109.1 mg TE cup<sup>-1</sup> for DPPH, and 35.0 to 168.0 mg AAE cup<sup>-1</sup> for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Among the decoctions of both species, the highest DPPH and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical scavenging activities were observed in the decoctions prepared with 3 g sample amount and 10 min decoction time. In addition, the decoction of lemon balm for both radicals exhibited a very stronger antioxidant activity than the sage decoction. Many researchers reported the similar results on the antioxidant activity of their

teas or extracts of both species (Atanassova et al., 2011; Albayrak et al., 2013; Toydemir et al., 2015).

Sage and lemon balm teas have very strong antioxidant activity because of rich phenolic components (especially, rosmarinic acid) (Lima et al., 2005; Petkova et. al., 2017). Lemon balm contains higher rosmarinic acid than sage (Nicolai et al., 2016). However, previous studies have noticed that some samples with higher rosmarinic acid exhibit no higher antioxidant activity than the samples with lower

content (Nicolai et al., 2016; Petkova et al. 2017). This can be attributed to the presence of other compounds or their synergistic effects that have an important effect on antioxidant activity.

Interestingly, the differences in antioxidant activity between 5 and 10 min decoction times in 2 or 3 g sample amounts of sage were higher than that of 2 and 3 g sample amounts in 5 min or 10 min decoction times. The decoction time was more effective than the sample amount on the antioxidant activity of sage. On the contrary, increasing the amount of sample used for lemon balm was found to be more important on its

antioxidant power.

### Antioxidants

Infusion and decoction of medicinal plants are important sources of polyphenolics in the human diet and for the treatment of diseases as these compounds are among the most widely occurring phytochemicals in plants (Balasundram et al., 2006). Antioxidant compounds such as phenolics, flavonoids and flavonol in decoctions obtained from sage and lemon balm prepared with different sample amounts and decoction times are given in Table 1.

Table 1. Antioxidants of decoctions obtained from sage and lemon balm prepared with different sample amount and decoction times

Çizelge 1. Farklı örnek miktarı ve dekoksasyon süresi ile hazırlanan tıbbi adaçayı ve oğul otu dekoksasyonlarının antioksidantları

The sample amount ( <i>Örnek miktarı</i> )	Treatments ( <i>Uygulamalar</i> )			
	2 g		3 g	
The decoction time ( <i>Dekoksasyon süresi</i> )	5 min ( <i>5 dk</i> )	10 min ( <i>10 dk</i> )	5 min ( <i>5dk</i> )	10 min ( <i>10 dk</i> )
<b>Sage</b>	Abbreviated name of decoction herbal teas			
<b>Tıbbi adaçayı</b>	<i>Dekoksasyon herbal çayların kısaltılmış ismi</i>			
	S1	S2	S3	S4
Total Phenolics (mg GAE cup <sup>-1a</sup> )	81.7±0.05d	106.1±0.26b	92.9±0.25c	191.7±0.18a
<i>Toplam fenolikler (mg GAE/ fincan<sup>-1</sup>)</i>				
Total Flavonoids (mg QE cup <sup>-1</sup> )	18.1±0.20d	25.6±0.07b	22.3±0.34c	55.1±0.95a
<i>Toplam flavanoidler (mg QE/ fincan<sup>-1</sup>)</i>				
Total Flavanol (µg CE cup <sup>-1</sup> )	0.56±0.03b	0.62±0.03b	0.99±0.06a	1.11±0.06a
<i>Toplam flavanol (µg CE/ fincan<sup>-1</sup>)</i>				
<b>Lemon balm</b>	Abbreviated name of decoction herbal teas			
<b>Oğul otu</b>	<i>Dekoksasyon herbal çayların kısaltılmış ismi</i>			
	LB1	LB2	LB3	LB4
Total Phenolics (mg GAE cup <sup>-1a</sup> )	201.8±0.28d	228.6±0.08c	232.1±0.25b	234.6±0.17a
<i>Toplam fenolikler (mg GAE/ fincan<sup>-1</sup>)</i>				
Total Flavonoids (mg QE cup <sup>-1</sup> )	58.9±0.20d	77.3±0.27c	86.6±0.46b	98.2±2.11a
<i>Toplam flavanoidler (mg QE/ fincan<sup>-1</sup>)</i>				
Total Flavanol (µg CE cup <sup>-1</sup> )	1.18±0.06b	1.18±0.04b	1.38±0.02b	1.91±0.13a
<i>Toplam flavanol (µg CE/ fincan<sup>-1</sup>)</i>				

Statistically, each line was evaluated separately and indicated in small letters ( $P<0.01$ )

<sup>a</sup>cup(*fincan*)=150 ml

Clearly, all the decoctions investigated exhibited a generally high total phenolic (81.7 - 234.6 mg GAE cup<sup>-1</sup>), flavonoid (18.1 - 98.2 mg QE cup<sup>-1</sup>) and flavonol contents (0.56 - 1.91 µg CE cup<sup>-1</sup>). All decoctions of lemon balm had higher antioxidants than all decoctions of sage. Similarly, Atanassova et al. (2011) reported that methanolic extract of lemon balm had a higher total phenolic and flavonoids than that of sage. The highest antioxidants for both species were recorded in decoctions prepared with 3 g sample amount and 10 min decoction times.

On the other hand, the lowest antioxidants were recorded in decoction prepared with 2 g sample amount and 5 min decoction times. Similar to the antioxidant activity of decoction samples, the decoction time for sage and the sample amount for lemon balm was remarkably effective on antioxidants.

Polyphenol compounds react with active oxygen radicals such as superoxide anion, hydroxyl and lipid peroxy radicals (Afanasiev et al., 1989; Hussain et al., 1987), therefore, have a broad spectrum of biological activities including radical scavenging properties. The antioxidant capacity measured by DPPH and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

radicals was a highly positive correlation with the polyphenols (except total flavanol) for the decoctions of sage and lemon balm ( $r^2 > 0.891$ ) (Table 2). Total flavanol displayed a high correlation, but lower than other antioxidants ( $0.690 < r^2 < 0.851$ ). Previous studies on sage and lemon balm reported a strong correlation between phenolic content and antioxidant activity (Boneza and Niemeyer, 2018; Albayrak et al., 2013).

### Mineral content in leaves and decoctions of sage and lemon balm

The knowledge of minerals in plants or traditionally used plant teas is essential for knowing their nutritional importance, considering the vital role of minerals in the human health. The composition of macrominerals (K, Mg, Ca, Na) and microminerals (Fe, Ba, Ga, Ag) in leaves and their decoctions of sage and

lemon balm are detailed in Table 3.

Table 2. Correlation between antioxidant activity and antioxidants of sage and lemon balm decoctions

Çizelge 2. Tıbbi adaçayı ve oğul otu dekoksasyonlarının antioksidantları ve antioksidan aktiviteleri arasındaki korelasyon

Antioxidants <i>Antioksidantlar</i>	Sage <i>Tıbbi adaçayı</i>		Lemon balm <i>Oğul otu</i>	
	DPPH	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	DPPH	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
T. phenolic <i>T. fenolik</i>	0.997	0.999	0.891	0.980
T. flavonoid <i>T. flavonoid</i>	0.998	0.998	0.960	0.959
T. flavanol <i>T. flavanol</i>	0.719	0.700	0.851	0.691

Table 3. The concentrations of major (ppm) and minor (ppb) minerals in leaves and their decoctions of sage and lemon balm

Çizelge 3. Tıbbi adaçayı ve oğul otu'nun yaprakları ve onların dekoksasyonlarındaki major (ppm) ve minor (ppb) minerallerin konsantrasyonları

Minerals ( <i>Mineraller</i> )		K	Ca	Mg	Na	Fe	Ba	Ga	Ag
		ppm (mg kg <sup>-1</sup> )						ppb (µg kg <sup>-1</sup> )	
Leaves <i>Yapraklar</i>	Sage <i>Tıbbi adaçayı</i>	34171.2**	10731.3**	2935.9**	430.0**	428.7	9.8**	4.69	3.00
	Lemon balm <i>Oğul otu</i>	18718.4	8456.3	2166.5	60.8	435.4	2.4	4.61	2.86
	<i>p</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.602	<0.01	0.703	0.085
Decoctions (Average) <i>Dekoksasyonlar</i> ( <i>Ortalama</i> )		ppm (mg l <sup>-1</sup> )						ppb (µg l <sup>-1</sup> )	
	Sage <i>Tıbbi adaçayı</i>	469.80	69.28	306.89**	77.25**	4.36	0.95**	1.61	0.20
	Lemon balm <i>Oğul otu</i>	429.09	60.60	167.67	56.67	4.41	0.32	1.37	0.20
	<i>p</i>	0.248	0.194	<0.01	<0.01	0.921	<0.01	0.081	0.929

$p < 0.01$ . \*\*;  $p < 0.05$ . \*

As can be seen from Table 3, K is the major element detected in sage and lemon balm leaves as reported in Pytlakowska et al. (2012) and in their decoction with 469.80 and 429.09 mg l<sup>-1</sup>, respectively. Özcan et al. (2008) noted that lemon balm had higher K content in its decoction than that of many medicinal plants such as *Sideritis* spp., *Salvia fruticosa*, and *Rosmarinus officinalis*.

In spite of the high Ca content of leaves of both plants, Ca content reported to decoction was very low (69.28 mg l<sup>-1</sup> for sage and 60.60 mg l<sup>-1</sup> for lemon balm). The Ca content in decoction sage and lemon balm is more higher than that in infusion and decoction of *Fragaria vesca*'s wild roots (3.65 and 3.24 mg 100 ml<sup>-1</sup>, respectively) (Dias et al., 2015) and in infusions and decoctions from stems and flowers of *Crithmum maritimum* L. (2.93-4.13 mg 200 ml<sup>-1</sup>), but it is lower than the decoction of *C. maritimum* leaves (19.9 mg

200 ml<sup>-1</sup>) (Pereira et al., 2017).

In terms of macromineral content, Mg in leaves of both plants after K and Ca minerals were detected with noticeable amounts, followed by Na and Fe. However, the contents of Ag and Ga were detected as trace and toxic elements in the decoction of both plants. Interestingly, the Mg contents in the decoction of sage and lemon balm (306.89 and 167.67 mg l<sup>-1</sup>, respectively) are higher than that in the herbal teas from stems, leaves, flowers of *Crithmum maritimum* L. (1.69-55.5 mg 200 ml<sup>-1</sup>) (Pereira et al., 2017) and in decoctions of *Fragaria vesca* L. (2.32-7.30 mg/100ml). Özcan et al (2008) reported that herbal tea of lemon balm (20.11 mg 100 ml<sup>-1</sup>) had higher Mg content than *Salvia fruticosa*, *Rosa canina*, *Camelia sinensis* (black tea), *Coriandrum sativum*, *Matricaria chamomilla*, *Sideritis* spp., *Artemisia dracunculus*, *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum*, and lower than



*Rosmarinus officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Thymbra spicata*, *Casia angustifolia*, *Urtica dioica*. Ca in leaves of both plants was the mineral with the highest content after K whereas it was less than the Mg content in the decoction.

The analyzed minerals had a higher concentration in sage leaves than in lemon leaves except for Fe. Chizzola (2012) reported that Fe content in leaves of lemon balm was higher than that of sage. On the contrary, the decoction of sage had a lower concentration of analysed minerals than the decoction of lemon balm. Sage was found to accumulate the minerals better than lemon balm, also the concentrations of the minerals in the decoction of sage were higher than lemon balm except for Fe.

Although the concentrations of minerals in sage leaves are higher, no statistical difference was found between the concentrations of K and Ca minerals in decoction samples of both species. This indicated that there was a greater transition amount of those minerals from lemon balm leaves to decoction samples than sage.

Recommended dietary intakes of minerals were 4500–4700 mg day<sup>-1</sup> for K, 1200–1500 mg day<sup>-1</sup> for Na, 1000–1300 mg day<sup>-1</sup> for Ca, 240–420 mg day<sup>-1</sup> for Mg, 8–18 mg day<sup>-1</sup> for Fe (Ross et al., 2011). In general, people take in less mineral than the recommended daily amount. For example, the average dietary Ca intake in most societies is between 500 and 800 mg day<sup>-1</sup> (Wimalawansa et al., 2018). Thus the herbal teas are likely to be a significant source of dietary minerals.

When effects of the sample amount and decoction time on minerals in decoctions are examined (Table 4), it could be inferred that the application of a sample amount of 3 g significantly affects the mineral concentration in decoction of sage and lemon balm than 2 g application. Although, the decoction time had no statistically significant effect on mineral content in sage decoctions, the 10 min decoction time exhibited a higher effect on the concentration of minerals in the decoction of lemon balm than the 5 min duration.

Table 4. The effect of sample amount and infusion time on concentrations of minerals in decoctions of sage and lemon balm

Çizelge 4. Tıbbi adaçayı ve oğul otu dekoksiyonları içindeki minerallerin konsantrasyonları üzerine örnek miktarı ve dekoksiyon süresinin etkileri

Minerals ( <i>Mineraller</i> )		Sage ( <i>Tıbbi adaçayı</i> )							
		K	Ca	Mg	Na	Fe	Ba	Ga	Ag
		ppm (mg l <sup>-1</sup> )							
Sample amount	Infusion time								
<i>Örnek miktarı</i>	<i>Dekoksiyon süresi</i>								
2 g		419.19	58.61	264.08	75.27	3.61	0.82	1.41	0.33
3 g		520.42	79.96**	349.69**	79.23	5.11**	1.08**	1.8*	0.07*
<i>p</i>		0.13	<0.01	<0.01	0.568	<0.01	<0.01	0.023	0.039
	5 min ( <i>5 dk</i> )	461.35	64.37	290.24	80.01	4.19	0.89	1.53	0.16
	10 min ( <i>10 dk</i> )	478.26	74.2	323.53	74.49	4.53	1.01	1.69	0.25
<i>p</i>		0.722	0.302	0.363	0.423	0.589	0.320	0.405	0.507
Minerals ( <i>Mineraller</i> )		Lemon balm ( <i>Oğul otu</i> )							
		K	Ca	Mg	Na	Fe	Ba	Ga	Ag
		ppm (mg l <sup>-1</sup> )							
Sample amount	Infusion time								
<i>Örnek miktarı</i>	<i>Dekoksiyon süresi</i>								
2 g		365.44	51.51	144.22	51.75	3.65	0.28	1.16	0.20
3 g		492.75**	69.70*	191.11*	61.59*	5.16*	0.37*	1.57*	0.19
<i>p</i>		<0.01	0.041	0.045	0.049	0.011	0.012	0.020	0.761
	5 min ( <i>5 dk</i> )	370.19	49.11	136.69	49.86	3.65	0.28	1.15	0.21
	10 min ( <i>10 dk</i> )	488.00*	72.09**	198.65**	63.48**	5.16*	0.37*	1.58*	0.18
<i>p</i>		0.015	<0.01	<0.01	<0.01	0.011	0.017	0.012	0.468

*p*<0.01. \*\*; *p*<0.05.\*

## CONCLUSION

The sample amount and decoction durations had different effects on antioxidant activity, antioxidants and minerals of decoctions of sage and lemon balm plants. The decoctions of lemon balm had higher antioxidant activity and antioxidants than that of sage, however, were lower in terms of mineral content. Especially, the decoctions of sage contained high amounts of Mg. The most efficient antioxidant activity and phytochemicals for decoctions of both species were observed in their decoctions prepared with 3 g sample amount and 10 min decoction time. As the sample amount increased, the mineral content analysed in decoctions of both plants increased. The 10 min decoction of lemon balm was enough for the most efficient minerals, and 5 min decoction of sage was statistically found to be enough to prepare a mineral-rich tea. In this study, antioxidants and antioxidant activities and important minerals of decoctions of sage and lemon balm that are beneficial for human health were investigated. In future studies, analysing whether different chemical formations in decoctions of plants that occur during the boiling of plant decoction samples used for human consumption may be harmful to human health, will shed light on human health.

## Author's Contributions

All contributions in authorship, design of the article, conducting and interpretation of the research belong to the author.

## Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

## REFERENCES

- Afanasiev IB, Dorozhko AI, Brodshi AV, Kostyak VA, Potaporitch AI 1989. Chelating and Free Radical Scavenging Mechanisms of Inhibitory Action of Rutin and Quercetin in Lipid Peroxidation. *Biochem Pharmacol* 38: 1763–9.
- Al Alawi AM, Majoni SW, Falhammar H 2018. Magnesium and Human Health: Perspectives and Research Directions. *International Journal of Endocrinology* 2018:1–17.
- Alagawany M, El-Hack MEA, Farag MR, Gopi M, Karthik K, Malik YS, Dhama K 2017. Rosmarinic Acid: Modes of Action, Medicinal Values and Health Benefits. *Animal Health Research Reviews* 18:167–176.
- Albayrak S, Aksoy A, Albayrak S, Sagdic O 2013. In vitro antioxidant and antimicrobial activity of some Lamiaceae species. *Iranian Journal of Science & Technology A1*: 1-9.
- Arceusz A, Occhipinti A, Capuzzo A, Maffei ME 2013. Comparison of Different Extraction Methods for The Determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone in Sage (*Salvia officinalis* L.) Herbal Tea. *Journal of Separation Science* 36:3130–3134.
- Asadi A, shidfar F, Safari M, Malek M, Hosseini AF, Rezazadeh S, Rajab A, Shidfar S, Hosseini S 2018. Safety and Efficacy of *Melissa officinalis* (lemon balm) on ApoA-I, Apo B, Lipid Ratio and ICAM-1 in Type 2 Diabetes Patients: A Randomized, Double-Blinded Clinical Trial. *Complementary Therapies in Medicine* 40:83–88.
- Atanassova M, Georgieva S, Ivancheva K 2011. Total Phenolic and Total Flavonoid Contents, Antioxidant Capacity and Biological Contaminants in Medicinal Herbs. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 46(1): 81-88.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99:191–203.
- Boneza MM, Niemeyer ED. 2018. Cultivar affects the phenolic composition and antioxidant properties of commercially available lemon balm (*Melissa officinalis* L.) varieties. *Industrial Crops and Products* 112:783–789.
- Büyükbalci A, El SN 2008. Determination of In Vitro Antidiabetic Effects, Antioxidant Activities and Phenol Contents of Some Herbal Teas. *Plant Foods Hum Nutr* 63:27–33.
- Chizzola R 2012. Metallic Mineral Elements and Heavy Metals in Medicinal Plants. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina* 6:39–53.
- Dias MI, Barros L, Morales P, Sánchez-Mata MC, Oliveira MBPP, Ferreira ICFR 2015. Nutritional Parameters of Infusions and Decoctions Obtained from *Fragaria vesca* L. Roots and Vegetative Parts. *LWT - Food Science and Technology* 62:32–38.
- Fonteles AA, Souza CM de, Sousa Neves JC de, Menezes APF, Santos do Carmo MR, Fernandes FDP, Araújo PR de, Andrade GM de 2016. Rosmarinic Acid Prevents Against Memory Deficits in Ischemic Mice. *Behavioural Brain Research SreeTest Content1* 297:91–103.
- Ghorbani A, Esmaeilzadeh M 2017. Pharmacological Properties of *Salvia officinalis* and Its Components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 7:433–440.
- Guimarães R, Barros L, Carvalho AM, Ferreira ICFR 2011. Infusions and Decoctions of Mixed Herbs used in Folk Medicine: Synergism in Antioxidant Potential. *Phytotherapy Research* 25:1209–1214.
- Herrera T, Aguilera Y, Rebollo-Hernanz M, Bravo E, Benítez V, Martínez-Sáez N, Arribas SM, Castillo MD del, Martín-Cabrejas MA 2018. Teas and Herbal Infusions as Sources of Melatonin and Other Bioactive Non-Nutrient Components. *LWT* 89:65–73.
- Hussain SR, Cillard J, Cillard P 1987. Hydroxyl

- Radical Scavenging Activity of Flavonoids. *Phytochemistry* 26: 2489–91.
- Ivanova D, Gerova D, Chervenkov T, Yankova T 2005. Polyphenols and Antioxidant Capacity of Bulgarian Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacology* 96:145–150.
- Khansari N, Shakiba Y, Mahmoudi M 2009. Chronic Inflammation and Oxidative Stress as a Major Cause of Age-Related Diseases and Cancer. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery* 3(1): 73-80(8).
- Khedher MRB, Hammami M, Arch JRS, Hislop DC, Eze D, Wargent ET, Kępczyńska MA, Zaibi MS 2018. Preventive Effects of *Salvia officinalis* Leaf Extract on Insulin Resistance and Inflammation in a Model of High Fat Diet-Induced Obesity in Mice That Responds to Rosiglitazone. *PeerJ* 6:e4166.
- Lima CF, Andrade PB, Seabra RM, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C 2005. The Drinking of a *Salvia officinalis* Infusion Improves Liver Antioxidant Status in Mice and Rats. *Journal of Ethnopharmacology* 97:383–389.
- Nicolai M, Pereira P, Vitor RF, Reis CP, Roberto A, Rijo P 2016. Antioxidant Activity and Rosmarinic Acid Content of Ultrasound-Assisted Ethanolic Extracts of Medicinal Plants. *Measurement* 89:328–332.
- Nowak D, Gośliński M, Wesolowska A, Berenda K, Popławski C 2019. Effects of Acute Consumption of Noni and Chokeberry Juices vs. Energy Drinks on Blood Pressure, Heart Rate, and Blood Glucose in Young Adults. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. URL: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2019/6076751/> [accessed February 2020].
- Nunes S, Madureira AR, Campos D, Sarmiento B, Gomes AM, Pintado M, Reis F 2017. Therapeutic and Nutraceutical Potential of Rosmarinic Acid—Cytoprotective Properties and Pharmacokinetic Profile. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57:1799–1806.
- Özcan MM, Ünver A, Uçar T, Arslan D 2008. Mineral Content of Some Herbs and herbal Teas by Infusion and Decoction. *Food Chemistry* 106:1120–1127.
- Pereira CG, Barreira L, Rosa Neng N da, Nogueira JMF, Marques C, Santos TF, Varela J, Custódio L 2017. Searching for New Sources of Innovative Products for the food industry within Halophyte Aromatic Plants: In vitro Antioxidant Activity and Phenolic and Mineral Contents of Infusions and Decoctions of *Crithmum maritimum* L. *Food and Chemical Toxicology* 107:581–589.
- Petkova N, Ivanov I, Mihaylova D, Krastanov A 2017. Phenolic Acids Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available *Melissa officinalis* L. Teas in Bulgaria. *Bulgarian Chemical Communications* 49: 69-74.
- Poswal FS, Russell G, Mackonochie M, MacLennan E, Adukwu EC, Rolfe V 2019. Herbal Teas and their Health Benefits: A Scoping Review. *Plant Foods Hum Nutr* 74:266–276.
- Pytlakowska K, Kita A, Janoska P, Polowniak M, Kozik V 2012. Multi-element Analysis of Mineral and Trace Elements in Medicinal Herbs and Their Infusions. *Food Chemistry* 135:494–501.
- Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Cazin M, Cazin J-C, Bailleul F, Trotin F 2000. Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Hulls and Flour. *Journal of Ethnopharmacology* 72:35–42.
- Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Mayne ST, et al 2011. The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know. *J Clin Endocrinol Metab* 96:53–58.
- Ruch RJ, Cheng S, Klaunig JE 1989. Prevention of Cytotoxicity and Inhibition of Intercellular Communication by Antioxidant Catechins Isolated from Chinese Green Tea. *Carcinogenesis* 10:1003–1008.
- Shakeri A, Sahebkar A, Javadi B 2016. *Melissa officinalis* L. – A Review of Its Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* 188:204–228.
- Shinjyo N, Green J 2017. Are Sage, Rosemary and Lemon Balm Effective Interventions in Dementia? A Narrative Review of the Clinical Evidence. *European Journal of Integrative Medicine* 15:83–96.
- Toydemir G, Capanoglu E, Kamiloglu S, Firatligil-Durmus E, Sunay A, Samanci T, Boyacioglu D 2015. Effects of Honey Addition on Antioxidative Properties of Different Herbal Teas. *Pol J Food Nutr Sci* 65:127–135.
- Turksoy VA, Tutkun L, Gunduzoz M, Oztan O, Deniz S, Iritas SB 2019. Changing Levels of Selenium and Zinc in Cadmium-Exposed Workers: Probable Association with the Intensity of Inflammation. *Mol Biol Rep* 46:5455–5464.
- Walch SG, Ngaba Tinzoh L, Zimmermann BF, Stühlinger W, Lachenmeier DW. 2011. Antioxidant Capacity and Polyphenolic Composition as Quality Indicators for Aqueous Infusions of *Salvia officinalis* L. (sage tea). *Front Pharmacol* 2.
- Wimalawansa SJ, Razzaque MS, Al-Daghri NM 2018. Calcium and Vitamin D in Human Health: Hype or Real? *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 180:4–14.
- Yaman C, Ulukuş D, Tugay O 2019. Bazı *Ruta* L. Ekstraktlarının Biyoaktif Madde İçerikleri ve Radikal Kovucu Aktiviteleri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi* 22:193–201.



## Menengiç, Işgın ve Çiriş Otu'nda Antioksidan Aktivitenin Araştırılması

Mehmet ÖZYURT<sup>1\*</sup>, Hatice KOPAR<sup>2</sup>, Süheyla ÖZYURT<sup>3</sup>, İlter DEMIRHAN<sup>4</sup>, Ergül BELGE KURUTAŞ<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,5</sup> Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş / Türkiye, <sup>4</sup> Harran Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Elektronik ve Otomasyon Anabilim Dalı, Şanlıurfa / Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-2129-1236>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-5038-4781>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0003-1413-6585>,

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0003-0054-7893>, <sup>5</sup><https://orcid.org/0000-0002-6653-4801>

✉: mehmetozyurt@gmail.com

### ÖZET

Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.), Işgın (*Rheum ribes* L.) ve Çiriş Otu (*Asphodelus aestivus*) tüm dünyada yaygın olarak bulunur ve genellikle taze olarak tüketilir. Bu çalışmada, gövde ve yaprakları seçilen üç bitkinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi amaçlandı. Menengiç, ışgın ve çiriş otu Kahramanmaraş bölgesinde farklı marketlerden alındı. Seçilen bitkilerin gövde ve yapraklarında antioksidan enzimler olarak superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri ile oksidatif stresin göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyi spektrofotometrik olarak ölçüldü. Menengiç, ışgın ve çiriş otu 'nun SOD ve CAT aktiviteleri karşılaştırıldığında; en yüksek CAT aktivitesi ışgın'da ölçülürken, çiriş otu'nda ise en düşük bulundu ( $p < 0.05$ ). Ayrıca SOD aktivitesi en yüksek ışgın'da iken, en düşük SOD aktivitesi menengiç'te bulundu ( $p < 0.05$ ). MDA seviyeleri ışgın'da en yüksek iken, en düşük MDA düzeyleri çiriş otu'nda bulundu ( $p < 0.05$ ). Bu sonuçlar göstermiştir ki, çalışılan bitkilerin önemli antioksidan aktivitelere sahip olması; bitkilerin sahip olduğu metabolik aktivitelerinden ve fitokimyasal içeriklerinden kaynaklanabilir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 02.11.2020

Kabul Tarihi : 22.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

Asphodelus aestivus

Pistacia terebinthus

Rheum ribes

## Investigation of Antioxidant Activity In Menengiç, Işgın and Çiriş Otu

### ABSTRACT

Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.), Işgın (*Rheum ribes* L.) and Çiriş otu (*Asphodelus aestivus*) are widely available worldwide and are generally consumed as fresh. In this study, it was aimed to examine the antioxidant activities stem and leaves of three plants. Menengiç, ışgın and çiriş otu were purchased from different markets in the Kahramanmaraş region. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities as antioxidant enzymes and malondialdehyde (MDA) level as an indicator of oxidative stress were spectrophotometrically determined in referred plant parts. When the SOD and CAT activities of menengiç, ışgın and çiriş otu seed were compared; While the highest CAT activity was measured in ışgın, çiriş otu sustained the lowest ( $p < 0.05$ ). In addition, while SOD activity was the highest in ışgın, the lowest SOD activity was found in menengiç ( $p < 0.05$ ). MDA levels were highest at ışgın, while the lowest MDA levels were found at çiriş otu ( $p < 0.05$ ). These results show that the plants studied have important antioxidant activities caused by the metabolic activities and phytochemical contents of plants.

### Research Article

#### Article History

Received : 02.11.2020

Accepted : 22.12.2020

#### Keywords

Asphodelus aestivus

Pistacia terebinthus

Rheum ribes

**Atf İçin:** Özyurt M, Kopar H, Özyurt S, Demirhan İ, Belge Kurutaş E 2021. Menengiç, Işgın ve Çiriş Otu'nda Antioksidan Aktivitenin Araştırılması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (4): 733-737. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.819974.

**To Cite:** Özyurt M, Kopar H, Özyurt S, Demirhan İ, Belge Kurutaş E 2021. Investigation of Antioxidant Activity In Menengiç, Işgın and Çiriş Otu. KSU J. Agric Nat 24 (4): 733-737. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.819974.

### GİRİŞ

Çeşitli insan hastalıklarının tedavi etmek için bitkilerin kullanımı uzun bir tarihe sahiptir. Yaprak, gövde, ağaç kabuğu, kök gibi bitkilerin çeşitli kısımları

semptomları önlemek, anormallikleri normale döndürmek için kullanılır. Bazı bitkilerin antioksidan aktiviteleri ile ilgili bilimsel çalışmalar olmasına rağmen, sınırlıdır.

Serbest oksijen radikallerinin neden oldukları muhtemel zararlara çok sayıda hücre koruyucu enzimler yardımıyla karşı koyulur ve meydana gelen radikal hasar antioksidan maddeler ile sınırlandırılmaya çalışılır. Vücudumuzda bulunan serbest radikaller ve antioksidan maddeler arasındaki ilişki sürekli denge durumundadır. Antioksidanlar hücre içerisinde oksijen oluşan yerlerde oksijen ara metabolitlerini azaltmak için enzimatik olarak çalışmaktadırlar. Antioksidan savunmada sisteminde birincil olarak enzimatik antioksidanlar etkilidirler. Bunlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimlerdir (Delaber ve ark., 1987). Serbest radikallere maruz kalan insan vücudunun, oluşan oksidatif stresi ortadan kaldırmak için en önemli silahı olan antioksidanlar, hücre hasarını engelleyebilmeleri açısından da oldukça önemli maddelerdir.

Antioksidanlar hem vücut tarafından sentezlenebilir hem de diyet ile dışarıdan da alınabilirler. Canlı organizmalarda antioksidan sistemler, metabolizmada üretilen (endojen) ve dışarıdan diyet ile alınanlar (ekzojen) olmak üzere iki gruba ayrılır. Endojen antioksidan sistemi, antioksidan enzimler, hasarlı molekülleri uzaklaştırıcı proteazlar ve fosfolipaz gibi enzimler, yeni bileşikler sentezleyen sistemler, glutatyon, ürik asit ve çeşitli metal bağlayıcılarından oluşmaktadır. Tüm antioksidanlar serbest radikal süpürücü olarak görev yaparlar. Antioksidanların, kanser, kalp hastalıkları, inflamatuvar ve diyabet gibi birçok hastalığın başlamasına sebep olan oksidatif stres ve serbest radikallerin hasarlarına karşı koruma görevi üstlendiği bilinmektedir. Bu özelliklerinden dolayı, savunma sisteminin etkisini artırmak suretiyle hastalık riskini de azaltmış olurlar (Bursal, 2009; Sen ve ark., 2010; Shinde ve ark., 2012).

*P. terebinthus*, Anacardiaceae (Sakızağacığılleri) familyasına ait bir türdür. *P. terebinthus* çalı formunda, küçük ağaç yapısına sahip olup, yaprağını döken bir türdür. Melengiç / Menengiç olarak bilinmekte olup, Türkiye'de en yaygın türlerden birisidir. Uçucu yağ içeriği sebebiyle ekonomik anlamda önem arz eden bitkinin Akdeniz Bölgesi, Güney Doğu Anadolu Bölgesi ve Ege kıyılarında yayılış gösterdiği bilinmektedir. Alternatif tıbbi bitki ve gıda olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1984).

Polygonaceae familyasının bir üyesi olan ve çok yıllık otsu bir yapıya sahip olan Işgın bitkisi, İran-Turan fitocoğrafik bölgesinin bir elamanıdır. Türkiye ile birlikte ve Türkiye'ye komşu olan bazı ülkelerde yetişmektedir (Davis, 1967). Sürgünleri 40 cm yüksekliğe kadar büyüyebilir ve bu sürgünler tabanda yapraklı, üstte ise yapraksız bir yapıya sahiptir. Genellikle kayalık ve çakıl yapıya sahip olan yamaçlarda yetiştiği bilinmektedir. Halk arasında bitkinin sürgünleri ve yaprak sapı taze olarak tüketilmektedir. Işgın bitkisinin gövdesi ve yaprakları

oldukça ekşi bir lezzete sahip olmakla birlikte, mideyi kuvvetlendiren, kusmayı önleyen ve kabız etkiye sahip olan faydalarının olduğu belirtilmektedir (Baytop, 1984).

Çiriş otu Asphodelaceae familyasına ait bir türdür. Yaprakları kılıç şeklinde olan çiriş otunun boyu 50-150 cm civarında, 3 cm eninde bir yapıya sahiptir. Genellikle nisan ile mayıs aylarında çiçek açtığı bilinmektedir. Bezelye şekilli yeşil meyvelere sahip olan çiriş otu bütün yıl boyunca yeşil bir bitkidir. Halk arasında hemoroid, romatizma, adet söktürücü, idrar söktürücü, saçkıran, süt artırıcı, egzama, sivilce ve çibanların tedavisinde ilaç olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Bu bitkinin beyaz kan hücrelerini (WBC) artırdığı ve bu özelliğinden dolayı da savunma sistemi için önemli bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Baytop, 1984; 1997; Karataş ve ark., 2011).

Bu çalışmada kullanılan bitkilerinin halk tarafından hem gıda maddesi olarak hem de çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Günümüzde birçok ilacın hammaddesini tıbbi ve aromatik bitkilerin sentezlemiş olduğu bileşikler oluşturmaktadır. Literatür taramalarında, bu üç bitkiyle ilgili antioksidan aktiviteyi inceleyen in vitro bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu sebeple yapılan çalışmada bu bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi araştırıldı.

## MATERYAL ve METOD

Menengiç, çiriş otu ve ışgın Kahramanmaraş bölgesinde farklı marketlerden alındı. Biyokimyasal analizler için laboratuvara gönderildi.

### Biyokimyasal Analizler

#### Biyokimyasal analiz için bitki ekstresinin hazırlanması

Bu bitkilerin gövde ve yapraklarından %1.15 potasyum klor ile homojenize edilerek ekstreler hazırlandı. Hazırlanan yaprak ekstrelerinde antioksidan enzim düzeyleri ve MDA düzeyleri ölçüldü.

#### Antioksidan Aktivitenin Saptanması

CAT aktivitesi ekstrede Beutler yöntemiyle saptanmıştır (Beutler, 1984). Reaksiyon karışımı 1 M Tris-HCl pH 8.0 tampon, 10 mM hidrojen peroksit, belirli miktarda saf su ve enzim içeren ekstreten oluşmaktadır. Tepkime, 37 °C'de enzim tarafından yıkılan hidrojen peroksit'in 230 nm dalga boyunda ışık yolu 1 cm olan kuvars küvetlerde 10 dakika süreyle her 5 dakikadaki absorbans değişimi izlenerek gerçekleştirilmiştir. SOD aktivitesi Fridovich yöntemiyle saptanmıştır (Fridovich, 1995). SOD aktivite tayini için ekstre 1:65 oranında 0.01 M Fosfat tampon pH 7.0 ile dilue edilmiş, bu dilüsyonda aktivite

taini yapılmıştır. Reaksiyon karışımı ekstre, ksantin ve INT (p-iyodonitrotetrazolium viyolet) içeren mik s substrat ve ksantin oksidazdan oluşur. Kör de tıpkı numune gibi hazırlanır fakat örnek yerine fosfat tamponu konmuştur. Tepkime, 37 °C'de ışık yolu 1 cm olan kuvars küvetlerde numunenin 505 nm dalga boyunda havaya karşı ilk 30 saniyedeki başlangıç absorbansları (A1) okunarak gerçekleştirilmiştir. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbansları (A2) okunmuş ve değerler standart eğriden değerlendirilmiştir. MDA düzeyi ekstrede Ohkawa yöntemiyle saptanmıştır (Ohkawa, 1979). Aerobik şartlarda pH 3.4'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile numunenin inkübasyonu sonucu oluşan lipid peroksidasyonun sekonder ürünü olan MDA'nın TBA ile pembe renkli kompleks oluşturma esasına dayanır. Oluşan renk şiddeti ortamdaki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır; 532 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Protein düzeyi ekstrede Lowry metoduyla ölçülmüştür (Lowry, 1951). Sığır

bovin serum albumin standart olarak kullanılmıştır.

### İstatistik Analizler

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 22.0 paket programında yapıldı. Bitkilerin birbirleriyle karşılaştırılmalarında Mann Whitney U testi ve varyans analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık olarak p<0.05 düzeyi alındı.

### BULGULAR

En yüksek CAT aktivitesi Işgın'da ölçülürken, Çiriş Otu'nda ise en düşük bulundu (p <0.05). Ayrıca SOD aktivitesi en yüksek Işgın'da bulunurken, en düşük SOD aktivitesi Menengiç'te bulundu (p <0.05). MDA seviyeleri Işgın'da en yüksek iken, en düşük MDA düzeyleri Çiriş Otu'nda bulundu (p <0.05).

Işgın, çiriş otu ve menengiç bitkilerinin antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT) Çizelge 1'de, MDA düzeyleri ise Şekil 1'de gösterilmiştir.

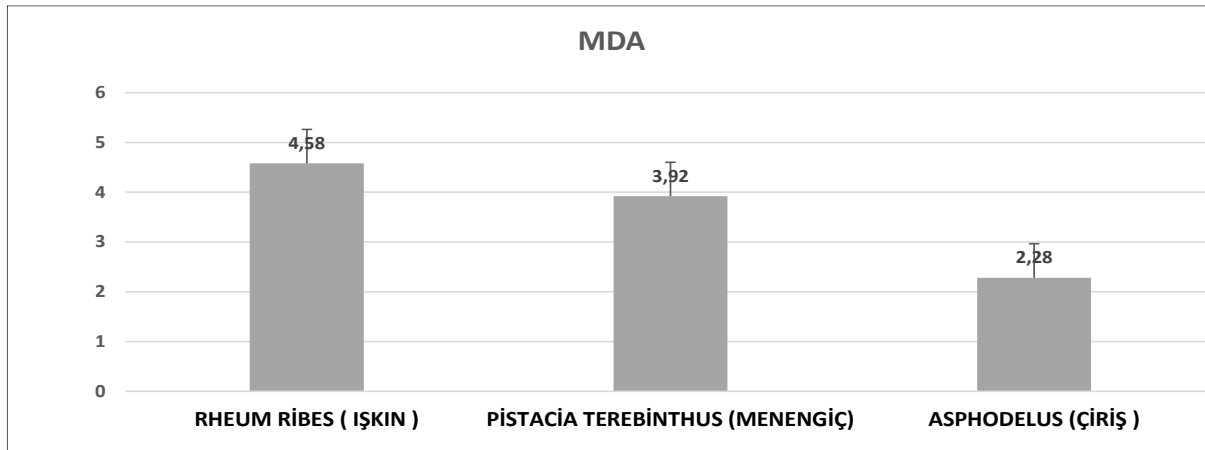
Çizelge 1. Işgın, menengiç ve çiriş otunda antioksidan enzim aktiviteleri (CAT ve SOD)

Table 1. Antioxidant enzyme activities (CAT and SOD) in *Rheum Ribes L* (Işgın), *Pistacia Terebinthus* (Menengiç), and *Asphodelus Aestivus* (Çiriş Otu)

	Rheum Ribes L (Işgın)**	Pistacia Terebinthus (Menengiç)	Asphodelus Aestivus (Çiriş Otu)
CAT (Ü/mg protein)	0.413±0.03*	0.01±0.008*	0.065±0.007*
SOD (Ü/mg protein)	0.34±0.01*	0.065±0.003*	0.12±0.005*

\*Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi.

\*\*Işgın'da CAT ve SOD aktiviteleri diğer bitkilere kıyasla daha yüksek bulundu (p<0.05).



Şekil 1. Işgın (*rheum ribes L.*), Menengiç (*pistacia terebinthus L.*) ve Çiriş Otu (*asphodelus aestivus*) MDA seviyelerinin karşılaştırılması.

Figure 1. Comparison of MDA levels of Işgın (*rheum ribes L.*), Menengiç (*pistacia terebinthus L.*) and Çiriş Otu (*asphodelus aestivus*).

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Tarih boyunca tıbbi ve aromatik bitkiler hem tıbbi amaçlı olarak hem de gıda maddesi olarak kullanılmış ve bu bitkilerin önemi giderek artmıştır. Günümüzde ise bu bitkilerin alternatif ve modern tıpta sıklıkla kullanıldığını görmekteyiz. Tıbbi ve aromatik etkiye sahip olan bitkilerin kök, yaprak, çiçek ve meyve gibi bölümlerinden elde edilen ekstraların, pek çok tıbbi ilacın ana maddesini oluşturduğu bilinmektedir.

İnsanların büyük çoğunluğu hastalıkların tedavisinde ilk olarak tıbbi bitkilere başvurmaktadır ve gelişmiş ülkelerde kullanılan tıbbi ilaçların %25'inin ana maddesi bitkisel kökene sahiptir (Farnsworth, 1985).

Birçok hastalığın başlamasına öncülük eden oksidatif stres ve serbest radikallerin, canlı organizmalara olan zararlarını gidermek açısından, antioksidan yapıya sahip maddelerin radikal giderme aktivitelerinin bilinmesi büyük öneme sahiptir (Kurutas, 2015). Bu



sayede sentetik antioksidanların yerini doğal antioksidanların alması açısından yoğun araştırmalar yapılmaktadır.

Tabata ve ark. (1994) göre, ışgın bitkisinin kökleri geleneksel olarak diyabet, hemoroit, ülser ve ishalin tedavisinde kullanılmakta ve aynı zamanda antelmentik ve balgam söktürücü aktivitelerinin olduğunu bildirmektedirler. Menengiç yapraklarının halk tarafından mide ve karın ağrılarının giderilmesinde, astım hastalığının tedavisinde ve iltihap gidermek için kaynatılarak içildiği bilinmektedir. Bununla birlikte yine ateş düşürücü, romatizma, öksürük, ayak terlemesi, yara, yanık ve idrar sökürücü olarak menengiç yapraklarından faydalandığı ifade edilmektedir. Çiriş otu hemoroid, romatizma, adet söktürücü, idrar söktürücü, saçkıran, süt artırıcı, egzama, sivilce ve çibanların tedavisinde ilaç olarak kullanıldığı belirtilmektedir (Baytop, 1999).

Yapılan bu çalışmada, Işgın'ın en yüksek antioksidan enzim kapasitesine sahip olması; yüksek oranda fenolik içeriğinden kaynaklanabilir. Nitekim Ozbek ve ark. (2004) göre ışgın bitkisinin alloksan uygulanan farelerde hipoglisemik etkisi olduğu belirtilmiştir. Başka bir çalışmada ise Raafat ve ark. (2014) ışğının antioksidan etkiye sahip olduğunu, ışgın ekstraktının farelerde glukoz dengesini düzenlediğini ve diyabetik nefropatiye karşı önleyici etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Meral (2017) ise yapmış olduğu çalışmada, ışgın bitkisinin antioksidan etkiye sahip olduğunu aynı zamanda yüksek miktarda fenolik bileşen içerdiğini belirtmektedir. Bu çalışma ise ışgın bitkisinin yüksek antioksidan enzim kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Güzel ve ark. (2013) yapmış olduğu çalışmaya göre çiriş otu ekstreleri orta derecede serbest radikal önleyici etkiye sahip, doğal bir antioksidan kaynağıdır. Bu çalışmada ise diğer iki bitkiye nazaran çiriş otunda CAT aktivitesi ve MDA düzeyleri bakımından en düşük olduğu gözlemlendi.

Gülsoy ve ark. (2013) yapmış olduğu çalışmaya göre, menengiç bitkisinin kısımlarından sabit ve uçucu yağ elde edilmiş ve bu özelliklerinden dolayı ilaç ve kozmetik gibi alanlara katkı sağlayabilecek bir bitki türü olduğu saptanmış olup, araştırılmaya değer bir tür olarak görülmektedir. Bu çalışmada ise menengiç bitkisinin orta düzeyde antioksidan aktivitesi ve MDA düzeyine sahip olduğu saptandı. Çiriş otunun C vitamini açısından oldukça zengin bir yapıya sahip olmasıyla birlikte, glutatyon ve B3 vitamini miktarları açısından ise zengin yapıda olduğu tespit edilmiştir (Karataş ve ark., 2011). Bunun yanısıra, bu çalışmada bitkiler içinde en fazla antioksidan aktivitenin ışğında saptanması; çeşitli hastalıkların tedavisinde özellikle ışğının gövde kısımlarının tabletler halinde kullanılabilmesini düşündürmektedir.

Seçilen bitkilerin literatür taramalarında, in vitro olarak SOD, MDA ve CAT parametreleri açısından

antioksidan aktiviteyi gösteren bir çalışmaya rastlanılmadı. Ülkemizin sahip olduğu bitki çeşitliliği göz önünde bulundurulunca bu çalışma, hem bu değere katkı sağlamış olacak hem de ileriki dönemlerde, radikal tutma özelliği olan başka bitki türleriyle ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.

### Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### KAYNAKLAR

- Baytop T 1984. Türkiye 'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 520sy.
- Baytop T 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 480sy.
- Beutler E 1984. Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods Third Edition. Grune and Stratton, New York, 11-12
- Bursal E 2009. Kivi Meyvesinin (*Actinidia Deliciosa*) Antioksidan ve Antiradikal Aktivitelerinin Belirlenmesi, Karbonik Anhidraz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, 8sy.
- Davis PH 1967. Flora of Turkey and The Aegean Islands, Edinburg Univ. Press. Aegean Islands, Vol.3, Edinburg Univ. Press, Edinburg, 268sy.
- Delabar JM, Nicole A, Jacob Y, Sınet PM, Jerôme H, D'auriol L, Meunier M, Rotival M 1987. Cloning and Sequencing of a Rat CuZn Superoxide Dismutase cDNA: Correlation Between CuZn Superoxide Dismutase mRNA Level and Enzyme Activity in Rat and Mouse Tissues. European Journal of Biochemistry 166(1): 181-187.
- Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, Soejarto DD, Guo Z 1985. Medicinal Plants in Therapy. Bulletin of The World Health Organization 63 (6): 965-981.
- Fridovich I 1995. Superoxide Radical and Superoxide Dismutases. Annual Review of Biochemistry 64(1): 97-112.
- Gülsoy S, Özkan G, Özkan K, Genç M 2013. Effects of Ecological Factors on Some Physical and Physicochemical Fruit Characteristics of Turpentine Tree (*Pistacia Terebinthus* L. subsp. *Palaestina* (Boiss.) Engler). Turkish Journal of Forestry 14(1): 15-23.
- Güzel E, Boğa R, Bursal E 2013. Çiriş Otu (*Asphodelus Aestivus*) Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi 1 (1): 17-25.

- Karataş F, Bektaş İ, Birişik A, Aydın Z, Kurtul A 2011. Çiriş Otu'nda (*Asphodelus Aestivus* L.) Suda Çözünen Bazı Bileşiklerin Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi 6(1): 35-39.
- Kurutas EB 2015. The Importance of Antioxidants Which Play The Role in Cellular Response Against Oxidative/Nitrosative Stress: Current State. Nutrition Journal 15(1): 1-22.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ 1951. Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent. Journal of Biological Chemistry 193(1): 265-275.
- Meral R 2017. Farklı Sıcaklık Derecelerinin Uşkun Bitkisinin Antioksidan Aktivitesi ve Fenolik Profili Üzerine Etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 27(1): 88-94.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K 1979. Assay For Lipid Peroxides in Animal Tissues By Thiobarbituric Acid Reaction. Analytical Biochemistry 95(2): 351-358.
- Ozbek H, Ceylan E, Kara M, Ozgokce F, Koyuncu M 2004. Hypoglycemic Effect of Rheum Ribes Roots in Alloxan Induced Diabetic And Normal Mice. Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science Vol.31: 113-115.
- Raafat K, Aboul-Ela M, El-Lakany A 2014. Alloxan-Induced Diabetic Thermal Hyperalgesia, Prophylaxis and Phytotherapeutic Effects of Rheum Ribes L. in Mouse Model. Archives of Pharmacal Research 1-10.
- Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B 2010. Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines: Current Status and Future Prospect. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research 3(1): 91-100.
- Shinde A, Ganu J, Naik P 2012. Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review. Journal of Dental and Allied Sciences 1(2): 63.
- Tabata M, Sezik E, Honda G, Yesilada E, Fuki H, Goto K, Ikeshiro Y 1994. Traditional Medicine in Turkey III. Folk Medicine in East Anatolia, Van and Bitlis Provinces. International Journal of Pharmacognosy 32(1): 3-12.

## Variation of Bioactivities and Phytochemical Compositions of *Valeriana dioscoridis* Sm. Extracts

Esra UÇAR<sup>1\*</sup>, Mehmet ATAŞ<sup>2</sup>, Yeter ÇİLESİZ<sup>3</sup>, İlker ÇİNBİLGEL<sup>4</sup>, Nuraniye ERUYGUR<sup>5</sup>  
Tolga KARAKÖY<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Department of Crop and Animal Production, Sivas Vocational School, Cumhuriyet University, Sivas, <sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Microbiology, Cumhuriyet University Faculty of Pharmacy Sivas; <sup>3</sup>Department of Pharmacy Services, Vocational School of Health Services of Şiran, University of Gümüşhane, <sup>4</sup>Department of Tourism Guidance, Manavgat Tourism Faculty, Akdeniz University, Antalya, <sup>5</sup>Department of Pharmacognosy, Selçuk University Faculty of Pharmacy, Konya, <sup>6</sup>Department of Agricultural Sciences and Technologies, Sivas University of Science and Technology, Sivas, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-6327-4779>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-9425-0080>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-4313-352X>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0003-3084-5998>, <sup>5</sup><https://orcid.org/0000-0002-4674-7009>, <sup>6</sup><https://orcid.org/0000-0002-5428-1907>

✉: eucar@cumhuriyet.edu.tr

### ABSTRACT

Valerian (*Valeriana dioscoridis* Sm.) is a perennial herb of the Caprifoliaceae family. The aim of this study was to determine the variation of *V. dioscoridis* plants grown in different regions in respect of the quality criteria traits such as nutrient values, extract contents and in vitro antioxidant and antimicrobial activity values. In this study, roots and rhizomes of *V. dioscoridis* Sm. were collected from eight different locations in Antalya province. The obtained materials were ground in a blender and extracted with 80% ethanol. The macro and micro-nutrient elements contents of the powdered plant samples were evaluated and the antioxidant and antimicrobial activities of the extracts were investigated. Based on the data obtained, there were different values in the antioxidant, antimicrobial activities, nutrient content and chemical composition content of extracts of *V. dioscoridis* Sm. plants grown in different locations.

### Research Article

#### Article History

Received : 24.09.2020

Accepted : 17.12.2020

#### Keywords

Antioksidan

Antimikrobiyal

Caprifoliaceae

Makro ve Mikro Elements

*Valeriana dioscoridis*

## *Valeriana dioscoridis* Sm. Ekstraktlarının Biyoaktivite ve Fitokimyasal Kompozisyon Değişimleri

### ÖZET

Kedi otu (*Valeriana dioscoridis* Sm.) Caprifoliaceae familyasının çok yıllık bitkisidir. Bu çalışmanın amacı tüketimi gittikçe artan bitkilerden olan *V. dioscoridis* bitkisinin besin değerleri, ekstrakt içerikleri, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite değerleri gibi kalite kriterleri yönünden, farklı bölgelerde yetişen bitkilerin toplandığı bölgelere göre her hangi bir farklılık oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi içindir. Bu çalışmada *Valeriana dioscoridis* Sm. kök ve rizomları Antalya ilinin sekiz farklı bölgesinden toplanmıştır. Elde edilen materyaller toz haline getirilmiş ve % 80 etanol ile ekstrakte edilmiştir. Toz halindeki bitki örneklerinin makro ve mikro besin element içerikleri değerlendirilmiş ve ekstraktların da antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre farklı bölgelerde yetişen *Valeriana dioscoridis* Sm. bitki ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal aktiviteleri ve besin içerikleri ve kimyasal kompozisyonunda farklı değerler elde edilmiştir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 24.09.2020

Kabul Tarihi : 17.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

Antioksidan

Antimikrobiyal

Caprifoliaceae

Makro ve Mikro Element

*Valeriana dioscoridis*

**To Cite :** Ucar E, Ataş M, Çilesiz Y, Çinbilgel İ, Eryugur N, Karaköy T, 2021. Variation of Bioactivities and Phytochemical Compositions of *Valeriana dioscoridis* Sm. Extracts. KSU J. Agric Nat 24 (4): 738-746. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.799598.

### INTRODUCTION

*Valeriana* L. contains 14 species and belongs to the Caprifoliaceae family (Richardson, 1972; Davis et al., 1988; Güner et al., 2000; Piccinelli et al., 2004; Güner et al., 2012). *Valeriana dioscoridis* Sm. is a perennial

herbaceous plant having rhizomes. The dried roots and rhizomes of this plant have lipophilic compounds (0.5 %) and have sedative, sleep transmitter, wound healing, nerve-calming, and spasm relief effects (Bulut, 2006; Lopez-Munoz et al., 2006; Guarrera et

al., 2008). Previous studies explored that the extracts and essential oils of *V. dioscoridis* have antifungal and antioxidant activity (Tzakou et al., 2004; Karadeniz et al., 2015). Although the use of this plant is very common for medicinal purposes, however there is scarcity of information about reliability (Bogacz et al., 2014).

Valerianic acid present in the plants of genus *Valeriana* has a palliative property, especially for anxiety. Anxiety is caused by stress conditions and can create difficulties in dealing with some problems arising from the intensity of daily and work life. Therefore, it is an important and very common problem affecting the quality of life of people in the modern world. People use different treatment methods, such as drugs or alternative medicine to relieve this anxiety. There is a tendency of higher usage of natural products because of the side-effects resulted by the intake of synthetic drugs. Considering this factors, various plant parts are used for medicinal and aromatic purposes including substances such as cellulose, corn starch, pectin, protein and sugar, in addition to the active substance components with pharmacological effects (Ceylan, 1987). Generally, the essential oils within these plants contain major components, however some other components are also present even in small concentrations. These different components increase the power of major components by facilitating the intake of major components. A better effect may be provided according to the pure substances of the essential oils. The use of medicinal components may be preferred when the pure drugs cannot be used or when it is not economic to do so. These plants gained popularity and more concentration among the medicinal industry and interest is also increasing for the cultivation of these plants. However, where these plants grow naturally and under what conditions they are collected is of importance. Just as plants collected from the roadside could contain heavy metal components and there may be variations in the active substance content according to the conditions around where they are found. Moreover, collection of the plants at the wrong time could also affect the quality of the active substance of the plant. The aim of this study was to determine whether or not there was any difference in *V. dioscoridis* plants grown in different regions in respect of the quality criteria such as nutrient values, extract contents and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activity values.

## MATERIAL and METHOD

The research was carried out in 2019 in the laboratories of Cumhuriyet University Advanced Technology Research Center (CÜTAM). *Valeriana dioscoridis* Sm. plants were collected from eight different locations used as the study materials. The

collected materials were dried and have been stored in CÜTAM laboratory.

## Supply of plant materials

Valerian (*Valeriana dioscoridis* Sm.) was collected from eight different locations (LOC1: Burdur, C2, Altınyayla District, Ballık Village, Ballık Canyon road, 35S 0715480-UTM 4081603, 1479 m, rocky places on mixed Cedar forest, 22.IV.2016, Çinbilgel 10352, LOC2: Antalya, C3, İbradı District, Başlar Village, 36S 0358486-UTM 4122760, 1200 m, rocky places on mixed Torch pine forest, 15.IV.2016, Çinbilgel 10336, LOC3: Antalya, C3, Manavgat District, Ahmetler Village road, 36S 0383468-UTM 4076318, 605 m, moist places, 11.III.2016, Çinbilgel 10271, LOC4: Antalya, C3, Manavgat District, Ahmetler Village, 36S 0383784-UTM 4076925, 639 m, Red pine forest-moist places, 19.II.2016, Çinbilgel s.n., LOC5: Antalya, C3, Manavgat District, Beşkonak-Sağırın neighborhood, Akpınar plato, 36S 0352351-UTM 4113161, 1436 m, rocky places on mixed Juniper forest, 14.IV.2016, Çinbilgel sn.,) LOC6: Antalya, C3, Manavgat District, Ahmetler Village road, 36S 0383440-UTM 4076188, 569 m, maquis-moist places, 19.II.2016, Çinbilgel s.n., LOC7: Antalya, C3, İbradı District, Ürünü Village, Altınbeşik Cave National Park, 36S 0377622-UTM 4100098, 646 m, maquis-rocky places, 15.IV.2016, Çinbilgel 10340,) LOC8: Burdur, C2, Yeşilova District, Salda Lake, 35S 0740188-UTM 4158060, 1155 m, rocky places on maquis, 22.IV.2016, Çinbilgel 10355. The collected plant specimens were determined by Dr. Çinbilgel according to the Flora of Turkey and East Aegean Islands (Richardson, 1972). The obtained roots and rhizomes were dried and pulverized with a laboratory grinder.

## Obtaining the Extracts

The powdered plant materials were macerated with 80% ethanol. After one day of agitation in the shaker, the plant particles were filtered. The filtrates were dried in an oven (40 °C) to obtain the extracts.

## Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC / MS) and GC analysis of extracts

Gas Chromatography / Mass Spectrometer was used to identify the components of the extracts and Gas Chromatography was used to determine the relative percentages (Sacchetti et al., 2005). GC-MS analyses were worked with mass spectrometer detector. Helium gas was used as a carrier gas at a constant flow rate of 1.5 mL in minutes, and 1 µL Linjection volume using splitless mode was programmed among 80-300 at rate of 5 per minutes. Post run was set at 300 °C for 2 min. Total run time was 60 minutes (Eruygur and Dural, 2019).



### Determination of Macro-Micro element contents

First, the samples were ground for further analysis. The N (nitrogen) content was determined using the modified Kjeldahl method (Bremner, 1965). For the P (phosphorus), K (potassium), Fe (iron), Mn (manganese), Zn (zinc) and Cu (copper) contents, 0.200 g plant samples were weighed in porcelain crucibles and dried in the oven at 550 °C for 5 hours to obtain ash. After removing the samples from the oven, 1/3 HCl and distilled water were added to the extracted samples. Using a P 880 nm UV-spectrophotometer (Murphy and Riley, 1962), K, Fe, Mn, Zn and Cu were determined with Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS) (Güzel et al., 1992).

Raw protein value (%) is calculated by the formula below: Raw protein value (%): N value x 6,25

### In vitro antioxidant activity

The DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of the extract was evaluated according to the methodology of Blois method (1958) with slight modification. ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical scavenging activity was evaluated by the method of Re et al. (1999) with minor modifications. Total phenolic content was determined with spectrophotometric method (Clarke et al., 2013) and expressed as gallic acid equivalents. Flavonoid contents were determined with the aluminum chloride colorimetric method of Molan and Mahd (2014). Total flavonoids content was expressed as milligrams of catechine equivalent per gram of the dry weight of the extract.

### Antimicrobial activities of *V. dioscoridis* extracts

In this study, the microdilution Broth method (Eloff, 1998) was used to determine the Minimum Inhibition Concentration (MIC) of *V. dioscoridis* extracts against micro-organisms of *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC 27853), *Candida albicans* (ATCC10231) and *Candida tropicalis* (DSM11953).

The extract was dissolved in DMSO (50 mg mL<sup>-1</sup>). 90 µl of media were added to the first row of the microtiter plates and 50 µl of the remaining wells. The 11<sup>th</sup> wells were used as the reproductive controls and 100 µL broth was added. 10 µL extract was added in the first line of the microtiter plate and serial two-fold dilutions were prepared. The concentration of the extract in the wells was ranging from 2.5 to 0.004 mg mL<sup>-1</sup>. The bacteria and fungi suspensions (50µL) were added to prepared samples. The final inoculum size was 5×10<sup>5</sup> CFU mL<sup>-1</sup> in the bacteria wells and 0.5-2.5×10<sup>3</sup> CFU mL<sup>-1</sup> in the *Candida* sp. wells (CLSI, 2002, CLSI, 2012). The microtiter plates were incubated at 37 °C and the MICs were recorded after 24 h of incubation.

The MIC was defined as the lowest concentration of the extract that produced an 80% reduction in visible growth compared with control.

### Statistical Analysis

Range, coefficient of variation and east significant difference (LSD) for various macro and micro elements was investigated using using the statistical software XLSTAT (www.xlstat.com). Similarly, distribution graphs for total phenol contents and antioxidant activity were also developed using XLSTAT (www.xlstat.com) software.

## RESULTS and DISCUSSION

The effect on the quality criteria of the extracts of *Valeriana dioscoridis* plants collected from eight different locations were evaluated.

### GC-MS analysis values of the extracts obtained

In the evaluation of the chemical composition of the extracts obtained from the *V. dioscoridis* collected from eight different locations, a total of 43 components were determined, both single and common for each location (Table 1). Maximum components (total 18) were determined in LOC 1 and minimum components (total 8) in LOC 8. Ispiro [2.1.2.4] undecane, 8-methylene-, Tricyclo [4.4.0.0(2,8)] decan-3-ol, Tricyclo [4.4.0.0(2,8)] decane, 5-hydroxy-, acetate, (-)-Caryophyllene oxide, Cyclopentanol, 2-cyclopentylidene-, 2H-3,9a-Methano-1-benzoxepin, octahydro-2,2,5a,9-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,5a.alpha.,9.alpha.,9a.alpha.)]-, Limonen-6-ol, pivalate, 1-Propene-1,2,3-tricarboxylic acid, tributyl ester, Decanedioic acid, dibutyl ester (CAS), Tributyl acetylacrylate, Benzyldiethyl-(2,6-xylylcarbamoil methyl)-ammonium benzoate, Stigmast-5-en-3-ol, (3.beta.)- (CAS) components were found in 4 or more common locations. For LOC 1, LOC 2, LOC 3, LOC 4, LOC 5, LOC 6 and LOC 8, the components of Tributyl acetylacrylate (22.26, 20.58, 14.81, 18.22, 14.71, 19.13 and 15.87, respectively), and for LOC 7, 2H-3,9a-Methano-1-benzoxepin, octahydro-2,2,5a,9-tetra methyl-, [3R-(3.alpha.,5a.alpha.,9.alpha.,9a.alpha.)]- (17.46) were determined as major components (Table 1). According to Bogacz et al. (2014) and Dimpfel (2007), the most important chemical component of the genus *Valeriana* plants is valerianic acid.

### Macro-Micro Nutrient Content

The evaluations of the macro and micro-nutrient elements content of the *V. dioscoridis* plants collected from eight different locations are shown in Table 2. Various macro elements, such as phosphorus and potassium ranged 0.15-0.50 and 1-6 mg kg<sup>-1</sup>, respectively. The P content of the *V. dioscoridis* in different locations varied between 0.476% (LOC 5)-0.950% (LOC 6) and was found to be 0.688% on

average. P deficiency in plants results in a decreased growth and low resistance to biotic and abiotic stresses (Plaster, 1992; Aktaş and Ateş, 1998). Maximum potassium content in this plant was 3.813% in LOC 1, at the lowest in LOC 7 (1.290%) and 2.274% on

average. In the *V. dioscoridis* collected from different locations, the N content varied between 0.680% (LOC7) and 1.733% (LOC6) and the crude protein content is varied 4.250% (LOC7)-10.60% (LOC6).

Table 1. Components of 80% ethanol extracts of *Valeriana dioscoridis* plants collected from eight different locations  
 Tablo 1. Sekiz farklı lokasyondan toplanan *Valeriana dioscoridis* bitkisinin % 80 etanol ekstraktının bileşenleri

No	RT	Components	Relative Percentage (%)	
			Locations of <i>Valeriana dioscoridis</i>	% (respectively)
1	18,648	Benzaldehyde, 2-hydroxy-6-methyl-	LOC5	1.96
2	18,683	2-Hydroxy-4-methylbenzaldehyde	LOC7	1.67
3	20,295	Dispiro[2.1.2.4]undecane, 8-methylene-	LOC1, LOC3, LOC5, LOC7	1.07, 1.12, 2.17, 2.12
4	20,759	2-iodo-1-adamantyl acetate	LOC6	2.26
5	21,091	Nerolidol-epoxyacetate	LOC3	1.43
6	21,937	1-Ethyladamantan-2-ol	LOC1	1.24
7	21,956	2,6,6-Trimethyl-1-cyclohexene-1-acetaldehyde	LOC7	2.10
8	22,754	Decanoic acid (CAS)	LOC6	1.87
9	22,852	Quinic acid	LOC5	1.97
10	23,686	3-Buten-2-ol, 3-methyl-4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-	LOC7	2.07
11	24,085	.beta.-D-Glucopyranoside, methyl	LOC7	1.86
12	24,375	Patchouli alcohol	LOC5	1.47
13	24,745	Dimethyl{bis[(2Z)-pent-2-en-1-yloxy]}silane	LOC1	1.57
14	26,155	Naphth[2,3-b]oxirene, decahydro-	LOC5	14.08
15	26,218	Tricyclo[4.4.0.0(2,8)]decan-3-ol	LOC1, LOC3, LOC4, LOC7	12.59, 6.37, 13.23, 7.83
16	26,344	1,4-Benzenediol (CAS)	LOC6	1.57
17	28,203	Silane, dimethyldi(but-2-enyloxy)-	LOC2	7.23
18	28,206 29,988	p-Mentha-1,8-dien-7-yl acetate	LOC1, LOC5	8.28, 2.93
19	29,316	Tricyclo[4.4.0.0(2,8)]decane, 5-hydroxy-, acetate	LOC1, LOC2, LOC3, LOC4, LOC5, LOC7	5.28, 5.15, 13.30, 14.22, 9.53, 7.72
20	30,015	2-Cyclopenten-1-one, 4-hydroxy-3-methyl-2-(2-propenyl)-	LOC1	1.70
21	30,109	(-)-Caryophyllene oxide	LOC1, LOC2, LOC3, LOC4, LOC 5, LOC7, LOC8	1.94, 1.48, 10.94, 10.96, 4.58, 2.06, 4.05
22	30,249	2,2-Dimethyl-1-(3-oxo-but-1-enyl)-cyclopentanecarboxaldehyde	LOC5	2.5
23	30,484	10,12-Docosadiynedioic acid ditms	LOC6	2.80
24	30,262	1a,2,5,5-Tetramethyl-trans-1a,4a,5,6,7,8-hexahydro-gamma-chromene	LOC1	1.03
25	31,395	Cyclopentanol, 2-cyclopentylidene-	LOC1, LOC2, LOC7, LOC 8	7.04, 16.61, 9.22, 7.08
26	31,411	trans-5-Hydroxytricyclo[4.4.0.0(3,8)]-4-carboxylic acid	LOC4	8.38
27	31,477	Albuterol	LOC3	6.89
28	32,054	Pentanoic acid 1-methylpropyl ester	LOC3	0.31
29	33,766	1,5-Heptadien-4-ol, 3,3,6-trimethyl-	LOC2	2.32
30	33,955	Andrographolide	LOC6	3.91
31	34,175	Neoplatyphylline	LOC5	1.67
32	34,248	Succinic acid, 3,7-dimethyloct-6-en-1-yl heptadecyl ester	LOC2	1.92
33	34,282	Platyphylline	LOC7	8.05
34	35,521	2H-3,9a-Methano-1-benzoxepin, octahydro-2,2,5a,9-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,5a.alpha.,9.alpha.,9a.alpha.)]-	LOC3, LOC4, LOC5, LOC7	6.34, 1.47, 2.65, 17.46

35	37,186	Limonen-6-ol, pivalate	LOC1, LOC3, LOC5, LOC 8	1.20, 1.10, 1.17, 1.09
36	38,629	1-Propene-1,2,3-tricarboxylic acid, tributyl ester	LOC1, LOC2, LOC4, LOC5, LOC6, LOC8	2.08, 2.31, 1.80, 2.11, 1.73, 1.97
37	38,753	Decanedioic acid, dibutyl ester (CAS)	LOC1, LOC2, LOC3, LOC4, LOC5, LOC6, LOC8	7.31, 6.82, 7.59, 6.17, 5.49, 5.44, 6.18
38	39,244	Butyl citrate	LOC1, LOC2, LOC8	1.04, 1.90, 1.80
39	40,847	Tributyl acetylcitrate	LOC1, LOC2, LOC3, LOC4, LOC5, LOC6, LOC8	22.26, 20.58, 14.81, 18.22, 14.71, 19.13, 15.87
40	41,205	1-Docosanol (CAS)	LOC7	1.74
41	45,796	Benzyl-diethyl-(2,6-xylyl-carbamoylmethyl)-ammonium benzoate	LOC1, LOC2, LOC4, LOC5, LOC6, LOC8	2.58, 2.23, 2.06, 1.57, 2.31, 2.9
42	57,434	.gamma.-Sitosterol	LOC1, LOC7	2.47, 5.92
43	57,413	Stigmast-5-en-3-ol, (3.beta.)- (CAS)	LOC1, LOC2, LOC3, LOC4, LOC5	0.84, 1.21, 1.78, 1.10, 2.16

RT: Retention Time

Table 2. Macro and micro element contents of *Valeriana dioscoridis* plant collected from eight different locations  
Tablo 2. Sekiz farklı lokasyondan toplanan *Valeriana dioscoridis* bitkisinin makro ve mikro element içerikleri

LOCATIONS	N(%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)
Range values		0.15-0.50	1-6	1.5-2.5	0.3-1
LOC1	0.720±0.01 f	0.720±0.02 b-d	3.813±0.06 a	8.803±0.28 e	0.493±0.01 b
LOC2	0.876±0.02 d	0.560±0.01 d-e	2.130±0.01 c-d	3.420±0.02 c	0.880±0.01 a
LOC3	1.453±0.01 b	0.630±0.02 c-e	1.993±0.02 d	1.500±0.00 d	0.500±0.00 b
LOC4	0.800±0.01 e	0.513±0.01 e	2.010±0.01 d	1.500±0.03 c	0.600±0.00 b
LOC5	1.230±0.01 c	0.476±0.00 e	2.197±0.01 c	0.830±0.01 e	0.590±0.01 b
LOC6	1.733±0.04 a	0.950±0.00 a	1.330±0.01 e	0.220±0.00 a	0.510±0.00 b
LOC7	0.680±0.02 f	0.780±0.03 b-c	1.290±0.01 e	0.117±0.02 e	0.543±0.00 b
LOC8	1.287±0.00 c	0.880±0.01 a-b	3.433±0.02 b	0.083±0.01 b	0.527±0.00 b
Average	1.097	0.688	2.274	2.059	0.580
F	**	**	**	**	**
LSD	0.07554	0.1602	0.1602	0.1602	0.1602
CV (%)	3.99	1.25	0.61	4.58	0.79
LOCATIONS	Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	Raw Protein (%)
Range values	30-100	100-250	6-20	20-50	
LOC1	408.3±0.00 b	4186±3.53 c	28.26±0.15 f	52.63±0.17 d	4.443±0.06 f
LOC2	186.1±0.69 d	3668±6.23 e	24.31±0.15 g	42.37±0.23 f	5.533±0.10 e
LOC3	86.55±5.03 g	4116±2.35 d	44.70±0.18 d	59.44±0.37 c	9.060±0.06 b
LOC4	63.97±0.47 h	3073±1.27 g	29.42±0.48 f	51.91±0.33 e	5.333±0.10 e
LOC5	144.6±0.16 e	4662±14.47 a	47.74±0.31 c	70.79±0.26 a	7.620±0.06 d
LOC6	111.6±0.96 f	3126±12.48 f	36.75±0.63 e	40.75±0.22 g	10.60±0.00 a
LOC7	1200±4.08 a	4279±10.49 b	63.09±1.26 a	63.86±0.30 b	4.250±0.13 f
LOC8	284.7±0.82 c	4123±7.78 d	51.61±0.18 b	35.87±0.41 h	8.060±0.00 c
Average	310.73	3904.1	40.73	52.20	6.862
F	**	**	**	**	**
LSD	3.535	13.95	1.523	0.5123	0.3462
CV (%)	0.67	0.21	2.21	0.58	3.00

CV (%): Coefficient of Variation, Standart sapmanın ortalamaya göre % değişimi [CV= 100•(s/x)], LSD: Least Significant Difference.

Different micronutrients, such as Mg, Ca, Fe, Zn, Mn and Cu were found in the range of 0.3-1, 1.5-2.5, 100-250, 20-50, 30-100 and 6-20 mg kg<sup>-1</sup>, respectively. The limit value of the micronutrients such as Zn, Mn and Cu are in the range of 23.2-39.4, 55-104.3 and 4.8-13.5 µg g<sup>-1</sup>, respectively (Petenatti et al., 2011). It was determined that the obtained data, for Zn and Cu exceeded the limit values in plants grown in different environments. The maximum Cu content of *V.*

*dioscoridis* was in LOC 7 (63.09 mg kg<sup>-1</sup>), the highest Zn content of the *V. dioscoridis* was in LOC 5 (70.79 mg kg<sup>-1</sup>). Furthermore, the highest Mn and Fe contents of the *V. dioscoridis* were determined as 1200 mg kg<sup>-1</sup> in LOC 7 and 4662 mg kg<sup>-1</sup> in LOC 5, respectively. According to Ekbiç et al. (2017) determined that the Fe (1384-2092 ppm) content in the root of the cucumber plant was very high.

## Antioxidant activity

### DPPH and ABTS radical scavenging activity

Chemical components which have a reactive structure because of an imbalance in the structures and which are found in an unmatched electron in the orbit of an atom or electron, are known as free radicals. These may interact with all the components forming the cell and may cause a deterioration in the functions of the biological molecules. Free radicals are formed in the body with the natural metabolism and are eliminated with antioxidants taken in externally or with the organism's own antioxidant system. However, when the metabolic system cannot combat the free radicals, cytotoxicity develops with the formation of oxidative stress. Consequently, free radicals may cause several severe diseases such as cardiovascular diseases and cancer (Halliwell, 1997; Yen and Wu, 1999; Halvorsen et al., 2002; Inglet et al., 2011; İçli 2017).

During this study, high absorbance values and low

antioxidant activity was observed during the radical scavenging activity analysis. Data obtained with the microplate reader were evaluated in the light of the information, and the DPPH and ABTS radical scavenging capability percentage of extracts of the *V. dioscoridis* plants collected from eight different locations are illustrated in Fig 1. The scavenging effect of extract on DPPH radical increased with increasing concentration from 0.1 to 2.0 mg ml<sup>-1</sup>, although this was lower than the standard gallic acid.

As the passage of both polar and nonpolar substances could be provided, generally 80 % ethanol or methanol extract showed more antioxidant activity for different in vitro systems. This may have been because 80% ethanol/methanol is the best extraction solvent for phytochemical compounds.

The radical scavenging activities of 80 % ethanol extracts are presented in Figure 1.

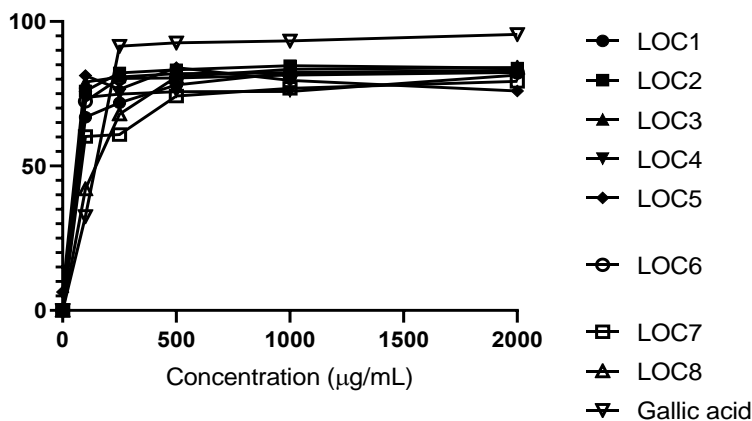
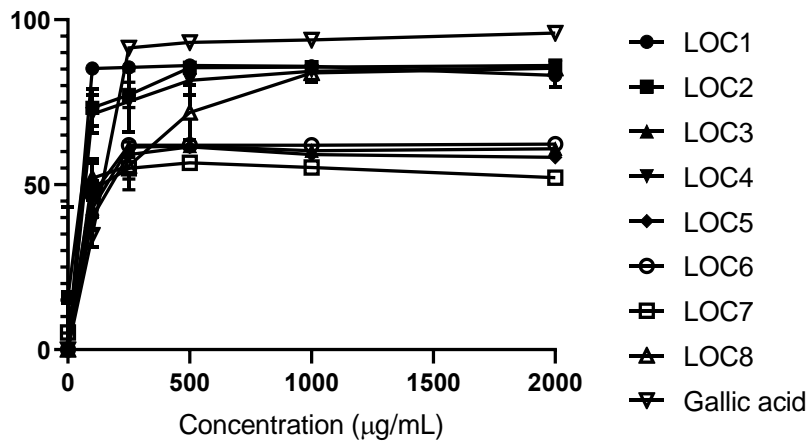


Figure 1. (1) DPPH radical scavenging activity of 80% ethanol extracts of *Valeriana dioscoridis* plants collected from eight different locations, (2) ABTS radical scavenging activity of 80% ethanol extracts of *Valeriana dioscoridis* plants collected from eight different locations

Şekil 1. (1) Sekiz farklı lokasyondan toplanan *Valeriana dioscoridis* bitkisinin % 80 etanol ekstraktının DPPH radikal süpürücü etkisi (2) Sekiz farklı lokasyondan toplanan *Valeriana dioscoridis* bitkisinin % 80 etanol ekstraktının ABTS radikal süpürücü etkisi

When the results of the analysis made according to DPPH method were evaluated, the highest antioxidant

effect was present in the samples of LOC 1, where the most components were determined in the chemical



composition structure and the lowest antioxidant effect was seen in the samples of *V. dioscoridis* collected from LOC 7. When the results of the analysis were compared with ABTS radical scavenging activity method, the antioxidant activity results, even if lower than the reference substance, were determined to be at a level that could be said to be an antioxidant effect. According to Karadeniz et al (2015), the aqueous extracts of *V. dioscoridis* have an antioxidant effect.

### Total Flavonoid Content (TFC) and Total Phenol Content (TPC)

Phenolic components are defined as the two sub-classes of flavonoids and phenolic acids, which are found in many hydroxyl groups in at least one aromatic ring. Flavonoids are polyphenolic antioxidants found in the natural structures of fruit, vegetables and herbal teas (Naczk and Shahidi, 2004).

Generally, biological activity such as antioxidant activity is mostly related to components such as flavonoids and phenolic acids (Saddiqe et al., 2010). In this study, evaluation was made to explore the differences in the total phenol and flavonoid values of

the *V. dioscoridis* collected from different locations. Results revealed that total flavonoid value could not be determined in any of the plants collected from any of the locations, while the highest phenol content was determined in LOC 8, followed by LOC 3 (Figure 2).

### Antimicrobial Activities

The antimicrobial activity results of all the *V. dioscoridis* extracts are shown in Table 3. According to the results, there was not much difference between the extracts in terms of antimicrobial activity. The antimicrobial activity of plant extracts are accepted significant if the MIC value is  $\leq 0.1$  mg ml<sup>-1</sup>, moderate if MIC is 0.1 - 0.625 mg ml<sup>-1</sup> and weak if MIC > 0.625 mg ml<sup>-1</sup> (Kuethe, 2010; Awouafack et al., 2013). Among the tested micro-organisms, *S. aureus* was more susceptible to some extracts, with MIC values ranging between 0.312 and >2.5 mg mL<sup>-1</sup>. The MIC values of ethanol extract from LOC2, LOC5, LOC6, LOC7 and LOC8 were found to be moderate. The results of the microdilution broth assay for *B. cereus* showed that the best result was observed in the samples from LOC8 (0.625mg mL<sup>-1</sup>) against all the tested micro-organisms.

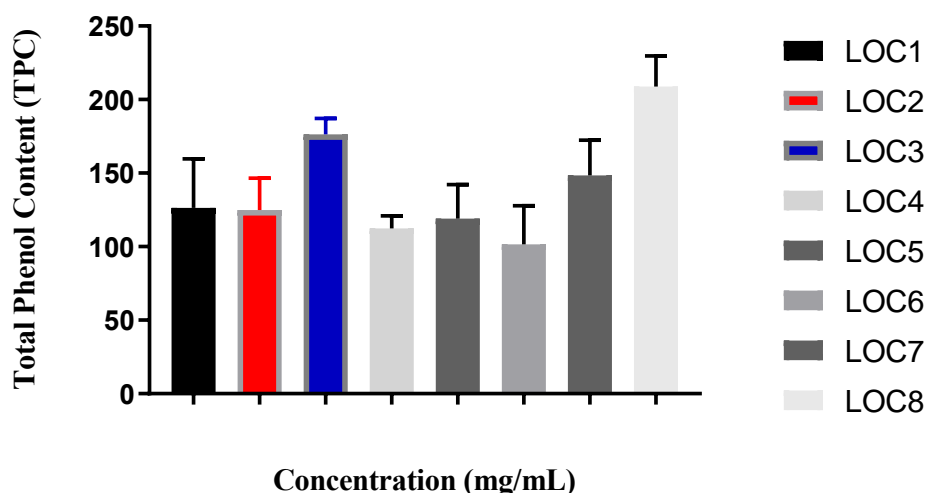


Figure 2. Total phenol content of the 80% ethanol extracts of *Valeriana dioscoridis* plants collected from eight different locations  
 Şekil 2. Sekiz farklı lokasyondan toplanan *Valeriana dioscoridis* bitkisinin % 80 etanol ekstraktının Toplan fenol içeriği

Table 3. Antimicrobial capacity (MIC (minimum inhibitor concentration)) of the 80% ethanol extracts of *Valeriana dioscoridis* plants collected from eight different locations

Tablo 3. Sekiz farklı lokasyondan toplanan *Valeriana dioscoridis* bitkisinin % 80 etanol ekstraktının antimikrobiyal aktivite (MIC (minimum inhibitor konsantrasyon)) kapasitesi

Growing area	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (µg/ml)	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (µg/ml)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 (µg/ml)	<i>B. cereus</i> ATCC11778 (µg/ml)	<i>C. albicans</i> ATCC10231 (µg/ml)	<i>C. tropicalis</i> DSM11953 (µg/ml)
LOC1	>2.5	>2.5	>2.5	1.25	>2.5	>2.5
LOC2	>2.5	0.312	>2.5	1.25	>2.5	>2.5
LOC3	>2.5	>2.5	>2.5	1.25	>2.5	>2.5
LOC4	>2.5	>2.5	>2.5	1.25	>2.5	>2.5
LOC5	>2.5	0.625	>2.5	1.25	>2.5	>2.5
LOC6	>2.5	0.312	>2.5	1.25	>2.5	>2.5
LOC7	>2.5	0.312	>2.5	1.25	>2.5	>2.5
LOC8	>2.5	0.312	>2.5	0.625	>2.5	>2.5

## CONCLUSION

In this study, the antioxidant, antimicrobial and nutrient contents of *Valeriana dioscoridis* plants grown in different locations were investigated. Maximum chemical components were present in LOC 1 and minimum in LOC 8. Generally, the amount of plant macro and micro nutrient elements were moderate in all growing conditions but wasn't obtained in the same proportions in plants grown in all environments. The highest antioxidant effect was observed in LOC 1, but there were no significant different value for antioxidant activity between the locations. Maximum phenol contents were observed in LOC 8, followed by LOC 3. The results of the microdilution broth assay for *B. cereus* showed that the best result was in the samples from LOC 8 against all the tested micro-organisms. Oxidative stress is associated with many chronic disease. Therefore, herbal products can play an important role in the management of these diseases due to the rich antioxidant compound content. However, the synthesis of the secondary metabolites, which are responsible for the main effect in the plant, varies according to the regions where the plant grows, so the biological effect of the plant also changes. In this regard, the *V. dioscoridis* plants of in different locations were evaluated and it was determined that the different locations were created differences in the content values of the plant.

## Author contributions

Concept – E.U., M.A., Y.Ç., İ.Ç., N.E., T.K.; Design – E.U., M.A., Y.Ç., İ.Ç., Supervision – E.U., N.E.; Resources – E.U., M.A., Y.Ç., İ.Ç., N.E.; Materials – İ.Ç.; Data Collection and/or Processing – E.U., M.A., Y.Ç., N.E.; Analysis and/or Interpretation – E.U., M.A., Y.Ç., İ.Ç., N.E., T.K.; Literature Search – E.U., M.A., Y.Ç., İ.Ç., N.E.; Writing – E.U., M.A., Y.Ç., İ.Ç., N.E., T.K.; Critical Reviews – E.U., M.A., Y.Ç., İ.Ç., N.E., T.K.

## Conflict of interest statement

The authors declared no conflict of interest.

## REFERENCES

Aktaş M, Ateş A 1998. Bitkilerde Beslenme Bozuklukları Nedenleri Tanınmaları. Nurol Matbaacılık A.Ş. Ostim-Ankara.

Awouafack MD, McGaw LJ, Gottfried S, Mbouangouere R, Tane P, Spiteller M, Eloff JN 2013. Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of the Ethanol Extract, Fractions and Eight Compounds Isolated from *Eriosema robustum* (Faba-ceae). BMC Complem Altern M, 13:289.

Blois MS 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181:1199-2000.

Bogacz A, Mrozikiewicz PM, Karasiewicz M, Bartkowiak-Wieczorek J, Majchrzycki M, Mikolajczak PL, Ozarowski M, Grzeskowiak E 2014. "The Influence of Standardized *Valeriana officinalis* Extract on the CYP3A1 Gene Expression by Nuclear Receptors in *In Vivo* Model". Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Article ID 819093, 7 pages.

Bremner JM 1965. "Method of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Methods". American Society of Agronomy Inc. Madison, Wise USA, 1149-1178.

Bulut Y 2006. Useful Plants of Manavgat (Antalya) Region. Süleyman Demirel University. Institute of Science, Department of Biology. Master Thesis. Isparta. 107 p. Isparta.

Ceylan A 1987. Tıbbi Bitkiler II., Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 481, İzmir.

Clarke G, Ting K, Wiart C, Fry J 2013. High Correlation of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Radical Scavenging, Ferric Reducing Activity Potential and Total Phenolics Content Indicates Redundancy in Use of All Three Assays to Screen for Antioxidant Activity of Extracts of Plants from the Malaysian rainforest. Antioxidants, 2(1): 1-10.

CLSI 2002. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard (2nd ed.). Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CLSI 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Standard. In CLSI (2nd ed.). Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Davis PH, Mill RR, Tan K 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. 10:155, Edinburgh Univ. Press., Edinburgh.

Dimpfel W 2007. Acute Effect of a Valerian Root Extract on Depth of Sleep in Humans (German). Z Phytother, 28(1): 7-15. Abstract from CABA 2008:183113.

Ekbıç E, Fidan H, Selim E 2017. The Effect of Cucumber Mosaic Virus (CMV) on Plant Nutrient Content in Cucumber. Academic Journal of Agriculture, 6: 263-268.

Eloff JN 1998. A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine The Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts For Bacteria. Planta Med. 64: 711-713.

Eruygur N, Dural E 2019. Determination of 1-Deoxyojirimycin by a Developed and Validated HPLC/FLD Method and Assessment of In-Vitro Antioxidant, A-Amylase and A-Glucosidase Inhibitory Activity in Mulberry Varieties from Turkey. Phytomedicine, 53: 234-242.

- Guarrera PM, Lucchese F, Medori S 2008. Ethnophytotherapeutical Research in the High Molise Region (Central-Southern Italy). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 4(1): 1-11.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC 2000. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. 11: 147, Edinburgh Univ. Press., Edinburgh.
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT (edlr) 2012. *Turkey Plants List (Vascular Plants)*. Publication of Nezahat Gökyiğit Botanical Garden and Flora Research Association, Istanbul.
- Güzel N, Gülüt KY, Ortaş İ, İbrikçi H 1992. "Soil Productivity Analysis Methods Laboratory Handbook". Faculty of Agriculture Yay. No: 117, Adana.
- Halvorsen B, Holte K, Myhrstad M, Barigmo I, Hvattum E, Remberg S 2002. A Systematic Screening of Total Antioxidants in Dietary Plants. *J. Nutr*, 132 (3): 461-471.
- Halliwell B 1997. Antioxidant and Human Disease: A General Introduction. *Nutrition Reviews*, 55(1): 44-52.
- Inglot GE, Chen D, Berhow M, Lee S 2011. Antioxidant Activity of Commercial Buck Wheat Flours and Their Free and Bound Phenolic Compositions. *Food Chem.*, 125: 923-929.
- İçli N 2017. Determination of Total Phenolic Compounds, Total Antioxidant Capacity and Total Flavonoid Compounds in Apple Sour. *Health Academy Kastamonu*, 2(2): 89-99.
- Karadeniz A, Çinbilgel İ, Gün SŞ, Çetin A 2015. Antioxidant activity of Some Turkish Medicinal Plants. *Nat. Prod. Res.*, 29(24): 2308-2312.
- Kuete V 2010. Potential of Cameroonian Plants and Derived Products Against Microbial Infections: a review. *Planta Med.* 76: 1479-1491.
- Lopez-Munoz F, Alamo C, Garcia-Garcia P 2006. The Herbs That Have the Property of Healing...": The Phytotherapy in Don Quixote. *Journal of Ethnopharmacology* 106: 429-441.
- Molan AL, Mahdy AS 2014. Iraqi Medicinal Plants: Total Flavonoid Contents, Free-Radical Scavenging and Bacterial Beta-Glucuronidase Inhibition Activities. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 13(5): 72-7.
- Murphy L, Riley JP 1962. "A Modified Single Solution Method for the Determination of Phosphate in Natural Waters". *Analytica Chimica Acta*, 27: 31-36.
- Nacz M, Shahidi F 2004. Extraction and Analysis of Phenolics in Food. *J. Chromatogr A*, 1054: 95-111.
- Petenatti ME, Petenatti EM, Del Vitto LA, Téves MR, Caffini NO, Marchevsky EJ, Pellerano RG 2011. Evaluation of Macro and Microminerals in Crude Drugs and Infusions of Five Herbs Widely Used as Sedatives. *Rev. Bras Farmacog*, 21(6): 1144-1149.
- Piccinelli AL, Arana S, Caceres AD, Sorrentino R, Rastrelli L 2004. "New Lignans from the Roots of *Valeriana prionophylla* with Antioxidative and Vasorelaxant Activities". *J.Nat Prod.*, 67: 1135-1140.
- Plaster EJ 1992. *Soil Science and Management*. 2nd Edition, Delmar Publishers Inc., Albany, New York, USA.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannalaa A, MinYang Rice-Evans C, Rice-Evans 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26: 1231-1237.
- Richardson IBK 1972. *Valeriana L*. In: Davis, P.H. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 4: 551-558. Edinburgh Univ. Press., Edinburgh.
- Sacchetti G, Maietti S, Muzzoli M, Scaglianti M, Manfredini S, Radice M, Bruni R 2005. Comparative Evaluation of 11 Essential Oils of Different Origin as Functional Antioxidants, Antiradicals and Antimicrobials in Foods. *Food Chem.*, 91: 621-632.
- Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A 2010. A Review of the Antibacterial Activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol*, 131(3): 511-521.
- Tzakou O, Couladis M, Pavlovic M, Sokovic M 2004. Composition and Antifungal Activity of The Oil from Aerial Parts and Rhizomes of *Valeriana dioscoridis* from Greece. *J. Essent. Oil Res.*, 16 (5): 500-503.
- Yen GC, Wu JY 1999. Antioxidant and Radical Scavenging Properties of Extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chem.*, 65: 375-379..

## Milli Pompalarda Dalma Derinliği Değişiminin Bazı Pompaj Parametrelerine Etkileri

Nuri ORHAN<sup>1</sup>, Ali Yavuz ŞEFLEK<sup>2</sup>, Osman ÖZBEK<sup>3</sup>

Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Makineleri ve Teknolojileri Mühendisliği Bölümü

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-9987-1695>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-1009-6635>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0003-0034-9387>

✉: [nuriorhan@selcuk.edu.tr](mailto:nuriorhan@selcuk.edu.tr)

### ÖZET

Bu çalışmada milli pompaların farklı dalma derinliklerinin pompaj parametrelerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Farklı anma çapına sahip üç adet milli pompanın ( $M_1, M_2, M_3$ ) üç farklı su giriş alanlarında ( $KA_1, KA_2, KA_3$ ) ve farklı dalma derinliklerinde (S) pompaların debi (Q), çıkış basıncı (Pb), şebekeden çekilen güç (N) ve gürültü seviyeleri (G) ölçülmüş, toplam dinamik yükseklik (TDY) değeri ise hesaplanmıştır. Her üç milli pompa anma çapı ve su giriş kesit alanı seviyelerinde debinin artması ile TDY değerleri azalmıştır.  $M_1$  (Ø 78 mm),  $M_2$  (Ø 105mm) ve  $M_3$  (Ø 128 mm) pompalarının tüm debi, su giriş kesit alanları ve farklı dalma derinliklerinde şebekeden çektikleri güç ortalamaları sırasıyla 5.06-5.2-7.21 kW, gürültü seviyeleri ortalamaları ise sırasıyla 78.58-80.06 ve 81.2 dBA olarak ölçülmüştür. Pompa anma çaplarının artması hem şebekeden çekilen güç değerlerini hem de gürültü seviyelerini artırmıştır. Pompaların şebekeden çektikleri güç bakımından %20 büyütülmüş su giriş kesitinin, gürültü seviyesi bakımından ise orijinal su giriş kesitinin kullanılmasının uygun olduğu ortaya çıkmıştır. Dalma derinliklerinin çok düşürülmesi sonucu vorteks oluşmuş ve pompalara hava girişi olmuştur. Bu durumun sonucunda TDY ve şebekeden çekilen güç değerlerinde ani azalmalar, gürültü seviyelerinde ani yükselmeler ölçülmüştür. Pompaların TDY, çektikleri güç ve gürültü seviyeleri değişimlerinin düzenli takibi ile verimli çalışmaları sağlanabilir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 04.05.2020

Kabul Tarihi : 03.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

Dalma Derinliği

Gürültü

Vorteks

Milli Pompalar

## Effects of Submergence Change in Shaft Pumps on Some Pump Parameters

### ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effects of different plunging depths of the shaft pumps on the pumping parameters. In three different nominal diameters of pumps ( $M_1, M_2, M_3$ ) three different water inlet areas ( $KA_1, KA_2, KA_3$ ) and in different submergence (S) output pressure (Pb), power and noise levels were examined, the pumps total dynamic head (TDH) were calculated. TDH values decreased with the increasing flowrate of the pumps in each nominal diameter and water inlet cross-section.  $M_1$  (Ø 78 mm),  $M_2$  (Ø 105 mm) and  $M_3$  (Ø 128 mm) pumps average power drawn from the mains in all flow, water inlet cross-section and different submergence were measured as 5.06-5.2-7.21 kW and noise levels averaged as 78.58-80.06 and 81.2 dBA, respectively. Increasing the pump nominal diameters increased both the power values drawn from the network and the noise levels. In the pumps, it has been found that it was appropriate to use the water inlet section 20% enlarged in terms of the power drawn from the mains, and the water inlet section original in terms of the noise level. As a result of the very low submergence, vortices have formed and air enters the pumps. As a result of this situation, a sudden decrease in power drawn from the mains and TDY values, a sudden increase in noise levels were measured. Efficient operation can be achieved by measuring regularly the changes in power drawn from the mains, TDY and noise levels of the pumps.

### Research Article

#### Article History

Received : 04.05.2020

Accepted : 03.12.2020

#### Keywords

Submergence

Noise

Vortex

Shaft Pumps





Derin kuyu ile depo arasına çapı 4" ve 6" olan iki adet boru bağlanarak kuyunun beslenmesi sağlanmıştır.

Deneylerde kullanılan düşey tip derin kuyu pompalarının pompa grubu Şekil 2'de ve pompalara ait bazı teknik özellikler ise Çizelge 1'de verilmiştir.

Deneylerde milli pompaların tahrik edilmesinde kullanılan dik milli elektrik motorunun (Siemens)

gücü, çektiği akım değeri ve devir sayısı sırasıyla 5.5 kW, 11.1 A ve 2910 min<sup>-1</sup>'dir.

Tüm milli pompaların deneme kombinasyonlarında 2000 mm uzunluğunda bir adet kolon borusu kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan ölçüm aletlerinin bazı teknik özellikleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 1. Milli pompaların teknik özellik ve ölçüleri

Table 1. Technical characteristics and dimensions of shaft pumps

Pompa tipleri	3"	4"	5"
Pompa anma çapı (mm) ( <i>Pump nominal diameter</i> )	78	105	128
Pompa gövde malzemesi ( <i>Material of pump body</i> )	Pik	Pik	Pik
Pompa çark malzemesi ( <i>Material of pump impeller</i> )	Pirinç	Pirinç	Pirinç
Pompa mil malzemesi ( <i>Material of pump shaft</i> )	Paslanmaz çelik	Paslanmaz çelik	Paslanmaz çelik
Giriş kesit alanı (KA <sub>2</sub> ) (cm <sup>2</sup> ) ( <i>Input cross-sectional area</i> )	72	90	108
Pompa mili çapı (mm) ( <i>Diameter of pump shaft</i> )	25	25	25
Pompa kademe sayısı ( <i>Number of pump stage</i> )	2	1	1
Klerens (mm) ( <i>Clearance</i> )	4.5	4.5	4.5
Kanat sayısı (adet) ( <i>Blade number</i> )	5	5	5
Kanat kalınlığı (mm) ( <i>Blade thickness</i> )	5	5	5
Çark çıkış çapı (mm) ( <i>Impeller outlet diameter</i> )	93.5	136	150
Çark çıkış genişliği (mm) ( <i>Impeller output width</i> )	15	16	17.5

Çizelge 2 Kullanılan ölçme aletlerinin bazı teknik özellikleri

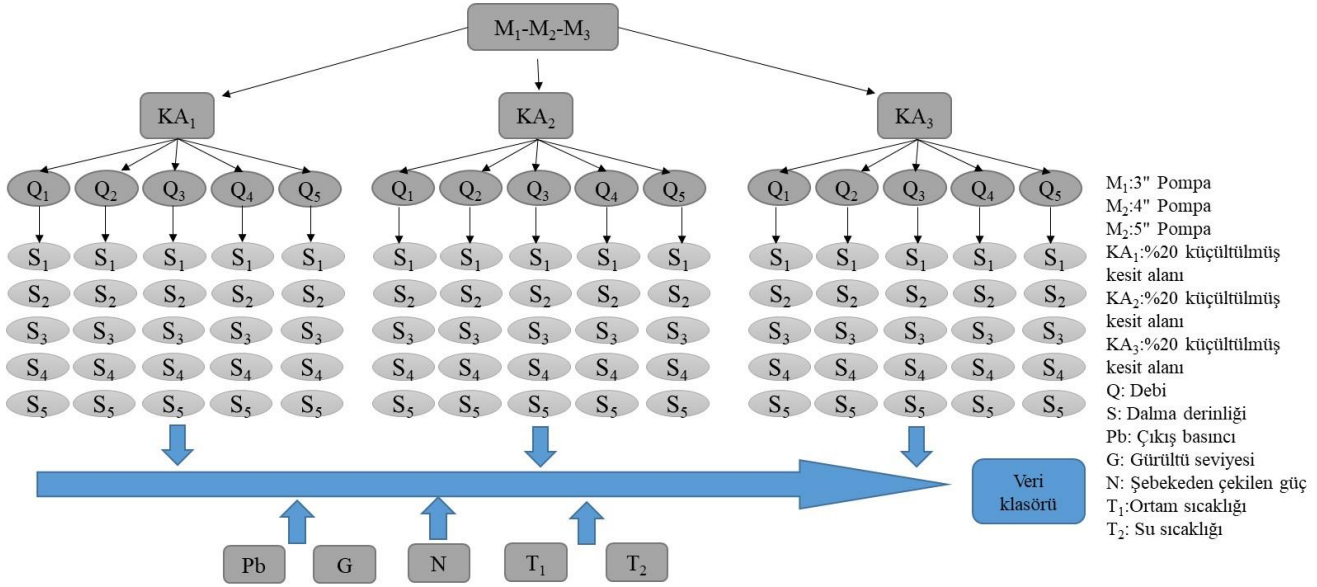
Table 2. Some technical features of measuring instruments used

Ekipman cinsi	Bazı teknik özellikleri
Debimetre ( <i>Flowmeter</i> )	S MAG 100 TİP, DN 80-100-125 flanş bağlantılı elektromanyetik debimetre, 220 V beslemeli dijital göstergeli, anlık debi, yüzde akış ve toplam gösterimli. Ayarlanabilir 4-20 m/A plus ve frekans çıkışlı. Ölçüm hatası %0.5
Manometre ( <i>Manometer</i> )	WİKA, 0-10 bar, Alttan Bağlantılı, 4-20 m/A çıkışlı.
Seviye ölçer ( <i>Level meter</i> )	Hydrotechnik marka, 010 tip/1.5 V, 150 m'lik ölçeklendirilmiş kablolu, ses ve ışık ikazlı tip.
Gürültü ölçer (Noise meter)	CT-2012 model, giriş 4 mA, güç kaynağı çıkışı DC 24V, Transmitter modeli : TR-SLT1A4, Ölçüm aralığı:30-80 dBA, 50-100 dB, 80-130 dB, çıkış 4-20 mA, 90-260 ACV 50Hz/60Hz.
Sıcaklık ( <i>Temperature sensors</i> )sensörleri	Turck marka, 10-24 VDC, -50...100 °C, 4-20mA output.
Bilgisayar ( <i>Computer</i> )	Asus intel core i7.

## Yöntem

Denemelerde debi, pozitif basınç, şebekeden çekilen güç, gürültü ve sıcaklık gibi fiziksel büyüklüklerin kaydedilmesi için yazılım ve otomasyon sistemi kullanılmıştır. Sensörlerden alınan bilgiler merkezi bir veri toplama kartı üzerinden kablosuz (Bluetooth) olarak Bilgisayar'a aktarılmaktadır. Merkezi işlemcide depolanan bilgiler bilgisayarda hazırlanan yazılım ara yüzü aracılığı ile operatör tarafından istenilen aralıklarda uygun isimlerle kayıt edilmektedir. Kayıt etme işlemi, saniyede birer adet verileri alabilecek tarzda hazırlanmıştır. Pompa rejime girdikten sonra kayıt işlemine başlanılmış ve bir sensör den 50 adet veri alınmıştır.

Pompaların optimum çalışma devrinde ve her bir pompanın 5 değişik debi aralığında ve 5-7 farklı dalma derinliği seviyesinde ölçümler alınmıştır. Pompa belirlenen herhangi bir debi değerinde çalıştırılarak ilk değerler kayıt altına alındıktan sonra kuyu besleme borularında bulunan vanaların (Şekil 1) kısılması ile dalma derinliği seviyesi değiştirilmiştir. Dalma derinliğinin değişmesi ile değişen debi değeri çıkış borusundaki vana ile tekrar eski haline getirilerek dalma derinliği seviyesi için kayıt işlemi yapılmıştır. Bu şekilde bir debi değeri için 5-7 farklı dalma derinliğinde değerler alınmıştır. Çalışmaya ait deneme planı Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Deneme deseni  
Figure 2. Test design

Pompa 1880 mm sabit hidrolik yük altında denemelere başlanmıştır. Pompa işletme karakteristiklerinin ölçülmesinde ve yapılan hesaplamalarda ilgili standartlar ve literatür dikkate alınmıştır (Tezer 1978; Baysal 1979; Atmaca 1998; Karassik ve ark. 2001; Anonim 2002; Çalışır 2009) Gürültü seviyesi, gürültü ölçme cihazı ile kule kumanda merkezi platformundan pompa kolonu ile kapalı teçhiz borusu arasındaki boşluktan ölçülmüştür (Çdina 2003; Çudina ve Prezelj 2009; Maxime ve Chen Li 2016). Gürültü ölçüm cihazı teçhiz borusu içerisine yerleştirildiği için dış çevre ortamında oluşacak seslerden izole edilmiştir.

Pompaların orijinal giriş ağız kesit alanına ek olarak, kesit alanını büyütme için bir adet daha alt adaptör kullanılmıştır. Bu adaptöre geçirilen burç yardımıyla küçük kesit elde edilmiştir (Şekil 3). Çizelge 3’de kesit alanlarının (KA) büyüklükleri verilmiştir.

Pompaların farklı kesit alanlarına, pompanın alt adaptörlerine, kesit şekli bozulmaksızın müdahale

edilerek hazırlanmıştır. Pompaların, farklı her bir anma çapı için birer adet (toplam 6 adet) alt adaptör temin edilmiştir. Bunlardan birer tanesi her bir pompa için orijinal kesit alanına sahip (KA<sub>2</sub>) alt adaptör olarak kullanılmıştır. Diğer her bir alt adaptör, pompa anma çapı için orijinal kesit alanına göre yaklaşık %20 daha büyük kesit alanı oluşturacak şekilde genişletilerek KA<sub>3</sub> ölçülerinde elde edilmiştir.

Denemeler süresince ortam sıcaklığı ortalaması 18 °C ve suyun ortalama sıcaklığı ise 14 °C olarak ölçülmüştür. Pompalar çalıştırılmadan önce 1880 mm sabit hidrolik yük ve 890 mm statik su seviyesi yüksekliklerine ayarlanmıştır.

Araştırmada pompaların farklı anma çapları, su giriş kesit alanları (KA) ve dalma derinliklerinde (S) toplam dinamik yükseklik (TDY), kuyu içindeki gürültü seviyesi (G), şebekeden çekilen güç (N) değerleri incelenmiştir.



Şekil 3 M<sub>1</sub> pompasına ait farklı giriş ağız kesit alanları (a: %20 büyütülmüş, b: orijinal, c: %20 küçültülmüş) ve değiştirme burcu (d)  
Figure 4. Different inlet cross-sectional areas (a: 20% magnified, b: original, c: 20% reduced) and replacement device of the M1 pump

Çizelge 3 Pompalar ve pompa giriş kesit alanları (mm<sup>2</sup>)  
Table 3. Pumps and pump inlet cross-sectional areas (mm<sup>2</sup>)

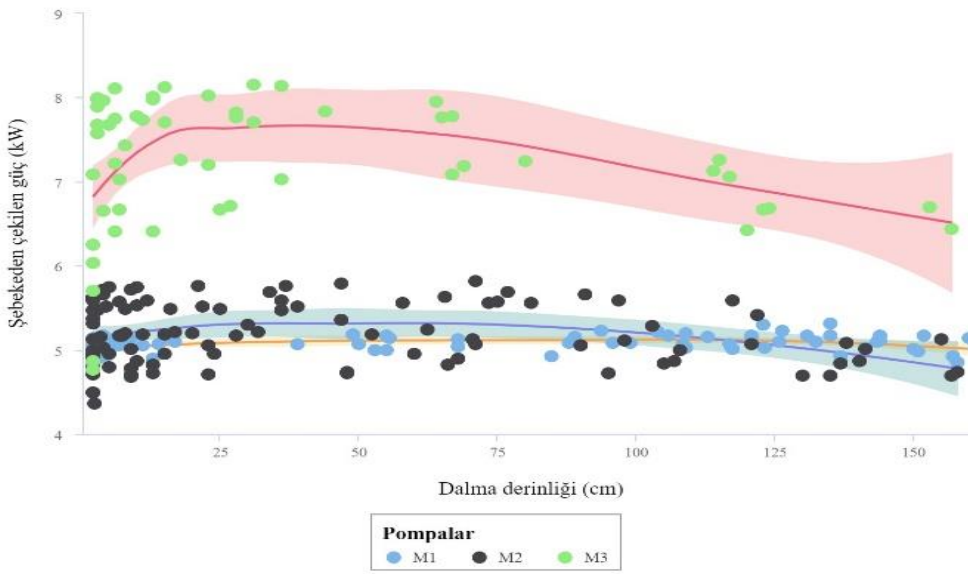
Pompalar (Pumps)	KA <sub>1</sub> (%20 küçük) (%20 Small)	KA <sub>2</sub> (Orjinal) (Orginal)	KA <sub>3</sub> (%20 büyük) (%20 large)
M <sub>1</sub>	3800	4800	5800
M <sub>2</sub>	7200	9000	10800
M <sub>3</sub>	13500	16800	20000

## BULGULAR ve TARTIŞMA

Pompaların tüm debi değerlerinde ve kesit alanlarında dalma derinliğine bağlı olarak: gürültü seviyesinin ve

şebekeden çekilen güç değerlerinin saçılım grafiği incelenmiştir (Şekil 4).

Pompalara ait genel değerlendirme açısından pompa anma çapı arttıkça şebekeden çekilen güç değerleri de genel olarak artmıştır (Şekil 4). M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> ve M<sub>3</sub> pompalarının su giriş kesit alanları ve debilerinde şebekeden çektikleri güç ortalamaları sırasıyla 5.06-5.20-7.21 kW olarak ölçülmüştür. Pompaların dalma derinliğinin belirli bir seviyeye kadar azalması şebekeden çekilen güç değerlerini genel olarak artırırken dalma derinliklerinin daha da azalması ile şebekeden çekilen güç değerlerinde ani azalmalar saptanmıştır.



Şekil 4. Pompaların dalma derinliği ile şebekeden çekilen güç değerleri arasındaki ilişkinin saçılım grafiği  
Figure 4. Scatter plot belonging to values of submergence and power drawn from the mains the pumps.

Pompaların dalma derinliğine ve gürültü seviyesine ait saçılım grafiği Şekil 5'de verilmiştir. M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> ve M<sub>3</sub> pompalarının su giriş kesit alanları ve debilerinde gürültü seviyeleri ortalamaları sırasıyla 78.58, 80.06 ve 81.2 dBA olarak ölçülmüştür. Pompa anma çapı arttıkça ortalama gürültü seviyesi değeri de artmıştır. Şekil 5 'de görüldüğü gibi pompalarda gürültü seviyesi dalma derinliğine bağlı olarak çok değişim göstermemiştir. Ancak çok düşük dalma derinliklerinde pompalara hava girmesi gürültü seviyesini yükseltmiştir.

## Dalma derinliği değişiminin toplam dinamik yükseklik (TDY) üzerine etkisi

Pompa çıkış basıncı (Pb) değerleri, toplam dinamik yüksekliğin hesaplanmasında kullanılan önemli bir parametredir. Bu nedenle milli pompaların deneme kombinasyonlarında ölçülen Pb değerleri yardımıyla, toplam dinamik yükseklik (TDY) değerleri

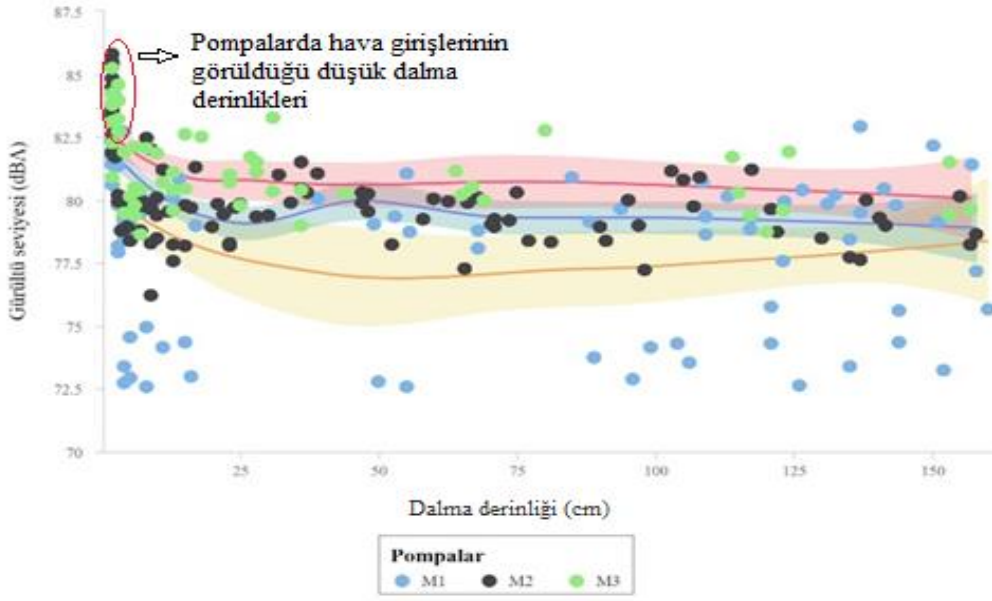
hesaplanmış olup değişimleri Şekil 6'da verilmiştir. Denenen milli pompaların sabit debi değerlerinde farklı dalma derinliği seviyelerinde oluşan TDY değerlerinin ortalaması en yüksek 201.6 kPa ile M<sub>3</sub>KA<sub>2</sub> kombinasyonunda 40 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>'lik debi değerinde elde edilirken, en düşük TDY değeri ortalaması ise 86 kPa değer ile M<sub>2</sub>KA<sub>2</sub> kombihasyonunda 80 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>'lik debi değerinde elde edilmiştir. Her üç milli pompa anma çapı ve giriş kesit alanı seviyelerinde debinin artması ile TDY değerleri azalmıştır.

Dalma derinliğinin toplam dinamik yükseklik (TDY) üzerine etkisi genel olarak değerlendirildiğinde, pompa çıkış basıncı değerinin (Pb) aynı debi değerinde düşük dalma derinliklerinde ani olarak düşmesine bağlı TDY değerlerinde de ani düşüşler gözlenmiştir. TDY değerlerindeki ani düşüşler sonucunda pompa verimi olumsuz etkilenmektedir. Yapılan çalışmalarda, yetersiz dalma derinliklerinde vorteks oluşma riskinin bulunduğunu ve emme hattına hava

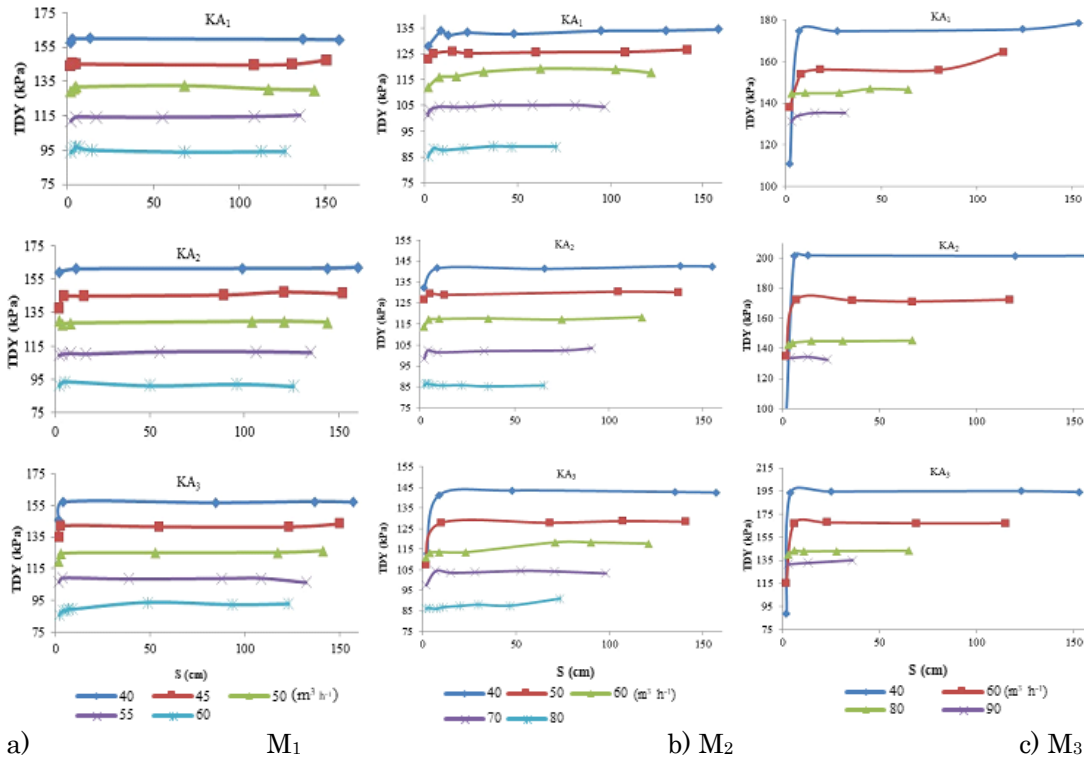


girişinin olabileceğini, böylece pompa veriminde azalmalar görülebileceğini Yildirim ve Kocabaş (1998),

Hanson (2000), Karassik ve ark. (2001) araştırmalarında bildirmişlerdir.



Şekil 5. Pompaların dalma derinliği ile gürültü seviyesi arasındaki ilişkinin saçılım grafiği  
Figure 5. Scatter plot belonging to values of submergence and noise level the pumps.



Şekil 6. Pompaların ve kesit alanlarının dalma derinliğine bağlı toplam dinamik yük (TDY) değişimi  
Figure 6. Total dynamic load (TDY) change depending on the submergence of the pumps

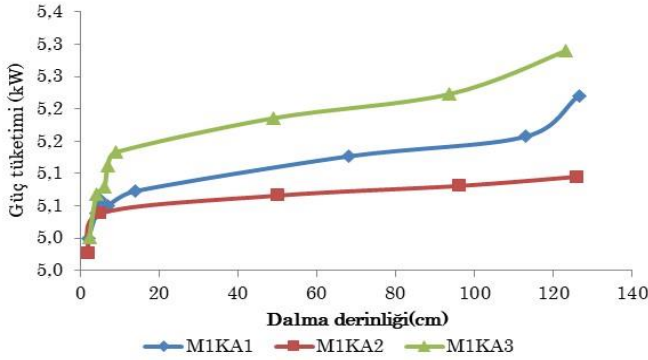
### Dalma derinliğinin çekilen güç üzerine etkisi

Denemeye alınan milli pompaların sabit debi değerlerinde farklı dalma derinliği seviyelerinde çekilen güç değerlerinin ortalamaları incelendiğinde, en yüksek değer 8.09 kW ile M3KA<sub>1</sub> kombinasyonunda 90 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> debi değerinde elde edilirken, en düşük çekilen güç değeri ise 4.65 kW ile M<sub>2</sub>KA<sub>3</sub>

kombinasyonda 40 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> debi değerinde elde edilmiştir. M<sub>3</sub> pompasının güç tüketim değerinin yüksek çıkması, pompa ana çapının büyümesinden ve debi değerinin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır.

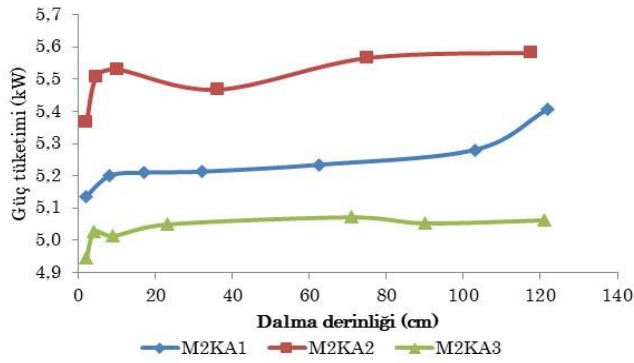
M<sub>1</sub> pompasının pompa giriş kesit alanına ve dalma derinliğine bağlı olarak 60 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>lik debi değerinde

elde edilen güç değerlerinin değişimi Şekil 7’de, M<sub>2</sub> pompası ve M<sub>3</sub> pompasına ait değişimler ise aynı debi değerinde Şekil 8 ve 9’da verilmiştir.



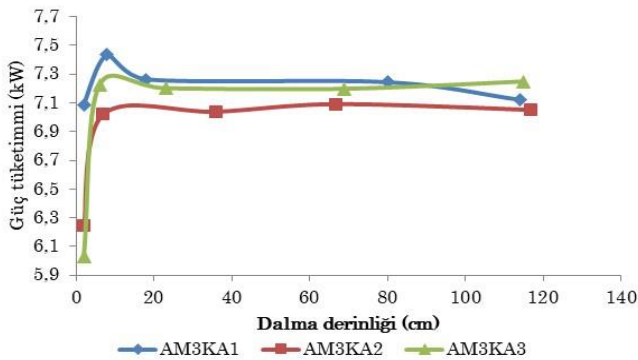
Şekil 7. M<sub>1</sub> pompasının 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> debi değerinde pompa giriş kesit alanına ve dalma derinliğine bağlı olarak elde edilen güç değerleri

Figure 7. The power values of the M<sub>1</sub> pump depending on the pump inlet cross-section and the submergence at 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> flow rate



Şekil 8. M<sub>2</sub> pompasının 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> debi değerinde pompa giriş kesit alanına ve dalma derinliğine bağlı olarak elde edilen güç değerleri

Figure 8. The power values of the M<sub>2</sub> pump depending on the pump inlet cross-section and the submergence at 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> flow rate



Şekil 9. M<sub>3</sub> pompasının 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> debi değerinde pompa giriş kesit alanına ve dalma derinliğine bağlı olarak elde edilen güç değerleri

Figure 9. The power values of the M<sub>3</sub> pump depending on the pump inlet cross-section and the submergence at 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> flow rate

Denenen M<sub>2</sub> pompasına ait 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>lik debi değerinde ve orijinal pompa giriş ağız alanında (M<sub>2</sub>KA<sub>2</sub>) farklı dalma derinliklerinde elde edilen ortalama güç değeri 5.5 kW olarak saptanmıştır. Kesit alanının değişimine bağlı olarak elde edilen ortalama güç değerleri M<sub>2</sub>KA<sub>1</sub>'de 5.26 kW ve M<sub>2</sub>KA<sub>3</sub>'de ise 5.05 kW olarak bulunmuştur. Şekil 8’de görüldüğü gibi orijinal kesit alanındaki güç değerleri, küçük (M<sub>2</sub>KA<sub>1</sub>) ve büyük pompa giriş kesit alanını değerlerinden (M<sub>2</sub>KA<sub>3</sub>) daha yüksek bulunmuştur.

Şekil 7’nin incelenmesiyle 60 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup> sabit debi değerinde M<sub>1</sub> milli pompasının orijinal kesit alanı olan M<sub>1</sub>KA<sub>2</sub>'de farklı dalma derinliklerinde elde edilen güç değerlerinin ortalaması 5.07 kW olarak tespit edilmiştir. Kesit alanının değişimine bağlı olarak elde edilen güç değerlerinin ortalaması M<sub>1</sub>KA<sub>1</sub>'de 5.1 kW ve M<sub>1</sub>KA<sub>3</sub>'de ise 5.16 kW olarak bulunmuştur. Orijinal kesit alanı değerlerinden daha küçük kesit (M<sub>1</sub>KA<sub>1</sub>) ve daha büyük pompa giriş kesit alanının da (M<sub>1</sub>KA<sub>3</sub>) güç değerleri biraz daha düşük değerlerde bulunmuştur.

M<sub>3</sub> milli pompasının 60 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>lik debi değerinde M<sub>3</sub>KA<sub>2</sub>'de kombinasyonunda farklı dalma derinliklerinde belirlenen ortalama güç değerleri 7.05 kW olarak bulunmuştur. Kesit alanının değişimine bağlı olarak elde edilen ortalama güç değerleri küçük pompa giriş kesit alanında (M<sub>3</sub>KA<sub>1</sub>) 7.27 kW ve büyük giriş kesit alanında (M<sub>3</sub>KA<sub>3</sub>) ise 7.2 kW olarak bulunmuştur. Küçük giriş kesit alanında ve büyük giriş kesit alanında elde edilen güç değerleri, orijinal giriş kesit alanı değerlerinden daha yüksek bulunmuştur. Pompaların güç tüketimi bakımından M<sub>1</sub> ve M<sub>3</sub> pompasında KA<sub>2</sub> kesit alanının, M<sub>2</sub> pompasında ise KA<sub>3</sub> kesit alanının kullanılması uygun olacaktır.

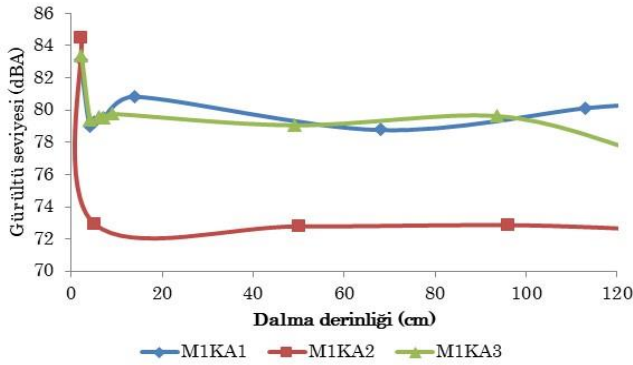
Şekil 7, 8 ve 9’da görüleceği üzere milli pompaların düşük dalma derinliği değerlerindeki güç tüketiminde ani düşüşler meydana gelmiştir. Şebekeden çekilen gücün ani düşmeye başladığı noktaya karşılık gelen dalma derinliği değeri, kritik dalma derinliğinin aşılmasına başladığını göstermektedir. Diğer bir deyişle vorteksin oluşmaya başladığı derinlik olarak değerlendirilebileceği söylenebilir.

### Dalma derinliğinin gürültü seviyesine etkisi

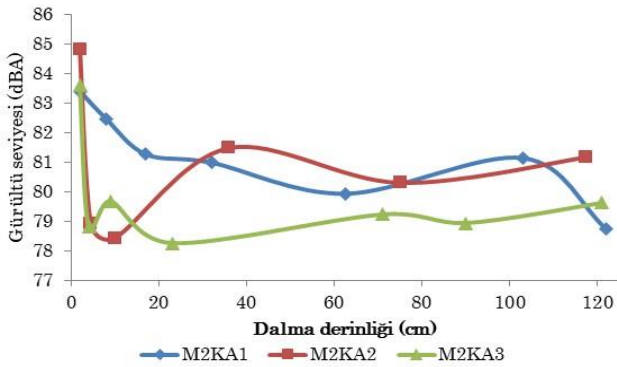
Denemeye alınan milli pompaların sabit debi değerlerinde farklı dalma derinliği seviyelerinde oluşan gürültü düzeylerinin ortalamaları en yüksek 83.13 dBA ile M<sub>3</sub>KA<sub>1</sub> kombinasyonunda 90 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>lik debi değerinde elde edilirken, en düşük gürültü seviyesi ortalaması ise 74.47 dBA değer ile M<sub>1</sub>KA<sub>2</sub> kombinasyonunda 55 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>lik debi değerinde elde edilmiştir. Pompaların tüm debi ve kombinasyonlarında, pompanın suyu emmesi esnasında, özellikle düşük dalma derinliklerinde hava girişi ile gürültü seviyesi değerleri ani olarak yükselmiştir. M<sub>3</sub> pompasında gürültü seviyesinin yüksek çıkması anma çapının büyük olmasına ve debi

değerinin yüksek olmasına bağlanabilir. M<sub>1</sub> pompasında ise gürültü değerlerinin düşük çıkması, pompa anma çapının küçük olmasından ve pompanın optimum çalışma noktasına yakın debi değerlerinde çalışmasından kaynaklanmıştır. Çalışır ve ark. (2006), araştırmasında, farklı yatay milli santrifüj pompaların optimum debi değerlerinde en düşük gürültü değerlerinin elde edildiğini bildirmektedirler.

M<sub>1</sub> pompasının pompa giriş kesit alanına ve dalma derinliğine bağlı olarak 60 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>lik debi değerinde elde edilen gürültü seviyelerinin değişimi Şekil 10'da, M<sub>2</sub> pompası ve M<sub>3</sub> pompasına ait değişimler ise aynı debi değerinde Şekil 11 ve 12'de verilmiştir.



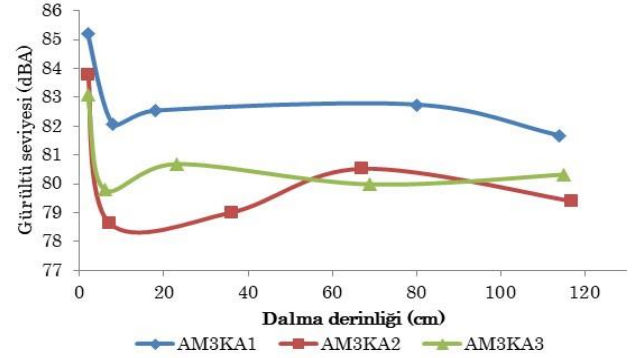
Şekil 10. M<sub>1</sub> pompasının 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> debi değerinde pompa giriş kesit alanına ve dalma derinliğine bağlı olarak elde edilen gürültü değerleri  
Figure 10. The noise values of the M<sub>1</sub> pump depending on the pump inlet cross-section and the submergence at 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> flow rate



Şekil 11. M<sub>2</sub> pompasının 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> debi değerinde pompa giriş kesit alanına ve dalma derinliğine bağlı olarak elde edilen gürültü değerleri  
Figure 11. The noise values of the M<sub>2</sub> pump depending on the pump inlet cross-section and the submergence at 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> flow rate

Şekil 10'un incelenmesiyle 60 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup> sabit debi değerinde M<sub>1</sub> milli pompasının orijinal kesit alanı olan M<sub>1</sub>KA<sub>2</sub>'de farklı dalma derinliklerinde elde edilen ortalama gürültü değerleri 72.90 dBA olarak tespit edilmiştir. Kesit alanının değişimine bağlı olarak elde

edilen ortalama gürültü değerleri M<sub>1</sub>KA<sub>1</sub>'da 79.70 dBA ve M<sub>1</sub>KA<sub>3</sub>'de ise 79.20 dBA olarak bulunmuştur. Orijinal kesit alanı değerlerinden daha küçük kesit alanında (M<sub>1</sub>KA<sub>1</sub>) ve büyük kesit alanının da (M<sub>1</sub>KA<sub>3</sub>) gürültü değerleri daha yüksek bulunmuştur.



Şekil 12. M<sub>3</sub> pompasının 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> debi değerinde pompa giriş kesit alanına ve dalma derinliğine bağlı olarak elde edilen gürültü değerleri  
Figure 12. The noise values of the M<sub>3</sub> pump depending on the pump inlet cross-section and the submergence at 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> flow rate

Denemede kullanılan M<sub>2</sub> pompasına ait 60 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>lik debi değerinde ve orijinal pompa giriş ağız alanında (M<sub>2</sub>KA<sub>2</sub>) farklı dalma derinliklerinde elde edilen ortalama gürültü değeri 80.87 dBA olarak saptanmıştır. Kesit alanının değişimine bağlı olarak elde edilen ortalama gürültü değerleri M<sub>2</sub>KA<sub>1</sub> 80.7 dBA ve M<sub>2</sub>KA<sub>3</sub> ise 79.10 dBA olarak bulunmuştur. Şekil 11'de görüldüğü gibi pompanın farklı giriş ağız kesit alanlarında elde edilen gürültü değerlerinin farklı olmadığı görülmektedir.

M<sub>3</sub> milli pompasının 60 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>lik debi değerinde M<sub>3</sub>KA<sub>2</sub> kombinasyonunda farklı dalma derinliklerinde belirlenen ortalama gürültü seviyesi değerleri 79.39 dBA olarak bulunmuştur. Kesit alanının değişimine bağlı olarak elde edilen ortalama gürültü değerleri küçük giriş kesit alanında (M<sub>3</sub>KA<sub>1</sub>) 82.25 dBA ve büyük giriş kesit alanında (M<sub>3</sub>KA<sub>3</sub>) ise 80.20 dBA olarak bulunmuştur. Küçük giriş kesit alanında ve büyük giriş kesit alanında elde edilen gürültü değerleri, orijinal kesit alanı değerlerinden daha yüksek bulunmuştur.

Aynı debi değerinin (60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>) farklı dalma derinliklerinde ölçülen gürültü seviyelerinin ortalamaları pompa anma çapı arttıkça artış göstermiştir. Pompaların giriş kesit alanlarının değişiminin gürültü seviyesinde etkili olduğu ortaya çıkmıştır.

Genel olarak milli pompalarda değişik dalma derinliklerinde elde edilen ortalama gürültü değerlerinin orijinal kesit alanlarına bağlı olarak yüksek çıkmasına, değiştirilen alt adaptörün pompa çarkı ile olan uyumsuzluğu ve pompaların çalışma



esnasında dalma derinliklerine bağlı olarak debi değerlerinde görülen dalgalanmaların ( $M_2$  ve  $M_3$  pompalarında optimum debiden uzak debi değerlerinde çalışması) etkili olduğu söylenebilir. Ayrıca Şekil 10, 11 ve 12'nin incelenmesiyle gürültü değerlerinin pik yaptığı dalma derinliklerinin düşük değerlerde olması, pompanın vorteks oluşumuna başladığı anlamına gelmektedir. Diğer bir deyişle dış çevre koşullarından arındırılmış gürültü seviyesi ölçümleri ile vorteks oluşumunun başlama anı ile ilgili dalma derinliklerinin belirlenebileceği söylenebilir. Benzer sonuçları Čdina (2003); Čdina ve Prezelj (2009) yaptıkları çalışmalarında pompaların ses frekanslarının vorteks (kavitasyon) durumunda, pompanın değişik çalışma rejimlerine göre net bir şekilde ayrıştığını bildirmektedirler.

### SONUÇ ve ÖNERİLER

Pompa anma çapı arttıkça şebekeden çekilen güç ve gürültü seviyesi ortalamaları artmıştır. Pompaların dalma derinliğinin belirli bir seviyeye kadar azalması şebekeden çekilen güç değerlerini artırmıştır. Pompaların çok düşük dalma derinliklerinde şebekeden çekilen güç değeri azalırken gürültü seviyeleri artmıştır. Pompaların  $KA_1$ ,  $KA_2$  ve  $KA_3$  kesit alanları bakımından şebekeden çektikleri güç ortalamaları sırası ile 5.89, 5.84 ve 5.73 kW gürültü seviyesi ortalamaların ise sırasıyla 80.69, 78.69 ve 80.47 dBA olarak bulunmuştur. Pompaların şebekeden çektikleri güç bakımından  $KA_3$  su giriş kesitinin, gürültü seviyesi bakımından ise  $KA_2$  su giriş kesitinin kullanılması uygundur.

Düşük dalma derinliklerinde pompa girişlerinde vorteks oluşması ve hava girmesi şebekeden çekilen güç değerlerinde ani düşümlere sebep olurken gürültü seviyelerinde ani yükselmelere neden olmuştur. Özellikle arazi şartlarında seviye ölçümlerinin zor olduğu derin kuyu pompalarında düzenli debi, güç ve gürültü ölçümleri ile pompaların statik ve dinamik seviye durumu, çalışma karakteristiğinin değişimi rahatlıkla takip edilebilir.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje No: 213O140) tarafından desteklenmiştir. Bu çalışmaya katkıda bulunan merhum Prof.Dr. Sedat ÇALIŞIR Hocamıza teşekkür ederiz.

### Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### KAYNAKLAR

- Anonim 2002. Rotodinamik Pompalar-Hidrolik Performans Kabul Deneyleri Sınıf 1 ve Sınıf 2 (TS EN ISO 9906). Türk Standardları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim 2015. Konya Havzası Kuraklık Yönetim Planı. T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Su Yönetimi Genel Müdürlüğü Taşkın ve Kuraklık Yönetimi Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Anonim 2016. Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü 2016 Yılı Faliyet Raporu. <http://strateji.dsi.gov.tr/docs/belgeler/dsi-2016-faaliyet-raporu.pdf?sfvrsn=0> (Alınma Tarihi :18.02.2020)
- Atmaca S 1998. Dalgıç Pompalara Uygulanan Pompa Kabul Deneyleri. 3. Pompa kongresi, 24-26 Eylül 1998, İstanbul.
- Baysal K 1979. Tam Santrifüj Pompalar: Hesap, Çizim ve Konstrüksiyon Özellikleri, İstanbul Teknik Üniversitesi, 24 sy.
- Čdina M 2003. Detection of Cavitation Phenomenon in a Centrifugal Pump Using Audible Sound. Mechanical Systems And Signal Processing 17 (6): 1335-1347.
- Chen Y, Wu C, Wang B, Du M, 2012. Three-Dimensional Numerical Simulation of Vertical Vortex At Hydraulic Intake. Procedia Engineering 28: 55-60.
- Čdina M, Prezelj J, 2009. Detection Of Cavitation In Operation Of Kinetic Pumps. Use of Discrete Frequency Tone in Audible Spectra. Applied Acoustics 70 (4): 540-546.
- Çalışır S, Aydın C, Mengeş H O, 2006. Derin Kuyu Pompaj Tesislerinde Titreşim Hızı ve Gürültü Düzeyinin Belirlenmesi. Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi 20 (38): 49-54.
- Çalışır S, 2009. Sulamada Pompaj Tesisleri (Tarım Makineleri Kitabı. Edt:Ergüneş G, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara) 351-413.
- Doğdu M, Toklu M, Sağnak C, 2007. Konya Kapalı Havzası'nda Yağış ve Yeraltısuyu Seviye Değerlerinin İrdelenmesi. 1. Türkiye İklim Değişikliği Kongresi 11 - 13 Nisan 2007, İstanbul.
- Driscoll F 2010. Kuyu Hidroliği. DSİ, Ankara, 88 sy.
- Göçmez G, Dıvrak B, Galena İ 2008. Konya Kapalı Havzası'nda Yeraltı Suyu Seviyesinin Değişiminin Tespiti Özet Raporu. Ofset Yapımevi, İstanbul, 82 sy.
- Hanson B 2000. Irrigation Pumping Plants (UC Irrigation and Drainage Specialist. Department of Land, Air and Water Resources, University of California, Davis) 69-73.
- Karassik IJ, Messina JP, Cooper P, Heald CC 2001. Pump handbook, McGraw-Hill New York, 1824 sy.
- Maxime B, Chen Li F 2016. Cavitation Effects in Centrifugal Pumps-A Review. Int. Journal of Engineering Research and Application 6 (5):52-63.



- Nagahara T, Sato T, Okamura T 2001. Effect of the Submerged Vortex Cavitation Occurred in Pump Suction Intake on Hydraulic Forces of Mixed Flow Pump İmpeller. Proc. 4<sup>th</sup> International Symposium on Cavitation June 20-23 2001, Pasadena, USA.
- Tezer E 1978. Sulamada Pompaj Tesisleri (Proje, Seçim ve İşletme Yöntemleri) Cilt 1-2-3. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Adana.
- Yıldırım N, Kocabaş F 1998. Critical Submergence For Intakes in Still-Water Reservoir. Journal of Hydraulic Engineering 124 (1): 103-104.
- Yıldırım N, Akay H, Taştan K 2011. Critical Submergence for Multiple Pipe Intakes by Potential Solution (Technical Note). Journal of Hydraulic Research 49 (1): 117-121.

## Tuz Stresi Altındaki Hıyar Bitkilerinde Ekzojen Askorbik Asit Uygulamalarının Fotosistem II Aktivitesi Üzerindeki Etkileri

Sezen TOKSOY KÖSEOĞLU<sup>1\*</sup>, Ali DOĞRU<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Sakarya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 54050, Sakarya, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-1564-9465> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-0060-4691>

✉: sezentoksoy@sakarya.edu.tr

### ÖZET

Tuz stresi (100 mM NaCl) altındaki Beith Alpha hıyar (*Cucumis sativus* L.) çeşidinde ekzojen askorbik asit uygulamasının fotosistem II aktivitesi üzerindeki etkileri klorofil a floresansı tekniği yardımıyla araştırılmıştır. Tuz stresi hıyar yapraklarında fotosistem II'nin hem donör hem de akseptör bölgesindeki elektron hareketlerini inhibe etmiştir. Ayrıca tuz stresinin hıyar bitkisinde aktif reaksiyon merkezi miktarını ve kinonA ile plastokinonun indirgenme yeteneğini azalttığı, indirgenmiş reaksiyon merkezlerinin birikimini ve termal disipasyon enerjisini artırdığı belirlenmiştir. Askorbik asit uygulaması ise hıyar bitkilerinde tuz stresinin fotosistem II'nin donör ve akseptör bölgesindeki elektron hareketleri üzerindeki olumsuz etkisini ortadan kaldırmıştır. Ek olarak askorbik asit uygulaması hıyar yapraklarındaki aktif reaksiyon merkezi miktarını ve kinonA ile plastokinonun indirgenme yeteneğini artırırken, indirgenmiş reaksiyon merkezi miktarını ve termal disipasyon enerjisini azaltmıştır. Sonuç olarak askorbik asidin hıyar yapraklarında tuz toleransını artırdığı ve bu yaklaşımın tarımsal amaçlarla kullanılabileceği söylenebilir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 04.05.2020

Kabul Tarihi : 17.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

Hıyar  
*Cucumis sativus* L.  
Askorbik asit  
PSII aktivitesi  
Tuz toleransı

## Effects of Exogenous Ascorbic Acid Application on Photosystem II Activity in Cucumber Plants under Salt Stress

### ABSTRACT

The effects of the exogenous ascorbic acid application on photosystem II activity were investigated in salt-stressed (100 mM NaCl) cucumber (*Cucumis sativus* L.) cv. Beith Alpha through chlorophyll a fluorescence technique. Salt stress inhibited electron movements both in donor and acceptor site of photosystem II in cucumber leaves. In addition, salt application led to the decreased level of active reaction centers, the accumulation of the reduced reaction centers, the decreased ability of quinonA and plastoquinon to reduce and the increased thermal dissipation in cucumber leaves. Ascorbic acid, on the other hand, ameliorated the adverse effect of salt stress on electron movements in donor and acceptor site of photosystem II in cucumber plants. Moreover, ascorbic acid caused to the increased level of active reaction centers, the decreased level of accumulation of the reduced reaction centers, the increased ability of quinonA and plastoquinon to reduce and the decreased thermal dissipation in cucumber leaves. As a result, it might be concluded that ascorbic acid application improved salt tolerance in cucumber plants and it may be used for agricultural purposes.

### Research Article

#### Article History

Received : 04.05.2020

Accepted : 17.12.2020

#### Keywords

Cucumber  
*Cucumis sativus* L.  
Ascorbic acid  
PSII activity  
Salt tolerance

**Atıf İçin:** Toksoy Köseoğlu S, Doğru A 2021. Tuz Stresi Altındaki Hıyar Bitkilerinde Ekzojen Askorbik Asit Uygulamalarının Fotosistem II Aktivitesi Üzerindeki Etkileri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (4): 757-765. DOI:10.18016/ksutarimdog.vi.732141.

**To Cite:** Toksoy Köseoğlu S, Doğru A 2021. Tuz Stresi Altındaki Hıyar Bitkilerinde Ekzojen Askorbik Asit Uygulamalarının Fotosistem II Aktivitesi Üzerindeki Etkileri. KSU J. Agric Nat 24 (4): 757-765. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.732141.

## GİRİŞ

Bitkilerin büyümesini ve verimini engelleyen topraktaki yüksek tuz konsantrasyonları, kurak bölgelerdeki tarımsal faaliyetler için sık karşılaşılan bir problemdir. Sulama suyunun kalitesi, tuz birikimi ve tarımsal verimliliğin azalmasına neden olan ana faktörlerden biridir (Dolatabadian ve Saleh Jouneghani, 2009). Ozmotik stres, iyon dengesizlikleri ve iyonların metabolik süreç üzerindeki doğrudan toksik etkileri, tuz stresinin neden olduğu en önemli fizyolojik bozukluklardır (Munns ve ark., 2006). Tuz stresi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif hasarı da indüklemektedir (Azevedo-Neto ve ark., 2006). Bunun yanında tuz stresinin fotosentez üzerinde de önemli zararlı etkileri bulunmaktadır (Jajoo, 2013). Mehta ve ark. (2010a, b) yüksek tuz stresinin, fotosistemII'nin donör bölgesinde elektron taşıma oranlarını yaklaşık %75 ve akseptör bölgesinde yaklaşık %25 oranında inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Bu nedenle nihai bir çözüm olmasa da, bitkilerde tuz toleransının iyileştirilmesi, tarımda verim istikrarını sağlayabilmektedir (Flowers ve Yeo, 1995).

Askorbat (AsA) veya askorbik asit / C vitamini, yüksek bitkilerin sitozolünde sentezlenen, suda çözünen ve ROS'un zararlı etkilerini azaltan en güçlü antioksidandır. Birçok bitki hücresi tipinde, özellikle fotosentetik hücrelerde organellerde, meristemlerde ve bazı meyvelerde apoplastlarda bulunur. AsA'nın bitkilerdeki büyüme, farklılaşma ve metabolizma gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir. Bir dizi oksijenaz ve hidroksilaz enzimi için bir kofaktör olmasının yanı sıra (De Tullio, 2004), membranların korunması (Li ve Jin, 2007), birçok serbest radikal indirgenmesi, birçok enzim aktivitesinin artırılması ve böylece oksidatif stresin neden olduğu hasarın en aza indirilmesi konusunda fonksiyoneldir (Foyer ve Noctor, 2005a, b). Bitki hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoksifikasyonu için en önemli indirgeyici substrat AsA'tir. Bunun yanında birçok ROS (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, HO• gibi) ve lipit hidroperoksidazlarla da reaksiyona giren önemli bir antioksidandır (Shigeoka ve ark., 2002; Foyer, 2004). AsA içeriği daha yüksek olan bitkiler oksidatif strese karşı daha iyi koruma göstermektedir. Bu nedenle, oksidatif stresi en aza indirmek ve bitki metabolik süreçlerini düzenlemek için daha yüksek AsA seviyeleri önemlidir (Athar ve ark., 2008).

AsA, bitki stres toleransında önemli rol oynar. Askorbik asit seviyeleri azalmış mutantlar strese karşı aşırı duyarlıdır (Conklin ve ark., 1996). Birçok çalışma, askorbik asidin abiyotik strese karşı bitki toleransını iyileştirmede önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur (Shalata ve Neumann, 2001; Athar ve ark., 2008; Ahmad ve ark., 2008a, b, 2009, 2010a, b, c, 2011; Ahmad ve Umar, 2011). Tuz stresi altında

askorbat seviyelerindeki artış ve hücrede redoks homeostazının sağlanması kök büyümesi için çok önemlidir (Hernandez ve ark., 2010). Tuzluluk nedeniyle AsA konsantrasyonunda artış diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Panda ve Upadhyay, 2004; Parida ve ark., 2004). Bazı bulgular bitkilerde tuzluluğa bağlı solgunluğun, zarar verici ROS'un hücresel aktivitesindeki artışıyla ilişkili olduğunu ve AsA'nın bitkilerin hayatta kalması üzerindeki artan etkisinin ROS üretiminin kısmi inhibisyonu ile ilgili olduğunu göstermiştir. Tuz stresi altında ekzojen askorbik asit uygulamasıyla kök, gövde ve yaprak dokularında ROS ile lipit peroksidasyon seviyesinde azalma gözlenmiştir (Shalata ve Neumann, 2001). Farklı çalışmalar, stresli bitkilerin yapraklarındaki AsA içeriğinin artan tuz stresi düzeyleriyle artma eğiliminde olduğunu göstermiştir (Mohamed ve ark., 2010). Agarwal ve Shaheen, (2007) *Momordica charantia*'nın yapraklarındaki AsA konsantrasyonunun kontrole kıyasla NaCl stresi altında arttığını bildirmiştir. Hamada ve Al Hakimi, (2009), ekzojen olarak uygulanan AsA'nın, özellikle orta ve düşük tuzluluk seviyelerine maruz kalan bitkilerde uyarıcı bir etki sağlayarak tuz stresinin net fotosentetik hız, pigment biyosentezi ve membran bütünlüğü üzerindeki kısmen veya tamamen engelleyici etkilerini raporlamıştır. Beltagi (2008), NaCl (40 mM) ile AsA uygulaması arasında önemli bir sinerjistik etki gözlemlemiştir; burada AsA, *Cicer arietinum*'da Chl a ve Chl b stabilite indeksini artırmıştır. Khafagy ve ark. (2009), AsA uygulanmış tuz stresi altındaki biber (*Capsicum annum* L.) tohumlarının Chl a ve b miktarlarının, sadece tuza tabi tutulanlara kıyasla önemli ölçüde arttığını kaydetmiştir. Azzedine ve ark. (2011), C vitamini uygulamasının, artan yaprak alanı, klorofil ve karotenoid içerikleri, artan prolin birikimi ve azalmış H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği nedeniyle tuz stresinin bitki büyümesi üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmek için etkili olduğunu bildirmiştir. Dehghan ve ark. (2011), ekzojen olarak uygulanan AsA'nın, tuz stresinin, soya (*Glycine max* (L.) Merr.) fidelerinin büyümesi üzerindeki olumsuz etkilerini önlediğini bildirmiştir. AsA, CAT, POD ve SOD aktivitelerinde bir artışla birlikte tuz stresli bitkilerin büyümesinde artışa neden olmuştur. *In vitro* yetiştirilen şeker kamışı bitkilerine askorbik asit ön işlemi, CAT ve POD aktivitelerinin ve çözünür protein içeriklerinin yanı sıra kök uzunluğunu artırarak tuz toleransını artırmıştır (Munir ve Aftab, 2011). Ekzojen askorbik asit uygulamasının patates (*Solanum tuberosum* L.) bitkisindeki CAT ve SOD aktivitelerini artırarak tuzluluk toleransını iyileştirdiği de bulunmuştur (Sajid ve Aftab, 2009).

Tarımsal topraklardaki tuzluluk her geçen gün Türkiye topraklarının tarımsal verimliliği için büyüyen bir tehdit oluşturmaktadır. Hıyar dünyada ve

Türkiye’de özellikle sera yetiştiriciliğinde önemli ekim alanına sahip bir bitki türüdür. Buna göre, bu çalışmanın amacı, tuz stresi altındaki hıyar bitkilerine ekzojen olarak uygulanan askorbik asidin fotosistem II aktivitesi üzerindeki etkilerini klorofil a floresansı tekniği yardımıyla araştırmaktır.

## MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada bitki materyali olarak hıyar (*Cucumis sativus* L.) çeşidi Beith Alpha kullanılmıştır.

### Büyüme Koşulları ve Deneysel Plan

Eşit büyüklükte ve sağlam olan tohumlar seçilerek cam petri kaplarında bidistile su ile ıslatılmış kurutma kağıtları arasına yerleştirilmiştir. Petri kapları 24 °C sıcaklık ve %40-50 oransal neme sahip olan iklim dolabında karanlık ortamda çimlenmeye bırakılmıştır. Üç gün sonra birörnek fideler perlit ve ½ oranında sulandırılmış Hoagland besin çözeltisi içeren saksılara transfer edilerek 25/18 °C sıcaklık (gündüz/gece), 16/8 saat fotoperiyot (gündüz/gece), %50±5 oransal nem ve 200 µmol foton m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> ışık şiddetine sahip iklim dolabına yerleştirilmiştir. On günlük olan bitkiler her grup için 20 saksı olacak şekilde dört gruba ayrılmıştır. Birinci grupta bulunan kontrol bitkileri çalışmanın sonuna kadar ½ oranında sulandırılmış Hoagland besin çözeltisi ile sulanırken; ikinci gruptaki

bitkilere Hoagland çözeltisinde hazırlanmış tuz (100 mM NaCl) stresi, üçüncü gruptaki bitkilere Hoagland Besin çözeltisine karıştırılarak askorbik asit (150 ppm), dördüncü gruptaki bitkilere ise Hoagland çözeltisinde tuz stresi ile birlikte askorbik asit uygulaması (100 mM NaCl+150 ppm askorbik asit) yapılmıştır. Uygulamalardan 5 gün sonra klorofil a floresansı ölçümleri yapılmıştır. Uygulama Tesadüf Parselleri Deneme Deseni’nde iki faktörlü ve 3 tekrarlı yürütülmüştür.

### Klorofil a Floresansı Ölçümleri

Klorofil a floresansı ölçümleri bitkilerin yapraklarında bitki verimlilik analizatörü (HandyPEA florometresi Hansatech Instruments Ltd., Pentney, King’s Lynn, Norfolk, England) yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ölçüm için kullanılacak iyi gelişmiş yapraklar, yaprak klipsleri yardımıyla 45-60 dakika karanlık adaptasyonuna maruz bırakılmıştır. Daha sonra yaprak yüzeylerine 3,500 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> şiddetinde ışık uygulanmış ve elde edilen parametrelerin değerlendirilmesi PeaPlus ve BioLyzer adlı programlarla uygulanan JIP testi ile yapılmıştır (Bussotti ve ark., 2007). JIP testi fotosentetik organizmalar üzerindeki çevresel etkileri analiz etmek için kullanılan kolay uygulanabilir hızlı bir testtir. JIP testi ile ilgili terminoloji Çizelge 1’ de verilmiştir.

Çizelge 1. Klorofil a floresansı ölçümlerine bağlı olarak ölçülen ve hesaplanan JIP testi parametreleri (Doğru, 2019).

Table 1. JIP test parameters measured and calculated based on chlorophyll a fluorescence measurements (Doğru, 2019)

Parametreler (Parameters)	
$F_0$	Karanlık adaptasyonu sağlanmış örnekte tüm FS II reaksiyon merkezlerinin açık olduğu andaki minimum floresans
$F_m$	Karanlık adaptasyonu sağlanmış örnekte tüm FS II reaksiyon merkezlerinin kapalı olduğu andaki maksimum floresans
$F_v$	Fotokimyasal olmayan tüm prosesler minimum seviyede iken maksimum değişken floresans
$F_v/F_m$	FS II’ nin maksimum kuantum etkinliği
$F_v/F_0$	Hill reaksiyonu (fotoliz) etkinliği
$ABS/RC$	Reaksiyon merkezi başına FS II’nin ortalama anten boyutu
$ET_0/RC$	FS II’de reaksiyon merkezi başına $Q_A$ ’dan sonraki basamaklardaki maksimum elektron taşınımı
$TR_0/RC$	FS II’de reaksiyon merkezi başına yakalanan ve $Q_A$ ’nın indirgenmesini sağlayan maksimum enerji
$DI_0/RC$	FS II’de reaksiyon merkezi başına fotokimyasal olaylar dışında kaybedilen dissipasyon enerjisi
$RC/ABS$	FS II’deki anten klorofilleri başına aktif reaksiyon merkezi miktarı
$Alan$	OJIP eğrisinin üzerinde kalan, $F_0$ ile $F_m$ arasında bulunan ve indirgenmiş plastokinon (PQ) havuzunun boyutunu ifade eden bölge
$t_{F_m}$	$F_m$ ’ye ulaşılması için gereken zaman
$\Delta V/\Delta t_0$	Kapalı (indirgenmiş) reaksiyon merkezlerinin birikim hızı
$N$	$F_m$ ’ye ulaşılncaya kadar geçen sürede $Q_A$ ’nın indirgenme sayısı
$PI_{ABS}$	Performans indeksi
$SFI_{ABS}$	FS II’nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü
$S_M$	Tüm reaksiyon merkezlerinin indirgenmesi için gereken enerji
$\Psi_0$	Yakalanan bir eksitonun bir elektronu $Q_A$ ’dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme etkinliği
$\phi_{D0}$	Termal dissipasyonun kuantum verimi
$\phi_{E0}$	$Q_A$ ’dan PQ’ya elektron taşınımının kuantum verimi
$\phi_{P0}$	Primer fotokimyasal olayların maksimum kuantum verimi
$\phi_0/(1-\phi_0)$	Işığa bağımlı olan fotokimyasal reaksiyonların performans göstergesi
$\Psi_0/(1-\Psi_0)$	Işığa bağımlı olmayan karanlık reaksiyonların performans göstergesi



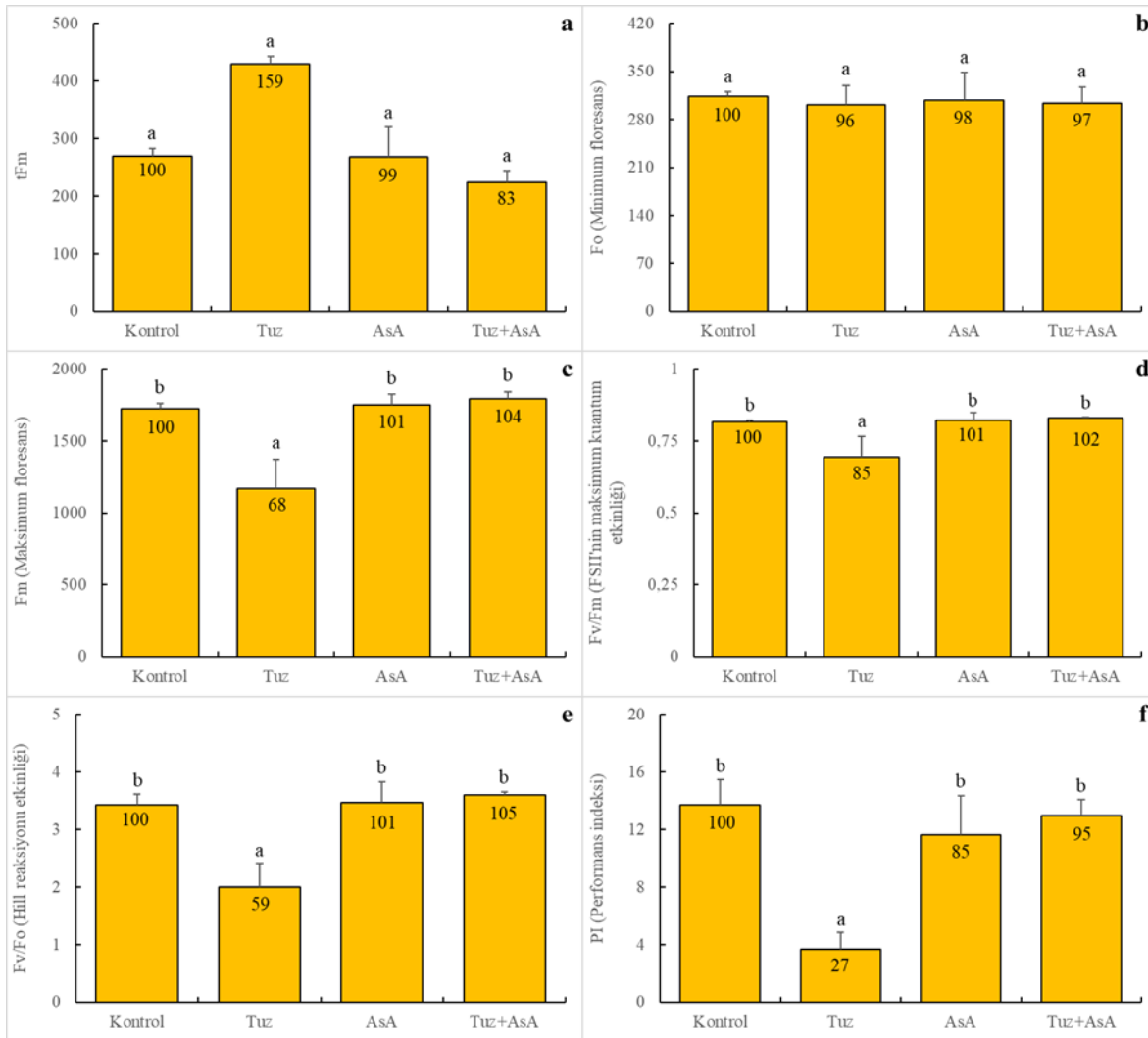
## İstatistik Analizler

Elde edilen verilerin aritmetik ortalama ve standart hataları hesaplanmış, daha sonra verilere SPSS 22.0 paket programı kullanılarak, istatistiki varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Her bir bağımsız değişken için uygulamaların kontrole göre neden olduğu farkın önem kontrolü (Anlamlı Önemli Fark; AÖF) %5 düzeyinde Duncan testi ile hesaplanmıştır.

## BULGULAR

Tuz stresi (100 mM NaCl), askorbik asit (150 ppm AsA) ve tuz+askorbik asit (100 mM NaCl+150 ppm AsA) uygulamalarının hıyar yapraklarındaki bazı klorofil a

floresansı parametreleri üzerindeki etkisi Şekil 1'de verilmiştir. Buna göre  $t_{Fm}$  (maksimum floresansa ulaşıncaya kadar geçen süre) ve  $F_o$ 'da (minimum floresans) uygulamalar sonucunda kontrol bitkilerine göre istatistiksel bir değişim gözlenmemiştir ( $P>0.05$ ) (Şekil 1a ve b). Tuz stresi uygulaması hıyar yapraklarındaki  $F_m$  (maksimum floresans) değerini kontrole göre %32,  $F_v/F_m$  (fotosistem II'nin maksimum kuantum etkinliği) oranını %15,  $F_v/F_o$  (Hill reaksiyonu etkinliği) oranını %41 ve  $PI$ 'yı (performans indeksi) ise %73 oranında ve istatistiksel olarak belirgin derecede azaltmıştır ( $P<0.05$ ) (Şekil 1c, d, e ve f).



Şekil 1. Kök yoluyla uygulanan askorbik asidin (150 ppm) tuz stresi (100 mM NaCl) altındaki hıyar yapraklarındaki (a)  $t_{Fm}$ , (b)  $F_o$ , (c)  $F_m$ , (d)  $F_v/F_m$ , (e)  $F_v/F_o$  ve (f)  $PI$  üzerine etkisi (Barların üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki farkın Duncan testine göre  $P=0.05$  seviyesinde farklı olduğunu, barların içindeki rakamlar ise kontrole göre değişimi % olarak göstermektedir, kontrol=100; AsA: askorbik asit).

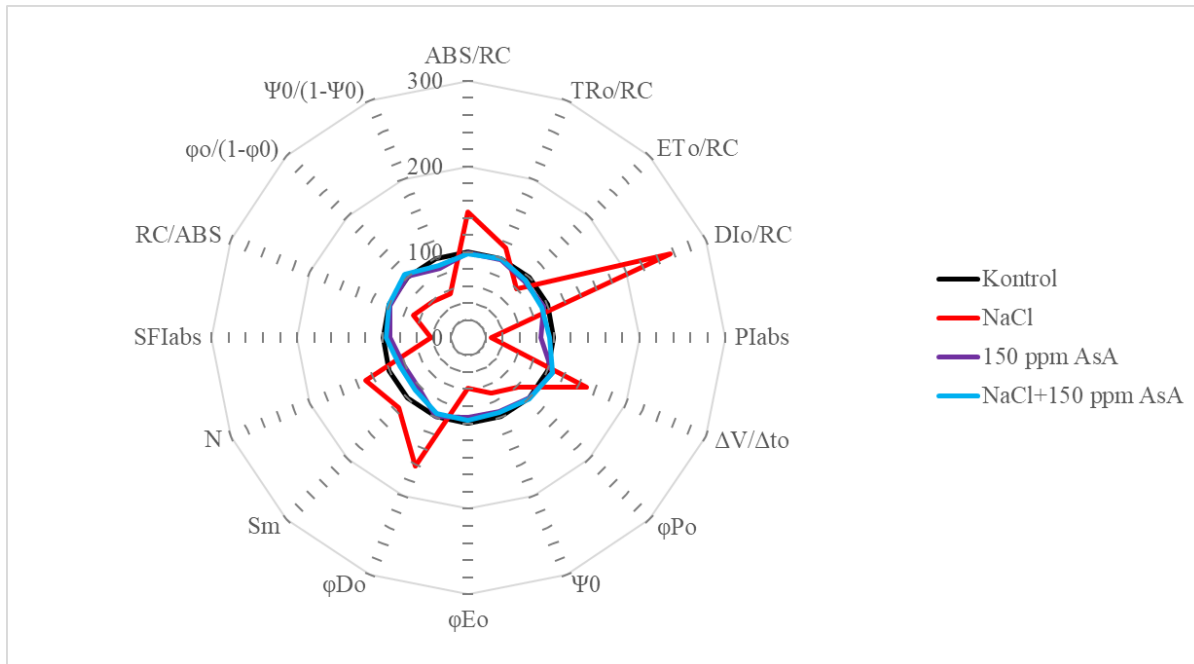
Figure 1. Effect of root-applied ascorbic acid (150 ppm) on (a)  $t_{Fm}$ , (b)  $F_o$ , (c)  $F_m$ , (d)  $F_v/F_m$ , (e)  $F_v/F_o$  and (f)  $PI$  in cucumber leaves under salt stress (100 mM NaCl) (The different letters on the bars show that the difference between the applications is different at the level of  $P = 0.05$  according to the Duncan test, and the numbers in the bars show the change in% of the control, control = 100; AsA: ascorbic acid)

Sadece askorbik asit uygulaması ise bu parametrelerde kontrollere göre istatistiksel bir değişime yol açmamıştır ( $P>0.05$ ). Ancak tuz stresi altındaki hıyar bitkilerinde gerçekleştirilen askorbik asit uygulamaları  $F_m$ ,  $F_v/F_m$ ,  $F_v/F_o$  ve  $PI'yı$  sadece tuz stresi uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında sırasıyla %36, %17, %46 ve %68 oranında artırmış ve istatistiksel olarak kontrol bitkilerinde elde edilen değerlere ulaşmasını sağlamıştır ( $P<0.05$ ).

Tuz stresi (100 mM NaCl), askorbik asit (150 ppm AsA) ve tuz+askorbik asit (100 mM NaCl+150 ppm AsA) uygulamalarının hıyar yapraklarındaki bazı JIP testi parametreleri üzerindeki etkisi Şekil 2'de verilmiştir. Buna göre SM (tüm reaksiyon merkezlerinin indirgenmesi için gerekli enerji), N ( $F_m$ 'ye ulaşılıncaya kadar geçen sürede kinonA'nın indirgenme sayısı) ve  $TR_o/RC$  (fotosistem II'de reaksiyon merkezi başına yakalanan ve kinonA'nın indirgenmesini sağlayan maksimum enerji) parametrelerinin uygulamalardan kontrollerle karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda etkilenmediği gözlenmiştir (Şekil 2).

Tuz stresi alan (OJIP eğrisinin üzerinde kalan ve  $F_o$  ile  $F_m$  arasındaki bölgenin büyüklüğü) parametresini kontrolle karşılaştırıldığında %47,  $\Psi_o$ 'ı (yakalanan bir eksitonun bir elektronu kinonA'dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme etkinliği) %30,  $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ 'ı (ışığa bağımlı olmayan karanlık reaksiyonların performans göstergesi) %45,  $\phi P_o$ 'ı (primer fotokimyasal olayların maksimum kuantum verimi) %18,  $\phi E_o$ 'ı (kinonA'dan plastokinona elektron

taşınımının kuantum verimi) %41, SFIABS'yi (fotosistem II'nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü) %55, RC/ABS'yi (fotosistem II'de anten klorofilleri başına aktif reaksiyon merkezi miktarı) %29,  $\phi_o/(1-\phi_o)$ 'ı (fotokimyasal reaksiyonların performans göstergesi) %41,  $PI'yı$  (performans indeksi) %74 ve  $ET_o/RC$ 'yi (fotosistem II'de reaksiyon merkezi başına kinonA'dan sonraki basamaklardaki maksimum elektron taşınımı) %20 oranında azaltmıştır ( $P<0.05$ ) (Şekil 2). Ancak tuz stresi altındaki hıyar bitkilerine uygulanan askorbik asit  $ET_o/RC$  hariç bu parametreleri, sadece tuz stresi uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede artırmıştır ( $P<0.05$ ) (Şekil 2). Sadece askorbik asit uygulaması ise bu parametrelerde istatistiksel olarak önemli bir değişime yol açmamıştır ( $P>0.05$ ). Tuz stresi hıyar yapraklarındaki  $\Delta V/\Delta t_o$ 'yu (kapalı reaksiyon merkezlerinin birikim hızı) kontrole göre %50,  $\phi D_o$ 'ı (termal disipasyonun kuantum verimi) %62, ABS/RC'yi (reaksiyon merkezi başına fotosistem II'nin ortalama anten boyutu) %47 ve  $DI_o/RC$ 'yi (fotosistem II'de reaksiyon merkezi başına non-fotokimyasal yolla kaybedilen disipasyon enerjisi) %156 oranında artırmıştır ( $P<0.05$ ) (Şekil 2). Sadece askorbik asit uygulaması bu parametrelerde istatistiksel bir değişime neden olmamıştır ( $P>0.05$ ). Ancak tuz stresi altındaki hıyar bitkilerine uygulanan askorbik asit, bu parametreleri sadece tuz stresi altındaki bitkilerle karşılaştırıldığında belirgin oranda azaltmıştır ( $P<0.05$ ) (Şekil 2).



Şekil 2. Kök yoluyla uygulanan askorbik asidin (50 µM) tuz stresi (100 mM NaCl) altındaki hıyar yapraklarındaki bazı JIP testi parametreleri üzerindeki etkisi (AsA: Askorbik asit).

Figure 2. Effect of root-applied ascorbic acid (50 µM) on some JIP test parameters in cucumber leaves under salt stress (100 mM NaCl) (AsA: Ascorbic acid).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitkilerde tuz toleransının gelişmesi ekonomik bakımdan önemlidir. Tuz toleransı bir bitkinin tuzlu koşullar altında yaşam döngüsünü tamamlayabilme yeteneği olarak tanımlanmıştır (Doğru ve Canavar, 2020). Geleneksel ıslah yöntemlerinin kullanılmasıyla günümüze kadar tuz stresine belli oranda tolerans geliştirmiş genotipler elde edilmiştir (Noble ve ark., 1984; Ashraf, 1994; Shannon, 1998; Ashraf, 2002). Ancak bitkilerde tuz toleransı kavramı oldukça karmaşık bir mekanizmaya sahiptir. Bunun sebepleri arasında tuz toleransının hem farklı bitki türleri hem de aynı türün farklı genotipleri arasında önemli varyasyonlar göstermesi de bulunmaktadır (Ashraf, 1994; Ashraf, 2002; Doğru ve Yılmaz Kaçar, 2019). Bunun dışında ekonomik öneme sahip olan bitkilerde tuz toleransının artırılması için yapılan ıslah çalışmalarında kullanılabilecek güvenilir bir parametrenin eksikliği de söz konusudur (Kalaji ve Pietkiewicz, 2004). Ancak yapılan çalışmalar bitkilerde tuz stresine verilen metabolik cevapların temel amacının fotosentetik aygıtı tuz stresinin olumsuz etkilerinden korumak ve fotosentetik etkinliğin sürdürülmesini sağlamak olduğu ortaya çıkarılmıştır (Papageorgiou ve Murata, 1995; Kalaji ve Guo, 2008; Tanaka ve ark., 1999). Bu da stres altındaki bitkilerde fotosentez olayının sürekliliğinin önemini göstermektedir. Fotosentetik aktivitede meydana gelen değişimler gelişmiş bitkilerde bir stres sensörü olarak kabul edilmektedir (Doğru ve Canavar, 2020). Günümüzde fotosentetik aktivitenin ölçülmesi için en modern ve güvenilir tekniğin klorofil a floresansı olduğu bildirilmiştir (Maxwell ve Johnson, 2000; Doğru, 2019; Doğru ve Çakırlar 2020a, 2020b). Bu çalışmada hıyar bitkilerine uygulanan tuz stresi FSII'nin maksimum kuantum etkinliğini (Fv/Fm) kontrole göre belirgin derecede azaltmıştır. Fv/Fm oranı birçok gelişmiş bitkide sayısal değer olarak 0.83 civarındadır ve bu değer azalması bir fotoinhibisyon göstergesi olarak kabul edilmektedir (Björkman ve Demmig, 1987). Bu sonuç hıyar bitkisinde tuz stresinin etkisiyle FSII birimlerindeki elektron taşınım reaksiyonlarının belli oranda inhibe edildiğini göstermektedir (Doğru ve Çakırlar, 2020a). Çalışmanın sonuçları tuz stresinin hıyar yapraklarında minimum floresansı (Fo) etkilemediğini, ancak maksimum floresans (Fm) değerini kontrole göre azalttığını göstermiştir. Georgieva ve Lichtenthaler (1999) Fm değerinin FSII'nin akseptör bölgesinin indirgenme durumunu gösterdiğini bildirmiştir. Buna göre bu çalışmada uygulanan tuz stresinin hıyar bitkilerindeki FSII birimlerinin akseptör bölgesinin indirgenmesini engellediği sonucuna varılabilir. Bitki ıslahı oldukça uzun zaman alan bir süreçtir. Bu nedenle ıslah çalışmalarından elde edilen başarı oranının sınırlı kaldığı rapor edilmiştir (Ashraf ve ark., 2008).

Günümüzde bitkilerde tuz toleransının geliştirilmesi için antioksidan etkinliğe sahip bazı moleküllerin, bazı bitki besin elementlerinin ve bitki büyüme düzenleyicilerinin uygulanması söz konusudur.

Askorbik asit suda çözünme özelliğine sahip olan antioksidan bir moleküldür (Mittal ve ark., 2018). Askorbik asit bitkilerdeki direkt antioksidan fonksiyonunun yanı sıra fotosentezin regülasyonu, hormon biyosentezi, hücre bölünmesi, çiçeklenme, senesens, hücre büyümesi ve diğer antioksidan moleküllerin rejenerasyonu gibi fizyolojik olaylarda önemli fonksiyonları vardır (Pastori ve ark., 2003). Askorbik asidin aynı zamanda tuz stresi koşullarında bazı bitki türlerinin dokularında birikim gösterdiği ve tuz toleransının sağlanmasında önemli bir bileşen olduğu belirlenmiştir (Irfan ve ark., 2019). Askorbik asit uygulamalarının bazı bitkilerde tuz toleransının artmasını sağladığı da rapor edilmiştir (Davey ve ark., 2000; Mohamed ve ark., 2010; Billah ve ark., 2017; Hegazi ve El-Shraiy, 2017). Bu çalışmanın sonuçları tuz stresi altındaki hıyar bitkilerine uygulanan askorbik asidin, tuz stresinin FSII birimlerindeki elektron hareketleri üzerindeki kısıtlayıcı etkisini ortadan kaldırdığını ve FSII'nin akseptör bölgesinin daha kolay indirgenmesini sağladığını göstermiştir. Nitekim askorbik asit uygulaması tuz stresi altındaki hıyar bitkilerinde Fm ve Fv/Fm'nin önemli derecede artmasını sağlamıştır. Benzer şekilde bu çalışmada Hill reaksiyonunun etkinliği (Fv/Fo) tuz stresi uygulanan hıyar bitkilerinde kontrole göre azalmış, ancak askorbik asit uygulaması bu oranın artmasını sağlamıştır. Bu oran FSII'nin lümen bakan kısmında bulunan ve suyu parçalamaktan sorumlu olan yapının etkinliğini ifade etmektedir. Bu yapı tuz stresi gibi çevresel stres faktörlerine karşı fotosentetik elektron taşınım sisteminin en duyarlı bölgesidir. Pereira ve ark. (2000) bu oranda meydana gelen azalmanın fotosentetik elektron taşınımında meydana gelen azalmanın bir göstergesi olduğunu rapor etmiştir. Fricke ve Peters (2002) ile Doğru ve Canavar (2020) tuz stresi altındaki bitkilerde su alımının belli oranda engellediğini bildirmiştir. Bu durum tuz stresi altındaki hıyar bitkilerinde Fv/Fo oranının azalmasına neden olmuş olabilir. Askorbik asit uygulaması ise tuz stresine maruz bırakılmış olan hıyar bitkilerinin ortama olan su ilişkilerini regüle ederek veya suyu parçalayan sistemi koruyarak bu oranın artmasını sağlamış olabilir. Bu sonuç aynı zamanda askorbik asit uygulamasının FSII'nin donör bölgesinin oksitlenme yeteneğini artırdığını da açıkça göstermektedir. Bunun yanı sıra bu çalışmada tuz stresi uygulaması hıyar bitkilerinde fotokimyasal reaksiyonların performansını ( $\phi_0/(1-\phi_0)$ ) da azaltmıştır. Muhtemelen fotokimyasal reaksiyonların yavaşlaması ve buna bağlı olarak fotosentezin elektron taşınım reaksiyonlarının ATP ve NADPH gibi ürünlerinin sentez hızının azalması fotokimyasal

olmayan karanlık reaksiyonların performansının ( $\Psi_0/(1-\Psi_0)$ ) da azalmasına yol açmıştır. Elde edilen sonuçlara göre tuz stresi altındaki hıyar bitkilerinde fotosentetik elektron taşınım reaksiyonlarının yavaşlamasının bir nedeni de aktif reaksiyon merkezlerinin miktarının (RC/ABS) azalması olabilir. DIO/RC (FSII'de reaksiyon merkezi başına fotokimyasal olmayan olaylarda kaybedilen disipasyon enerjisi) ve  $\phi D_0$  (termal disipasyonun kuantum verimi) parametrelerinde tuz stresi uygulaması sonucunda meydana gelen azalmalar da bu fikri destekler niteliktedir. Nitekim Kalaji ve ark. (2011) de tuz stresi altındaki arpa bitkilerinde aktif reaksiyon merkezi miktarındaki azalmanın nedeni olarak DIO/RC ve  $\phi D_0$ 'daki artışı göstermiştir. Askorbik asit uygulaması ise tuz stresi uygulanan hıyar bitkilerinde fotokimyasal ve fotokimyasal olmayan reaksiyonların performansını ve aktif reaksiyon merkezi miktarını artırmıştır. Buna paralel olarak fotokimyasal olmayan olaylarda kaybedilen disipasyon enerjisi ve termal disipasyonun kuantum verimi de azalmıştır. Bu çalışmada ayrıca kapalı reaksiyon merkezlerinin birikim hızı ( $\Delta V/\Delta t_0$ ) tuz stresi uygulaması altındaki hıyar bitkilerinde önemli derecede artış göstermiştir. Bu sonuç da reaksiyon merkezlerinin tuz stresi etkisiyle indirgenmediğini ve kinonA'nın indirgenme yeteneğinin azaldığını açıkça göstermektedir. Askorbik asit uygulaması ise  $\Delta V/\Delta t_0$  değerini azaltarak kinonA'nın indirgenme yeteneğini artırmıştır. Sonuçlar aynı zamanda hıyar bitkilerinde tuz stresinin etkisiyle elektron taşınım sisteminin kinonA'dan sonraki bölümünde de elektron taşınım reaksiyonlarının belli oranda inhibe edildiğini göstermiştir. Nitekim FSII'de reaksiyon merkezi başına kinonA'dan sonraki basamaklardaki maksimum elektron taşınımı (ETo/RC), kinonA'dan plastokinona elektron taşınımının kuantum verimi ( $\phi E_0$ ), yakalanan bir eksitonun bir elektronu kinonA'dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme yeteneği ( $\Psi_0$ ) ve indirgenmiş plastokinon havuzunun boyutu (alan) parametrelerinde tuz stresi etkisiyle belirgin azalmalar tespit edilmiştir. Ancak askorbik asit uygulaması bu parametrelerin istatistiksel olarak artmasına ve kontrol seviyesine ulaşmasını sağlamıştır. Tüm bu değişimlerle uyumlu olarak, FSII'nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü olan SFIABS parametresi de tuz stresi etkisiyle azalırken, tuz stresi altındaki hıyar bitkilerine yapılan askorbik asit uygulaması ile artış göstermiştir.

Sonuç olarak; askorbik asidin bitkilerdeki fotosentetik etkinliği ve fotokimyasal aktivitesi üzerindeki çalışmalar oldukça sınırlıdır ve bu konuda çok az bilgi mevcuttur. Elde edilen sonuçlar tuz stresinin hıyar bitkilerinde fotosentezin elektron taşınım reaksiyonlarını sistemin farklı bölgelerinde belirgin derecede inhibe ettiğini göstermiştir. Sonuçlar tuz

stresinin hıyar bitkilerinde FSII'nin hem donör hem de akseptör bölgesindeki elektron hareketlerini belirli derecede inhibe ettiğini, askorbik asit uygulamasının ise bu inhibisyonu ortadan kaldırdığını göstermiştir. Bunun dışında tuz stresi aktif reaksiyon merkezlerinin miktarını azaltmış ve reaksiyon merkezlerinin oksitlenmesini ve kinonA ile plastokinonun indirgenme yeteneklerini azaltmış, termal disipasyon enerjisini artırmış ancak askorbik asit uygulaması bu olumsuz etkileri ortadan kaldırarak FSII'nin yapısal ve fonksiyonel olarak daha iyi durumda olmasını sağlamıştır. Buna göre, kök yoluyla gerçekleştirilen askorbik asit uygulamalarının hıyar bitkilerinde tuz stresinin PSII aktivitesi üzerindeki inhibitör etkisini ortadan kaldırdığını ve bu yaklaşımın tarımda kullanılmasıyla tuz stresinin yol açtığı ekonomik kayıpların önüne geçilebileceği sonucuna varılabilir.

### Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### KAYNAKLAR

- Agarwal S, Shaheen R 2007. Stimulation of antioxidant system and lipid peroxidation by abiotic stresses in leaves of *Momordica charantia*. *Braz J Plant Physiol* 19: 149–161.
- Ahmad P, Jhon R, Sarwat M, Umar S 2008a. Responses of proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in two varieties of *Pisum sativum* L. under salt stress. *Int J Plant Produc* 2(4): 353–366.
- Ahmad P, Sarwat M, Sharma S 2008b. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *J Plant Biol* 51(3): 167–173.
- Ahmad P, Jeleel CA, Azooz MM, Nabi G 2009. Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Bot Res Intern* 2: 11–20.
- Ahmad P, Jaleel CA, Salem MA, Nabi G, Sharma S 2010a. Roles of enzymatic and non enzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Crit Rev Biotechnol* 30(3): 161–175.
- Ahmad P, Jaleel CA, Sharma S 2010b. Antioxidative defence system, lipid peroxidation, proline metabolizing enzymes and biochemical activity in two genotypes of *Morus alba* L. subjected to NaCl stress. *Russ J Plant Physiol* 57: 509–517.
- Ahmad P, Umar S, Sharma S 2010c. Mechanism of free radical scavenging and role of phytohormones during abiotic stress in plants. In: Ashraf M, Ozturk M, Ahmad MSA (eds) *Plant adaptation and*



- phytoremediation. Springer, Dordrecht/Heidelberg/London/New York, pp 99–10.
- Ahmad P, Nabi G, Ashraf M 2011. Cadmium-induced oxidative damage in mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern. & Coss.] plants can be alleviated by salicylic acid. *South Afr J Bot* 77: 36–44.
- Ahmad P, Umar S 2011. Oxidative stress: role of antioxidants in plants. Studium Press, New Delhi.
- Ashraf M 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Science* 13: 17-42.
- Ashraf M 2002. Salt tolerance of cotton some new advances. *Critical Reviews in Plant Sciences* 21: 1–30.
- Ashraf M, Athar HR, Harris PJC, Kwon TR 2008. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Advances in Agronomy* 97: 45–110.
- Athar HR, Khan A, Ashraf M 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environ Exp Bot* 63: 224–231.
- Azevedo-Neto D, Prisco J, Eneas J, De Abreu C, Gomes E 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt sensitive maize varieties. *Environ. Exp. Bot.* 56: 87-94.
- Azzedine F, Gherroucha H, Baka M 2011. Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. *J Stress Physiol Biochem* 7: 27–37.
- Beltagi MS 2008. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. *Afr J Plant Sci* 2: 118–123.
- Billah M, Rohman MM, Hossain N, Shalim Uddin M 2017. Exogenous ascorbic acid improved tolerance in maize (*Zea mays* L.) by increasing antioxidant activity under salinity stress. *African Journal of Agricultural Research* 12: 1437–1446.
- Bjorkman O, Demmig B, 1987. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489–504.
- Conklin PL, Williams EH, Last RL 1996. Environmental stress sensitivity of an ascorbic acid-deficient Arabidopsis mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 9970–9974.
- Davey MW, Mantagu MV, Dirk I, Maite S, Angelos K, Smirnoff N, Binenzie IJJ, Strain JJ, Favell D, Fletcher J 2000. Plant ascorbic acid chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J Sci Food and Agri* 80: 825–850.
- De Tullio MC 2004. How does ascorbic acid prevent scurvy? A survey of the nonantioxidant functions of vitamin C. In: Asard H (ed) *Vitamin C: its function and biochemistry in animals and plants*. Garland Science/BIOS Scientific Publishers, London/New York, pp 176–190.
- Dehghan G, Rezazadeh L, Habibi G 2011. Exogenous ascorbate improves antioxidant defense system and induces salinity tolerance in soybean seedlings. *Acta Biol Szeged* 55: 261–264.
- Doğru A, Çakırlar H 2020a. Is leaf age a predictor for cold tolerance in winter oilseed rape plants? *Functional Plant Biology* 47: 250–262.
- Doğru A, Çakırlar H 2020b. Effects of leaf age on chlorophyll fluorescence and antioxidant enzymes in winter rapeseeds leaves under cold acclimation conditions. *Brazilian Journal of Botany* 43: 11–20.
- Doğru A 2019. Bazı arpa genotiplerinde kurşun toleransının klorofil a floresansı ile değerlendirilmesi. *Bartın University International Journal of Natural and Applied Science* 2(2): 228–238.
- Doğru A, Canavar S 2020. Bitkilerde tuz toleransının fizyolojik ve biyokimyasal bileşenleri. *Academic Platform Journal of Engineering and Science* 8(1): 155–174.
- Doğru A, Yılmaz Kaçar M 2019. A preliminary study on salt tolerance of some barley genotypes. *SAU Journal of Science* 23: 755–762.
- Dolatabadian A, Saleh Jouneghani R 2009. Impact of Exogenous ascorbic acid on antioxidant activity and some physiological traits of common bean subjected to salinity stress. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 37(2): 165–172.
- Flowers, T, Yeo A 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 875–884.
- Foyer 2004. The role of ascorbic acid in defense networks and signaling in plants. In: Asard H (ed) *Vitamin C: its function and biochemistry in animals and plants*. Garland Science/BIOS Scientific Publishers, London/New York, pp 73–91.
- Foyer CH, Noctor G 2005a. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell* 17: 1866–1875.
- Foyer CH, Noctor G 2005b. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell Environ* 28: 1056–1071.
- Fricke W, Peters WS 2002. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. *Plant Physiology* 129: 374–388.
- Georgieva K, Lichtenthaler HL 1999. Photosynthetic activity and acclimation ability of pea plants to low and high temperature treatment as studied by means of chlorophyll fluorescence. *Journal of Plant Physiology* 155: 416–423.
- Hamada AM, Al-Hakimi AM 2009. Exogenous ascorbic acid or thiamine increases the resistance of sunflower and maize plants to salt stress. *Acta Agron Hung* 57: 335–347.
- Hegazi AM, El-Shraiy AM, 2017. Stimulation of Photosynthetic Pigments, Anthocyanin,

- Antioxidant Enzymes in Salt Stressed Red Cabbage Plants by Ascorbic Acid and Potassium Silicate. *Middle East Journal of Agriculture Research* 6: 553–568.
- Hernandez M, Fernandez-Garcia N, Diaz-Vivancos P, Olmos E 2010. A different role for hydrogen peroxide and the antioxidative system under short and long salt stress in *Brassica oleracea* roots. *J Exp Bot* 61: 521–535.
- Irfan M, Nabeela Ilyas M, Rahman KU 2019. Effects of ascorbic acid against salt stress on the morphological and physiological parameters of *Solanum melongena* L. *Pure Appl. Biol.* 8(2): 1425–1443.
- Jajoo A 2013. Changes in Photosystem II in Response to Salt Stress P. Ahmad et al. (eds.), *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*, Springer Science+Business Media, LLC 2013.
- Kalaji MH, Pietkiewicz S 1993. Salinity effects on plant growth and other physiological processes. *Acta Physiologia Plantarum* 143: 89–124.
- Kalaji MH, Guo P 2008. Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breeding programs. Nova Publishers NY USA.
- Kalaji MH, Govindjee Bosa K, Koscielniak J, Golaszewska KZ 2011. Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO<sub>2</sub> assimilation of two Syrian barley landraces. *Environmental and Experimental Botany* 73: 64–72.
- Khafagy MA, Arafa AA, El-Banna MF 2009. Glycinebetaine and ascorbic acid can alleviate the harmful effects of NaCl salinity in sweet pepper. *Aust J Crop Sci* 3: 257–267.
- Li JM, Jin H 2007. Regulation of brassinosteroid signaling. *Trends Plant Sci* 12: 37–41.
- Maxwell K, Johnson NG 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659–668.
- Mehta P, Allakhverdiev SI, Jajoo A 2010a. Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Photosynth Res* 105: 249–255.
- Mehta P, Jajoo A, Mathur S, Bharti S 2010b. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiol Biochem* 48: 16–20.
- Mittal N, Thakur S, Verma H, Kaur A 2018. Interactive effect of salinity and ascorbic acid on *Brassica rapa* L. plants. *Global Journal of Bioscience and biotechnology* 7(1): 27–29.
- Mohamed MA, Matter MA, Saker MM 2010. Effect of salt stress on some defense mechanisms of transgenic and wild potato clones (*Solanum tuberosum* L.) grown in vitro. *Nat Sci* 12: 181–193.
- Munir N, Aftab F 2011. Enhancement of salt tolerance in sugarcane by ascorbic acid pretreatment. *Afr J Biotechnol* 10: 18362–18370.
- Munns R, James R, Läuchli A 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* 57(5): 1025–1043.
- Noble CL, Halloran GM, West DW 1984. Identification and selection for salt tolerance in lucerne (*Medicago sativa* L.). *Australian Journal of Agricultural Research* 35: 239–252.
- Panda SK, Upadhyay RK 2004. Salt stress injury induces oxidative alterations and antioxidative defence in the roots of *Lemna minor*. *Biol Plant* 48: 249–253.
- Papageorgiou GC, Murata N 1995. The unusually strong stabilizing effects of glycine betaine on the structure and function of the oxygen-evolving photosystem complex. *Photosynthesis Research* 44: 243–252.
- Parida AK, Das AB, Mohanty P 2004. Investigations on the antioxidative defense responses to NaCl stress in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential regulations of isoforms of some antioxidative enzymes. *Plant Growth Regul* 42: 213–226.
- Pastori GM, Kiddle G, Antoniw J, Bernard S, Veljovic-Jovanovic S, Verrier PJ, Noctor G, Foyer CH 2003. Leaf vitamin C contents modulate plant defense transcripts and regulate genes that control development through hormone signaling. *Plant Cell* 15: 939–951.
- Pereira WE, de Siqueira DL, Martinez CA, Puiatti M 2000. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminum stress. *Journal of Plant Physiology* 157: 513–520.
- Sajid ZA, Aftab F 2009. Amelioration of salinity tolerance in *Solanum tuberosum* L. by exogenous application of ascorbic acid. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 45(5): 540–549.
- Shalata A, Neumann PM 2001. Exogenous ascorbic acid (Vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *J Exp Bot* 52: 2207–2211.
- Shannon MC 1998. Adaptation of plants to salinity. *Advances in Agronomy* 60: 75–119.
- Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, Miyagawa Y, Takeda T, Yabuta Y, Yoshimura K 2002 Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J Exp Bot* 53: 1305–1319.
- SPSS 2013. IBM SPSS Statistics 22.0 for Windows. Armonk, NY.
- Tanaka Y, Hibino T, Hayashi Y, Tanaka A, Kishitani S, Takabe T, Yokota S, Takabe T 1999. Salt tolerance of transgenic rice overexpressing yeast mitochondrial Mn-SOD in chloroplasts. *Plant Science* 148: 131–138.
- Wang-Pruski G, Schofield A 2012. *Potato: Improving Crop Productivity and Abiotic Stress Tolerance. (Improving Crop Resistance to Abiotic Stress, First Edition. Ed. Tuteja N, Singh Gill S, Tiburcio AF, Tuteja R Published 2012 by Wiley-VCH Verlag GmbH, Co. KGaA.*



## Trakya Bölgesi Şaraplık Üzüm Çeşitlerinde Kısıntılı Sulama Uygulamalarının Yaprak ve Stoma Morfolojik Özelliklerine Etkileri

Serkan CANDAR<sup>1\*</sup>, Bekir AÇIKBAŞ<sup>2</sup>, İlknur KORKUTAL<sup>3</sup>, Elman BAHAR<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Yetiştirme Tekniği Bölümü, Tekirdağ, Türkiye, <sup>2</sup>Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Yetiştirme Tekniği Bölümü, Tekirdağ, Türkiye, <sup>3</sup>Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tekirdağ, Türkiye, <sup>4</sup>Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-2608-8691>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-0381-4969>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-8016-9804>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0002-8842-7695>

✉: serkan.candar@tarimorman.gov.tr

### ÖZET

Bu çalışma 2019 yılı vejetasyon döneminde, Trakya Bölgesi'nde yoğun olarak yetiştirilen Papazkarası (Klon 289), Adakarası (Klon 153), Karalahana, Yapıncak (Klon 175), Vasilaki, Cabernet-Sauvignon ve Sauvignon Blanc asma çeşitlerinde, yarı kontrollü koşullarda yürütülmüştür. Üzüm çeşitlerinin oluşturulan farklı kısıntılı sulama senaryoları altında yaprak ve stoma özelliklerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Çeşitlerin genetik karakterleri, incelenen kriterler bakımından istatistiki olarak önemli bulunurken, uygulamaların etkisi yalnızca yaprak alanlarında öne çıkmıştır. Sonuç olarak, bağcılığı yaşanan iklim krizinin etkileri altında sürdürülebilir kılmak için geliştirilen adaptasyon stratejilerinde, çeşitlerin morfolojik ve fizyolojik özelliklerinin mutlaka değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

### Araştırma Makalesi

### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 16.05.2020

Kabul Tarihi : 17.12.2020

### Anahtar Kelimeler

Vitis

İklim değişikliği

Yerel üzüm çeşitleri

Adaptasyon

Kuraklık

## The Effects of Water Deficit on Leaf and Stoma Morphological Properties of Wine Grapes in Thrace Region

### ABSTRACT

This study was conducted on the semi-controlled conditions on Papazkarası (Clone 289), Adakarası (Clone 153), Karalahana, Yapıncak (Clone 175), Vasilaki, Cabernet-Sauvignon and Sauvignon Blanc grape varieties which grown intensely in the Thrace Region during the 2019 vegetation period. Changes in leaf and stoma features of grape varieties were examined under different water deficit scenarios. While the genetic characteristics of the cultivars were found statistically significant in terms of the criteria examined, the effect of water deficit was only significant for leaf areas. As a result, it was considered that the morphological and physiological characteristics of the cultivars should be evaluated in the adaptation strategies that developed to sustain viticulture under the effects of the climate crisis.

### Research Article

### Article History

Received : 16.05.2020

Accepted : 17.12.2020

### Keywords

Vitis

Climate change

Local grape varieties

Adaptation

Drought

**Atıf İçin:** Candar S, Açıkbaş B, Korkutal İ, Bahar E 2021. Trakya Bölgesi Şaraplık Üzüm Çeşitlerinde Kısıntılı Sulama Uygulamalarının Yaprak ve Stoma Morfolojik Özelliklerine Etkileri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (4): 766-776. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.738285.

**To Cite :** Candar S, Açıkbaş B, Korkutal İ, Bahar E 2021. The Effects of Water Deficit on Leaf and Stoma Morphological Properties of Wine Grapes in Thrace Region. KSU J. Agric Nat 24 (4): 766-776. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.738285.

### GİRİŞ

Biyçeşitliliğin ve yerel çeşitlerin önemi bir çok araştırmacı tarafından defalarca vurgulanmıştır (Ergül ve ark., 2011; Meneghetti ve ark., 2012; Balda ve ark., 2013). Yerel çeşitlere yönelik artan ilginin nedeni tarih boyunca sürüp giden doğal bir olgu olmasına rağmen iklim değişikliğinin hiç olmadığı kadar hızlı gerçekleşiyor oluşu ve bu duruma insan etkisinin büyüklüğüdür. Bağcılığın Akdeniz

iklimindeki sürdürülebilirliğini sağlamak için yerel çeşitlerin adaptasyon kabiliyeti ve genetik çeşitliliğinden faydalanmak zorunlu görülmektedir.

Yapraklar, asmada fotosentez, transpirasyon ve karbon dengesinin oluşturulmasında, taç içi mikroklimanın düzenlenmesinde, bitki ve toprak su bütçesi dengesinin kurulmasında önemli fizyolojik görevleri olan organlardır (Nicotra ve ark., 2011; Wang ve ark., 2019). Asma tarafından üretilen toplam



biyokütle, yaprakların fotosentez sürecinde özümlediği karbon miktarıyla doğrudan ilişkilidir.

Yaprığın fizyolojik etkinliği; yaprak büyüklüğü ve/veya yaşı (Tozer ve ark., 2015), yılın iklim durumu ve bağcılık yapılan bölgenin genel karakteristik özellikleriyle alakalıdır (Peppe ve ark., 2011). Aynı zamanda asma üzerindeki toplam yaprak alanı, verimi ve olgunlaşma periyodundaki biyokimyasal süreçleri etkiler. Ancak yaprak şekli ve büyüklüğü kimi durumlarda etkisiz de olabilir (Chitwood ve ark., 2016b). Bitkiler üzerinde yaprakların diğer organlarla orantılı (allometrik) gelişme süreçleri, türler arasında değişim gösterir (Das Gupta ve Nath, 2015), bu durum hücre bölünmesi ve ardından hücre genişlemesi ile yönetilir.

Aynı bitki üzerinde farklı boğumlarda görülen şekil ve büyüklük değişimleri de heteroplasti, meristem dokularındaki gelişim süreçlerinin ve hücrelerin farklılaşması yoluyla ortaya çıkar (Poethig, 2010). Bu heteroplastik etki, klasik görüşe göre çevresel etkiler nedeniyle meydana gelirken, Chitwood ve ark. (2015)'na göre bitkilerin moleküler seviyede verdikleri tepkiler, çevresel etkilerden daha önce düzenlenmektedir. Chitwood ve ark. (2016a), ise yaprak şekli ve büyüklüğünün farklılaşmasında çevresel etmenlerin çeşitliliğine karşı geliştirilen adaptasyonun (çevresel plastidite/esneklik) özellikle asma gibi çok yıllık odunsu bitkilerde, evrimsel ve gelişimsel etkilerden farklı olarak ortaya çıkabileceğini bildirmiştir. Ayrıca, yaprağın meydana geliş sürecindeki etkilerin çevresel, gelişimsel ve genetik faktörlerin etkisi altında olduğu ve ortalama görünümünden saptamalar olabileceği de bildirilmektedir (Chitwood ve ark., 2016b). Bu bağlamda yaprakların, morfolojik ve fizyolojik özellikleri çeşit karakteri, sürgündeki pozisyonu ya da çevresel etkilerden farklı bir nedenle ortaya çıkabilir.

Yaprak büyüklüğü arttıkça yaprak yüzey direnci artmaktadır. Bu yüzden küçük yapraklarda ısı, gaz ve su buharının akışkanlığı, taşınımı büyük yapraklara göre daha fazladır. Bu yolla özellikle sıcak ve kurak iklimlerde, yüksek ışık şiddetine maruz kalınan durumlarda küçük yaprakların, daha düşük yaprak sıcaklıklarında tutunarak aşırı ısınmadan kaçındığı bilinmektedir. Büyük yapraklar ise daha serin, nemli ve düşük ışık ortamında daha düşük enerji değişim kapasiteleriyle daha avantajlı olabilirler (Tozer ve ark., 2015; Wang ve ark., 2019). Ayrıca kullanılabilir suyun azalmasıyla da yaprak alanlarının azalma eğilimi göstermesi beklenir (Cramer ve ark., 2009).

Stoma, bitki ve dış ortam arasındaki hayati bir geçiş noktasıdır ve bitkinin çevresel etmenlere verdiği tepkilerde merkezi bir rol oynar (Montoro ve ark., 2016). Yaprak, yüzeydeki stomatal gözenekler vasıtasıyla fotosentez için CO<sub>2</sub>'yi yakalarken, kaçınılmaz olarak su kaybedilir. Genotiplere ve çevre koşullarına bağlı olarak stoma gözeneklerinin

yoğunluğu, gözenek açıklığı ve bunların düzenlediği fotosentez ve transpirasyon oranları çeşitlilik gösterir. (Lawson ve Blatt, 2014).

Kuraklık dönemlerinde asmalar, CO<sub>2</sub> özümlemesi için gereken gaz değişimi sürdürmek ve aynı zamanda aşırı su kaybını engellemek ikilemiyle karşı karşıya kalır. Bu durumda turgor basıncındaki düzenlemeler ile stomalar aktif olarak görev alır (Ledru ve ark., 2016). Stomalar çoğunlukla yaprakta bulunurlar. Yapraktaki yerleri ise bitki türlerine göre farklılık gösterebilir. Birçok türde yaprakların hem alt hem üst yüzeyinde bulunabilirken (amfistomatik), asmanın da içinde bulunduğu çoğu tür, hipostomatik olarak gruplandırılır ve stomalar yaprakların alt yüzeyinde yer alır (Lebon ve ark., 2006; Alonso-Villaverde ve ark., 2011).

*Vitis* türleri ve çeşitleri arasında stoma morfolojisinde ve açma ve kapama mekanizmalarında ve fizyolojik süreçlere katılımlarında farklılıklar olduğu bilinmektedir (Franks ve Farquhar, 2007; Rogiers ve ark., 2011).

Değişken çevresel koşullar altında stoma kontrol davranışlarına dayanarak, bitkiler izohidrik ve anizohidrik olarak gruplandırılır. İzohidrik bitkiler, kuraklığa maruz kalan veya kalmayan bitkilerde neredeyse sabit yaprak su potansiyelinin korunmasını sağlayan sıkı bir stoma düzenlemesine sahiptirler. Buna karşılık anizohidrik bitkiler, toprak suyu açığı ve buharlaşma talebi altında yaprak suyu potansiyelinde büyük dalgalanmalara yol açar ve daha düşük stoma kontrolünü gösterir (Prieto ve ark., 2010).

Stoma morfolojisi ve fizyolojik süreçlere katılım mekanizmaları özellikle son dönemde üzerinde çokça çalışılmış bir konudur. Stomaların yoğunluğu ve büyüklüğünün bağ mildiyösü (*Plasmopara viticola*) ile ilişkisi (Lu ve ark., 2010; Boso ve ark., 2016), stoma özelliklerinin yaprak yüzeyindeki konumu, bulunduğu sürgünün yaşı ve kökenine göre değişimi (Palliotti ve ark., 2000), stoma sayısı ve yaprak özelliklerinin ilişkisi (Santiago ve ark., 2007), atmosferik CO<sub>2</sub> değişiminin stoma sayısı ve yoğunluğu üzerine etkileri (Moutinho-Pereira ve ark., 2009; Rogiers ve ark., 2011; Kunter ve ark., 2015), stoma iletkenliği (g<sub>s</sub>) ile stoma sayısının ve stoma açıklığı oranının ilişkileri (Franks ve Beerling, 2009), su stresi (Marasalı ve Aytakin, 2002; Costa ve ark., 2012), toprak sıcaklıkları (Rogiers ve ark., 2011), farklı yetiştiricilik uygulamaları (Atik ve Dardeniz, 2018), rüzgâr (Gökbayrak ve ark., 2008) ve yaprak yüzeylerindeki mikroorganizmaların stomalar ile etkileşimleri (Konnlecher ve Sauner, 2016), anaç ve çeşitlerin genetik farklılıkları (Gargın, 2009; İşçi ve ark., 2015; Bekişli ve Gürsöz, 2016; Uyak ve ark., 2016) çeşitli çalışma alanları olarak öne çıkmaktadır.

Bu çalışmada, Trakya Bölgesi'nde yetiştirilen şaraplık üzüm çeşitlerinin farklı kısıntılı sulama uygulamaları



altında, bazı yaprak ve stoma özelliklerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir.

## MATERYAL ve METOD

### Lokasyon ve Bitkisel Materyal

Çalışma, 2019 yılında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü deneme alanlarında, yarı kontrollü şartlarda yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak Trakya Bölgesi yerli şaraplık çeşitlerinden; Papazkarası (Klon 289), Adakarası (Klon 153), Karalahana, Yapıncak (Klon 175), Vasilaki ve dünya genelinde iyi tanınan ve kuraklık stresi karşısında farklı tepkiler gösteren Cabernet-Sauvignon ve Sauvignon Blanc çeşitlerinin bir yıllık çelikleri kullanılmıştır. Klon olduğu belirtilen çeşitlerin seleksiyonu, daha önce Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nce yapılmıştır.

### Metod

Enstitü parsellerinden, önemli virüsler bakımından daha önce testlenmiş ve virüsten arı olduğu bilinen sağlıklı omcalardan, budama zamanı dipçikli ve 7-8 gözlü olarak alınan çelikler, hızlı daldırma metoduyla 4000 ppm'lik IBA uygulanıp, yaklaşık 4 hafta boyunca ortalama 24-26°C sıcaklık, %70 nem ve 8 saat aydınlık ve 16 saatlik kısa gün şartlarında torf:perlit (1:1) karışımında köklendirilmiştir.

Köklendirilmiş ve sürmüş çelikler, Mayıs ayının ilk haftası, deneme alanında 14 litrelik ve yetiştirme ortamı olarak tarım perlit (Kale Perlit, Türkiye) kullanılan, altlıklı saksılara, 3-4 göz (boğum) perlit içinde (ve gözler köreltilerek) ve 3-4 göz dışında (üstünde) kalacak şekilde dikilmiştir. Adventif kök

gelişiminin başladığı (en üst yazlık sürgünlerde sülükler görüldüğünde) dönemde, en üstteki 2-3 sürgün dipten kesilerek çıkarılmış, böylece perlitin üst seviyesinde kalan 2-3 gözden oluşan yeni sürgünlerin daha kuvvetli gelişmesi sağlanmıştır.

Lorenz ve ark. (1995)'e göre salkımlar görülür hale geldiğinde (EL 15-17) tamamı kopararak uzaklaştırılmış ve tüm omcalarda fazla sürgünler çıkarılarak 2'şer sürgün bırakılmıştır. Sürgünler yaklaşık 170-175 cm uzunluğa ulaştığında (EL 29-31) tepe alma yapıp, deneme sonuna kadar (koltuk yapraklarıyla birlikte) aynı sürgün uzunluğu korunmuştur. Her saksıya her dikilerek sürgünler bağlanmış, dik şekilde gelişmeleri sağlanmıştır. Oluşturulan parsellerin altına jüt örtü serilerek sıra başı direkleriyle desteklenmiş, her sıradaki her saksının hereği üst seviyeden geçirilen bağlama teline bağlanmıştır.

Bitki besleme işlemleri için enstitüde bulunan bilgisayar kontrollü sulama ve gübreleme sistemi kullanılmıştır. Tüm omcalar homojen sürgün uzunluğuna sahip olacak seviyeye geldiğinde, bu döneme kadar perlitin su tutma kapasitesi hesaplanarak standart miktarlarda sulanmış olan bitkiler su stresinin yaratılması için sulama düzeyi önceden hesaplanmış olan saksı başına günlük sulama düzenine geçilmiştir. Tüm vejetasyon süresince hastalık, zararlı ve yabancı ot mücadelesi standart olarak sürdürülmüştür. Vejetasyon dönemi boyunca uygulanan besin solüsyonları ve uygulama tarihleri Çizelge 1'de paylaşılmıştır. Uygulanan solüsyonlar dönem içinde 4 kez analiz edilerek kalibrasyonları sağlanmıştır.

Table 1. Nutrient solutions applied during the vegetation period and application dates.

### Çizelge 1. Vejetasyon dönemi boyunca uygulanan besin solüsyonları ve uygulama tarihleri.

Besin Elementi	Aralık Değerleri	Solüsyon 1 ve 2 (ppm)			Solüsyon 3 (ppm)		Solüsyon 4 (ppm)	
		14.05.2019-02.07.2019		02.07.2019-30.07.2019		30.07.201-09.09.2019		
ΣN	50-200	-	85.9	-	112.1	-	-	
P	40-60	17.5	-	-	18.2	-	-	
K	175-350	15.7	152.5	-	137.0	-	-	
Ca	100-150	50.0	58.0	-	99.4	-	-	
Mg	30-90	16.5	34.7	-	65.6	-	-	
S	75-150	18.5	21.7	-	45.0	-	-	
Fe	1-12	3.85	12.6	-	5.6	-	-	
Cu	0.02-0.2	0.22	0.15	-	0.15	-	-	
Zn	0.05-1	0.46	0.14	-	0.29	-	-	
Mn	0.4-1	0.86	0.42	-	0.41	-	-	
B	0.008-0.5	0.25	0.16	-	0.18	-	-	
Mo	0.001-0.2	0.38	0.11	-	0.38	-	-	

Çeliklerin saksılara dikilmesiyle birlikte, İlahi ve Ahmad (2017)'e göre günlük 4 litre olarak hesaplanan perlit sulama miktarı, buharlaşma ve bitkinin fiziksel durumu gözlenerek Çizelge 2'deki miktarlarla düzenlenmiştir. Saatte 4 litre sulama yapan damlatıcılar kullanılarak uygulamaların sulama süreleri düzenlenmiştir. Bilgisayar kontrollü sistemle

gün içinde 5 farklı zamanda sulama yapılarak hesaplanan toplam günlük sulama süresi tamamlanmıştır. Kısıntılı sulama uygulamalarının başlamasıyla birlikte saksıların üzerleri kapatılarak, istenmeyen yağışların denemeyi etkilemesi önlenmiştir.

Table 2. Amounts of water applied during the vegetation period.

*Çizelge 2. Vejetasyon dönemi boyunca uygulanan su miktarları.*

Tarih aralığı	Günlük sulama süresi (dk)	Günlük verilen su (litre)
15.05-14.06.2019	75	5.00
14.06-28.06.2019	110	7.33
28.06-16.09.2019	120	8.00
16.09-04.10.2019	100	6.67
04.10-11.10.2019	40	2.67
11.10-31.10.2019	30	2.00

Tüm bitkilerin yaklaşık 170-175 cm uzunluğa ulaştığı 29.07.2019 tarihi itibarıyla %100 sulama uygulamasında günlük 8 litre olarak verilen su miktarı %75, %50, %25 ve %0 olarak azaltılmış ve

deneme sonu olan 16.09.2019'a kadar (210. ve 249. takvim günleri arasında) bu sulama rejimi sürdürülmüştür (Çizelge 3). Çalışma bulgularında %0 uygulamasının bitkileri yer almamıştır.

Table 3. Amounts of water applied during the water deficit period.

*Çizelge 3. Kısıntılı sulama dönemi boyunca uygulanan su miktarları.*

Tarih aralığı	Uygulama	Günlük sulama süresi (dk)	Günlük verilen su miktarı (litre)
29.07.2019 – 16.09.2019	%100	120	8.00
	%75	90	6.00
	%50	60	4.00
	%25	30	2.00
	%0	0	0.00

### İklim Verileri

Deneme süresince iklim verilerinin takibi, deneme alanının içine kurulan bulut tabanlı iklim istasyonundaki (Mrme AR-GE Bilişim, Türkiye) sıcaklık ve nem (THGR810 Oregon scientific, ABD), rüzgar hızı ve yönü (WGR 800, Oregon scientific, ABD), yağış (PCR 800, Oregon scientific, ABD) ve ışık şiddeti (SQ-520 quantum Sensor, Apogee Instruments Inc., ABD.) duyarlarından sağlanmıştır.

### Yaprak Alanı

Her uygulamanın her tekerrüründeki 5 asmanın, aynı yöne bakan (güneydoğu) 8. ve 9. boğumlarından alınan 10'ar adet tam gelişmiş, sağlıklı, ana ve koltuk yaprakları ayrı etiketlenerek, plastik torbalar içinde laboratuvara getirilmiş, tarayıcıda (L382, Seiko epon corp. Japonya) taranmış, elde edilen görüntüler açık kaynak kodlu ImageJ yazılımıyla (Loci, Wisconsin Üniversitesi, ABD) işlenerek yaprak alanları hesaplanmıştır.

### Stoma Morfolojik Özellikleri

Aynı yöntemle toplanan 10 adet yaprağın alt yüzeyindeki ana damar ile sağ ve sol lateral damarların arasındaki yaprak ucu kısmından yaklaşık 1 × 1 cm'lik alana (Flormar, Kosan Kozmetik San. ve Tic. Anon. Şir., Türkiye) bir iki kat tırnak cilası sürülmüştür. Yüzey kısa süre kuruduktan sonra bistüri ve pens yardımıyla sökölerek 10x40 büyütme ışık mikroskopuda (DM 1000 LED, Leica, Almanya) incelenerek görüntüleri bilgisayara kaydedilmiştir. Kaydedilen görüntüler LAS X (Leica, Almanya) yazılımıyla 0.064 mm<sup>2</sup>'lik alan üzerinden ölçülmüş ve

sayılmış, 1 mm<sup>2</sup>'deki stoma sayıları hesaplanmıştır. Yaprak yüzeyinde % stoma alanı Zobayed ve ark. (2001)'dan modifiye edilerek,

$$\% \text{ stoma alanı.yaprak}^{-1} = \frac{(YTSA)}{YA} . 100$$

*YTSA= yapraktaki toplam stoma alanı*

*YA= yaprak alanı*

*YTSA= bir stoma alanı . yapraktaki toplam stoma sayısı (Formül 1)*

formülüne göre hesaplanmıştır. Yaprak alanları ve stoma özellikleri verileri 06.09.2019 günü alınmıştır.

### Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Araştırma tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre 7 çeşit, 3 tekerrür, 5 sulama uygulamasıyla, her tekerrürdeki 8 omcanın 5' inden veri alınarak yürütülmüştür. Alınan veriler SPSS 15.0 versiyonlu istatistik programında varyans analizi yapıldıktan sonra, çeşit ana etkisi, sulama uygulaması ana etkisi ve interaksyonları oluşmuştur. Ana etkilerin ortalamaları Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmış ve istatistiki değerlendirmeleri yapılmıştır.

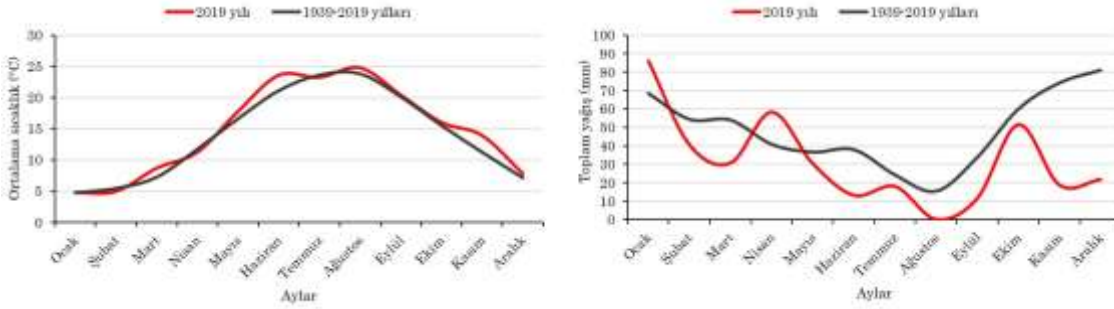
### BULGULAR ve TARTIŞMA

#### İklim Verileri

Tekirdağ'da 2019 yılı sıcaklık ortalaması 14.79°C olarak kaydedilirken 1939-2019 ortalaması 14.00°C olmuştur. Vejetasyon dönemi sıcaklık ortalaması ise 2019 yılında 20.19°C ile 19.48°C olan uzun yıllar ortalamasından 0.71°C daha sıcaktır. 580.90 mm olan uzun yıllar toplam yağış ortalaması 2019 yılında 379.20mm olarak kaydedilmiştir. 2019 yılında vejetasyon süresince 130.60 mm yağış alınmıştır. Bu

değer uzun yıllar ortalaması dikkate alındığında 188.70 mm olarak hesaplanmaktadır. Tekirdağ ve tüm Trakya Bölgesi'nde görülen ortalama sıcaklıkların

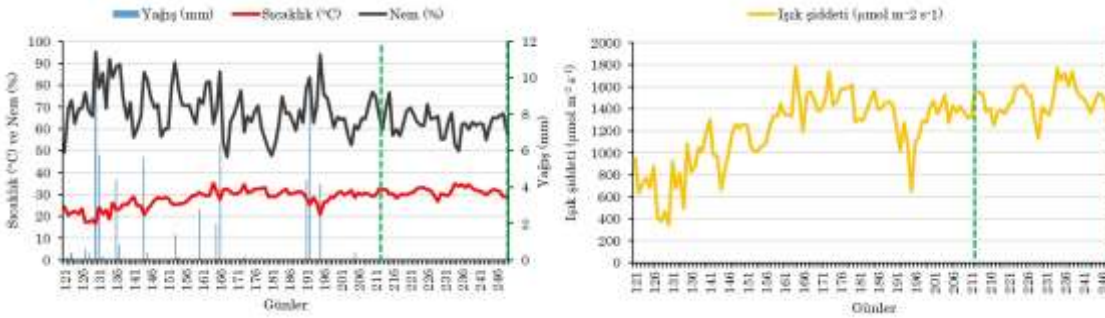
nisbi artışı ve yağış rejiminin dalgalı seyri 2019 yılında da görülmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Deneme alanında 1939-2019 arası ve 2019 yılına ait bazı iklim verileri.  
Figure 1. Some climate data from 1939 to 2019 and 2019 in the trial area.

01.05.2019-06.09.2019 tarihleri arası deneme alanında kaydedilen bazı iklim verileri Şekil 2'de paylaşılmıştır. Kısıntılı sulama uygulamalarının sürdürüldüğü 210. ve 249. günler arasındaki ortalama

sıcaklık 31.16°C, ortalama nem %63.26 ve ortalama ışık şiddeti 1467.88  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır. Ayrıca bu günler arasında hiç yağış alınmadığı görülmektedir.



Şekil 2. Deneme alanında 01.05.2019(121. takvim günü) ve 06.09.2019 (249. takvim günü) arasında görülen bazı iklim verileri. Dikey yeşil çizgiler kısıntılı sulama uygulaması tarihlerini ifade etmektedir.  
Figure 2. Some climate data seen in the trial area between 01.05.2019 (121<sup>st</sup> calendar day) and 06.09.2019 (249<sup>th</sup> calendar day). Vertical green lines indicate limited irrigation application dates.

### Yaprak Alanı (cm<sup>2</sup>)

İncelenen yapraklar arasında çeşit ana etkisi bakımından en büyük ana ve koltuk yaprak alanlarına Adakarası çeşidi sahiptir. En küçük yaprakların ise çeşit ana etkisi açısından Cabernet-Sauvignon çeşidinden ölçüldüğü görülmektedir. Ana yaprak alanları üzerine çeşitlerin ana etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Koltuk yaprakları da çeşitler ve uygulamalar açısından istatistiki olarak anlamlı ve farklı büyüklüklere sahip olmuştur. Çeşit uygulama interaksiyonları ise hem ana yapraklar hem de koltuk yapraklarında istatistiki olarak önemsizdir. Ana ve koltuk yapraklarında kısıntılı sulama uygulamalarına bağlı olarak ölçülen büyüklükler Çizelge 4'de paylaşılmıştır.

Kısıntılı sulama uygulamaları bakımından, ana yapraklarda önemli olmasa da, azalan kullanılabilir su ile birlikte yaprak alanlarının azalma eğilimi sergilediği görülmektedir. Bu eğilim genel görüş ile uyumludur (Cramer ve ark., 2009). Diğer yandan küçük yaprakların morfolojik yapıları itibariyle, daha

düşük yaprak yüzey direncine sahip olmaları ve yaprak sıcaklıklarını düşürmeleri kurak şartlara faydalı bir adaptasyon olarak bilinmektedir (Leigh ve ark., 2017). Ancak Chitwood ve ark. (2016b)'na göre fizyolojik yarayışlılık açısından yaprak şekli ve büyüklüğünün her zaman anlamlı olmadığı da unutulmamalıdır. Yine de izohidrik olarak bilinen Cabernet-Sauvignon (Simonneau ve ark., 2017) çeşidinin en küçük yaprak alanlarına sahip olması, karasal iklime adapte olmuş bir çeşit olan Papazkarası'nın ve şiddetli rüzgarlara adapte olmuş Vasilaki çeşidinin istatistiki olarak önemli ve düşük gruplarda yer alması bakımından anlamlı bulunmuştur.

### Stoma Sayısı (mm<sup>2</sup> adet<sup>-1</sup>)

Sıcak hava dalgaları, aşırı ışık şiddeti, kurak dönemler ve aşırı rüzgar gibi olumsuz koşullara maruz kalan bitkiler, stoma iletkenliğinin azalmasıyla başa çıkmak için stoma sayısını artırır (Lebon ve ark., 2006). Stoma sayıları bakımından Cabernet-Sauvignon tüm çeşitler

içinde yüksek sayıya ulaşan ve kuraklığa en dayanıklı genotip olurken, kurağa hassas olduğu bilinen Sauvignon Blanc (Fraga, 2019) bu anlamda beklenilenin aksine davranış göstermiştir (Çizelge 5). Genetik farklılığın stoma sayısı bakımından önemli olması beklense de, bu kriterin dormansi dönemi ve

vejetatif dönemdeki yağış ve sıcaklık gibi abiyotik faktörlerden etkilendiği (Montoro ve ark., 2016) ve belirli iklim senaryoları altında görülen stoma özelliklerinin, farklı çevre şartlarında ortaya çıkmayabileceği de bildirilmektedir (Tardieu, 2011).

Table 4. The effect of varieties and applications on the main leaf (cm<sup>2</sup>) and lateral leaf area (cm<sup>2</sup>).

Çizelge 4. Ana yaprak alanı (cm<sup>2</sup>) ve koltuk yaprağı alanı (cm<sup>2</sup>) üzerine çeşitlerin ve uygulamaların etkisi.

Çeşit	Ana yaprak alanı (cm <sup>2</sup> )				ÇAE
	Kısıntılı sulama uygulamaları				
	%25	%50	%75	%100	
Adakarası	186.21±17.93	199.90±41.78	190.66±10.22	201.34±5.72	194.51±10.18 <b>a</b>
Cabernet sauvignon	100.37±7.31	88.89 ±10.37	111.35±16.65	119.90±12.46	105.15±6.27 <b>d</b>
Karalahana	158.51±5.67	144.30±14.54	156.74±3.35	154.24±22.11	153.47±6.04 <b>b</b>
Papazkarası	117.88±19.82	110.00±24.62	136.16±27.94	125.75±44.28	122.45±10.91 <b>cd</b>
Sauvignon blanc	139.29±8.46	146.60±10.80	131.61±26.24	138.40±1.44	138.99±6.52 <b>bc</b>
Yapıncak	58.18 ±1.89	147.00±26.18	137.95±8.15	144.40±34.07	121.90±14.52 <b>cd</b>
Vasilaki	115.06±4.99	147.71±15.86	96.64 ±14.36	125.20±24.02	121.16±8.89 <b>cd</b>
UAE	125.08±9.29	140.63±10.24	137.30±8.39	144.20±8.79	

Çeşit	Koltuk yaprak alanı (cm <sup>2</sup> )				ÇAE
	Kısıntılı sulama uygulamaları				
	%25	%50	%75	%100	
Adakarası	113.98±3.74	96.62 ±14.77	106.63 ±16.43	125.01 ±14.07	110.56 ±22.23 <b>a</b>
Cabernet sauvignon	76.01 ±3.70	67.33 ±2.34	70.33 ±15.02	73.45 ±3.38	71.78 ±3.55 <b>c</b>
Karalahana	90.55 ±6.02	80.83 ±19.32	99.43 ±22.98	94.00 ±4.86	91.20 ±4.53 <b>b</b>
Papazkarası	79.81 ±16.83	84.54 ±18.84	82.27 ±7.26	87.15 ±14.40	83.44 ±6.44 <b>bc</b>
Sauvignon blanc	66.35 ±5.02	77.86 ±6.24	88.01 ±7.21	86.70 ±6.66	79.73 ±3.75 <b>bc</b>
Yapıncak	47.32 ±0.97	80.89 ±13.53	96.81 ±11.24	104.35 ±8.99	82.34 ±7.83 <b>bc</b>
Vasilaki	60.05 ±1.33	82.89 ±7.77	81.59 ±21.50	93.94 ±14.47	79.62 ±6.86 <b>bc</b>
UAE	76.29 ±5.04 <b>c</b>	81.57 ±4.16 <b>bc</b>	89.30 ±5.11 <b>ab</b>	94.94 ±4.73 <b>a</b>	

\*Aynı sütun ve/veya satırda farklı harflerle ifade edilen değerler Duncan testine göre P<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir. Veriler tekerrür ortalamaları ve standart hatalarıyla paylaşılmıştır. ÇAE: Çeşit ana etkisini, UAE: Uygulama ana etkisini belirtmektedir.

\*Values expressed with different letters in the same column and/or row are statistically significant at the P < 0.05 level according to the Duncan test. Data are given as repetition averages and with standard errors. ÇAE: Represents variety main effect, UAE: Indicates application main effect.

Table 5. The effect of varieties and applications on stoma number (mm<sup>2</sup> pcs<sup>-1</sup>).

Çizelge 5. Stoma sayısı üzerine çeşitlerin ve uygulamaların etkisi (mm<sup>2</sup> adet<sup>-1</sup>).

Çeşit	Stoma sayısı (mm <sup>2</sup> adet <sup>-1</sup> )				ÇAE
	Kısıntılı sulama uygulamaları				
	%25	%50	%75	%100	
Adakarası	91.83±23.31	94.48±40.55	116.08±33.05	142.07±37.52	111.11±15.81 <b>ab</b>
Cabernet sauvignon	141.21±3.77	159.40±16.52	143.81±48.14	116.09±16.52	140.13±12.35 <b>a</b>
Karalahana	67.57±6.00	70.17±6.54	81.43±25.52	35.09±2.25	63.56±7.65 <b>c</b>
Papazkarası	127.35±13.75	119.55±23.43	142.07±57.67	93.56±6.00	120.63±14.64 <b>ab</b>
Sauvignon blanc	115.22±15.03	119.55±6.00	130.10±18.17	114.35±6.00	119.81±5.66 <b>ab</b>
Yapıncak	114.35±21.00	102.22±25.52	89.23±28.64	93.56±18.00	99.84±10.49 <b>b</b>
Vasilaki	137.74±4.50	143.81±13.53	116.09±17.06	106.56± 4.50	126.05±6.67 <b>ab</b>
UAE	113.61±7.10	115.60±9.30	116.97±12.31	100.18±8.77	

\*Aynı sütun ve/veya satırda farklı harflerle ifade edilen değerler Duncan testine göre P<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir. Veriler tekerrür ortalamaları ve standart hatalarıyla paylaşılmıştır. ÇAE: Çeşit ana etkisini, UAE: Uygulama ana etkisini belirtmektedir.

\*Values expressed with different letters in the same column and/or row are statistically significant at the P < 0.05 level according to the Duncan test. Data are given as repetition averages and with standard errors. ÇAE: Represents variety main effect, UAE: Indicates application main effect.



Yine de kurak ve rüzgarlı orijine adapte olmuş Adakarası ve benzer şiddetli rüzgarların hakim olduğu bir kökene sahip Vasilaki çeşitleri, olumsuz şartlarda stoma sayısının arttığı düşüncesine uygun davranış sergilemiştir. Öte yandan kısıntılı sulama uygulamalarının gerçekleştiği dönemde sıcaklık ortalamasının 31.16°C ve ortalama nemin %63.26 seviyelerinde seyretmesi bu görüşü desteklemektedir. Stoma sayısı, kısıntılı sulama uygulamaları bakımından incelendiğinde en düşük stoma sayısı değerleri %100 uygulamasında görülürken, istatistiki

olarak önemsiz de olsa artan kısıntılı sulamayla stoma sayılarında yükseldiği görülmektedir.

### Stoma Genişliği ve Uzunluğu (µm)

Stomaların su kaybını engelleme kabiliyetinin kısmen stoma boyu ile açıklanabildiği bilinmektedir (Fanourakis ve ark., 2015). Sulama uygulamaları bakımından da istatistik açıdan farklılık görülmemektedir (Çizelge 6).

Table 6. The effect of varieties and applications on stoma width (µm) and stoma length (µm)

Çizelge 6. Stoma genişliği (µm) ve stoma uzunluğu (µm) üzerine çeşitlerin ve uygulamaların etkisi.

Çeşit	Stoma genişliği (µm)				ÇAE
	Kısıntılı sulama uygulamaları				
	%25	%50	%75	%100	
Adakarası	12.39 ±1.38	11.46 ±0.89	14.82 ±2.32	11.63 ±1.08	12.57± 0.76 <b>b</b>
Cabernet sauvignon	15.27 ±0.32	14.49 ±0.38	14.69 ±0.25	15.14 ±1.12	14.90± 0.28 <b>a</b>
Karalahana	11.97 ±0.40	15.58 ±0.43	14.51 ±1.61	15.42 ±0.25	14.37± 0.57 <b>a</b>
Papazkarası	12.38 ±1.51	12.86 ±0.74	13.42 ±0.62	12.20 ±0.06	12.71± 0.40 <b>b</b>
Sauvignon blanc	13.04 ±0.19	13.77 ±0.33	13.90 ±0.57	14.72 ±0.23	13.86± 0.23 <b>ab</b>
Yapıncak	14.51 ±0.68	16.40 ±1.80	15.92 ±1.95	13.93 ±0.96	15.19± 0.69 <b>a</b>
Vasilaki	15.38 ±1.45	14.45 ±0.71	15.14 ±0.18	12.47 ±0.37	14.36± 0.49 <b>a</b>
UAE	13.56 ±0.43	14.14 ±0.44	14.63 ±0.45	13.64 ±0.39	

Çeşit	Stoma uzunluğu (µm)				ÇAE
	Kısıntılı sulama uygulamaları				
	%25	%50	%75	%100	
Adakarası	22.07 ±1.53	20.62 ±1.32	18.85 ±0.87	20.11 ±2.00	20.41± 0.72 <b>b</b>
Cabernet sauvignon	25.72 ±1.14	24.48 ±0.99	24.32 ±1.13	24.43 ±1.59	24.74± 0.55 <b>a</b>
Karalahana	20.94 ±0.76	25.53 ±0.50	26.02 ±3.88	22.93 ±0.77	23.85± 1.06 <b>a</b>
Papazkarası	23.61 ±1.47	22.56 ±1.70	26.25 ±0.91	24.16 ±0.12	24.14± 0.65 <b>a</b>
Sauvignon blanc	23.82 ±0.70	24.02 ±0.83	24.97 ±0.85	25.41 ±0.08	24.55± 0.35 <b>a</b>
Yapıncak	22.96 ±0.67	27.17 ±0.89	26.56 ±3.53	25.02 ±0.32	25.43± 0.93 <b>a</b>
Vasilaki	23.71 ±2.25	25.48 ±1.59	28.12 ±0.88	23.65 ±1.28	25.24± 0.87 <b>a</b>
UAE	23.26 ±0.52	24.26 ±0.58	25.01 ± 0.91	23.67 ± 0.51	

\*Aynı sütun ve/veya satırda farklı harflerle ifade edilen değerler Duncan testine göre P<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir. Veriler tekrerrür ortalamaları ve standart hatalarıyla paylaşılmıştır. ÇAE: Çeşit ana etkisini, UAE: Uygulama ana etkisini belirtmektedir.

\*Values expressed with different letters in the same column and/or row are statistically significant at the P<0.05 level according to the Duncan test. Data are given as repetition averages and with standard errors. ÇAE: Represents variety main effect, UAE: Indicates application main effect.

Yaprak boyutu ile stoma boyutu veya sayısı arasında ya da stoma sayısı ve boyutu arasında bir ilişki görülmediği Bosso ve ark. (2016) tarafından bildirilmiştir. Yaprak alanı bakımından Adakarası çeşidi, tüm çeşitler arasında en büyük alana sahip olmasına rağmen stoma boyutları bakımından en düşük istatistiki grupta yer almıştır. Görülen bu durum araştırmacıların çalışmasıyla paraleldir. Karalahana ise en düşük stoma sayısına sahip iken, stoma genişlik ve boyları istatistiki olarak daha yüksek sınıfta yer almıştır.

### Stoma Alanı (µm<sup>2</sup>)

Stoma alanı değerleri Çizelge 7'de paylaşılmıştır. Bu veriler de stoma genişliği ve uzunluğunda olduğu gibi değerlendirilebilir. Fakat bu açıdan bakılsa bile Adakarası düşük stoma boyutlarına rağmen Sauvignon Blanc çeşidiyle birlikte en fazla vejetatif gelişme gösteren çeşit olmuştur. Artan stoma alanının genel olarak stoma iletkenliği değerini yükselttiği kabul edilmektedir. Ancak Adakarası çeşidinin yüksek vejetatif gelişme kuvveti göstermesi, stoma alanlarının gerçek bitki su kullanım etkinliği [(net fotosentez(A)/stoma iletkenliği(g<sub>s</sub>)] ve anlık su kullanım etkinliği [net fotosentez(A)/transpirasyon(E)]

değerleriyle ilişkilendirmenin daha doğru sonuçlar vereceğini düşündürmektedir.

### Yaprak Yüzeyinde Stoma Alanı (%)

Adakarası ile Karalahana çeşitleri en düşük yaprak yüzeyinde stoma alanı değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Cabernet-Sauvignon çeşidi en küçük yapraklı çeşit olmasına rağmen yaprak yüzeyindeki %

stoma alanı bakımından en yüksek değere sahip bulunmuştur. Karalahana çeşidi stoma alanı bakımından yüksek sınıfta iken, yaprak yüzeyindeki % stoma alanı açısından en düşük değerleri almıştır. Sulama uygulamaları incelendiğinde istatistiki olarak önemli olmamakla birlikte, suyun azalmasıyla birlikte % stoma alanlarında azalma eğilimi görülmüştür (Çizelge 7).

Table 7. The effect of varieties and applications on the stoma area ( $\mu\text{m}^2$ ) and % stoma area on leaf surface  
Çizelge 7. Stoma alanı ( $\mu\text{m}^2$ ) ve yaprak yüzeyinde % stoma alanı üzerine çeşitlerin ve uygulamaların etkisi.

Çeşit	Stoma alanı ( $\mu\text{m}^2$ )				ÇAE
	%25	%50	%75	%100	
Adakarası	277.77 ±85.97	238.73±56.10	275.62 ±56.76	237.09±68.52	257.30± 17.71 <b>c</b>
Cabernet sauvignon	393.46 ±44.48	355.61±40.12	357.03 ±20.43	373.53±85.54	369.91± 13.88 <b>ab</b>
Karalahana	251.28 ±30.78	397.39±5.53	387.73 ±154.34	354.16±30.79	347.64± 26.36 <b>ab</b>
Papazkarası	296.65 ±88.95	292.06±65.14	353.47 ±49.51	294.91±0.15	309.277± 16.75 <b>bc</b>
Sauvignon blanc	310.74 ±16.17	330.78±23.09	348.20 ±45.69	374.19±10.16	340.98± 9.72 <b>ab</b>
Yapıncak	334.07 ±44.30	445.37±86.04	434.02 ±172.13	349.07±47.43	390.63± 29.11 <b>a</b>
Vasilaki	371.40 ±119.85	370.44±68.66	426.21 ±29.41	296.05±43.02	366.02± 22.91 <b>ab</b>
UAE	319.34± 16.60	347.20±17.38	368.90 ±20.53	325.57±13.91	

Çeşit	Yaprak yüzeyine stoma alanı (%)				ÇAE
	%25	%50	%75	%100	
Adakarası	2.37 ±0.52	2.51 ±1.14	3.30 ±1.24	3.66 ±1.29	2.96± 0.49 <b>bc</b>
Cabernet sauvignon	5.53 ±0.21	5.59 ±0.18	5.03 ±1.55	4.22 ±0.56	5.09± 0.39 <b>a</b>
Karalahana	1.67 ±0.03	2.78 ±0.02	2.86 ±0.96	1.25 ±0.14	2.14± 0.29 <b>c</b>
Papazkarası	3.77 ±0.83	3.56 ±0.94	5.33 ±2.46	2.75 ±0.17	3.85± 0.65 <b>ab</b>
Sauvignon blanc	3.60 ±0.56	3.97 ±0.35	4.61 ±0.98	4.27 ±0.23	4.11± 0.28 <b>ab</b>
Yapıncak	3.71 ±0.41	4.29 ±0.73	4.03 ±1.53	3.35 ±0.89	3.85± 0.43 <b>ab</b>
Vasilaki	5.17 ±1.12	5.30 ±0.72	4.91 ±0.65	3.13 ±0.13	4.63± 1.43 <b>a</b>
UAE	3.69 ±0.34	4.00 ±0.32	4.29± 0.49	3.23± 0.29	

\*Aynı sütun ve/veya satırda farklı harflerle ifade edilen değerler Duncan testine göre  $P<0.05$  düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir. Veriler tekerrür ortalamaları ve standart hatalarıyla paylaşılmıştır. ÇAE: Çeşit ana etkisini, UAE: Uygulama ana etkisini belirtmektedir.

\*Values expressed with different letters in the same column and/or row are statistically significant at the  $P<0.05$  level according to the Duncan test. Data are given as repetition averages and with standard errors. ÇAE: Represents variety main effect, UAE: Indicates application main effect.

Yaprak boyutu, stoma boyutu, stoma sayısı ve stoma alanları arasında her zaman ilişki bulunmaması (Bosso ve ark, 2016), bu örnekte de görüldüğü gibi asma çeşitlerinin evrimsel süreç içindeki adaptasyon mekanizmalarının farklılıklarını açıklaması bakımından dikkate değer bulunmuştur.

### SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, Trakya Bölgesi'nde yoğun olarak yetiştirilen ve çoğu otokton olan çeşitlerin, farklı su kısıntısı şartları altında yaprak boyutları ve stoma özelliklerinde meydana gelen değişimler incelendiğinde sonuç olarak; sulama uygulamalarıyla bu özellikler arasındaki ilişkiler koltuk yaprakları dışında istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmanın metodu gereği olgunlaşmış yaprakların

toplandığı dönemde, kısıntılı sulama uygulamalarının etkileri erken oluşan yapraklarda henüz tam olarak görülmeyebilmektedir. Yaprığın ve stomaların morfolojik gelişme süreçlerinin hem genetik hem de çevresel etkilerin altında olduğu bilinmektedir.

Öte yandan beklendiği şekilde çeşitlerin genetik farklılıkları incelenen kriterler bakımından daha anlamlı sonuçlar vermiştir.

Daha sonra yapılacak olan çalışmalarda, morfolojik özelliklerin yanında özellikle fotosentez, stoma iletkenliği, transpirasyon ve su kullanım randımanı hesaplamaları stoma fiziksel özellikleriyle birlikte değerlendirilmelidir. Ayrıca bu etkiler moleküler seviyede incelenmelidir.

Sonuç olarak, iklim krizi nedeniyle çevresel etmenlerle mücadele ve adaptasyon stratejileri geliştirilirken,

çeşitlerin morfolojik ve fizyolojik özellikleri mutlaka dikkate alınmalıdır, bu konular gelecekteki ıslah programlarında öncelikli olarak değerlendirilmelidir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından desteklenen TAGEM/BBAD/B/19/A1/P6/06 numaralı projenin bir kısmından derlenmiştir. Yazarlar arazi ve laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı başta Zir. Müh. Jannat Khan ve Zir. Müh. Ecem Kübra Demirkapı olmak üzere Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü 2019 yılı stajyerlerine teşekkürlerini sunarlar.

## Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## KAYNAKLAR

- Alonso-Villaverde V, Boso S, Santiago JL, Gago P, Rodriguez-García MI, Martínez MC 2011. Leaf Thickness and Structure of *Vitis vinifera* cv. Albariño Clones and Its Possible Relation with Downy Mildew (*Plasmopara viticola*) Infection. J. Int. Sci. Vigne Vin. 45(3): 161-169. DOI:10.20870/oeno-one.2011.45.3.1492
- Atik F, Dardeniz A 2018. Yalova İncisi Üzüm Çeşidinde Farklı Taç Yönetimi Uygulamalarının Yaprakların Stoma Özellikleri Üzerine Etkileri. ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 6(Özel sayı) : 33-37.
- Balda P, Ibáñez J, Sancha JC, Martínez TF 2013. Characterization and Identification of Minority Red Grape Varieties Recovered in Rioja (Spain), Am. J. Enol. Vitic. 65: 148-152. DOI:10.5344/ajev.2013.13050
- Bekişli Mİ, Gürsöz S 2016. Harran Ovası Koşullarında Yetiştirilen Bazı Amerikan Asma Anaçlarının Yaprak ve Stoma Özelliklerinin İncelenmesi. Bahçe 45(2): 857-861
- Boso S, Gago P, Alonso-Villaverde V, Santiago JL, Martinez MC 2016. Density and Size of Stomata in the Leaves of Different Hybrids (*Vitis* sp.) and *Vitis vinifera* varieties. Vitis 55(1): 17-22. DOI: 10.5073/vitis.2016.55.17-22
- Cramer MD, Hawkins HJ, Verboom GA 2009. The Importance of Nutritional Regulation of Plant Water Flux. Oecologia 161(1): 15-24. DOI: 10.1007/s00442-009-1364-3
- Chitwood DH, Kumar R, Ranjan A, Pelletier JM, Townsley BT, Ichihashi Y, Martinez CC, Zumstein K, Harada JJ, Maloof JN, Sinha NR 2015. Light

- Induced Indeterminacy Alters Shade Avoiding Tomato Leaf Morphology. Plant Physiol 169: 2030-2047. DOI: 10.1104/pp.15.01229
- Chitwood DH, Klein LL, O'Hanlon R, Chacko S, Greg M, Kitchen C, Miller AJ, Londo JP 2016a. Latent Developmental and Evolutionary Shapes Embedded within the Grapevine Leaf. New Phytol 210(1): 343-355 DOI: 10.1111/nph.13754.
- Chitwood DH, Susan MR, Darren YL, Quaneisha LW, Tommy T, Yu JRL, Daniel G, Julie K, Jason PL 2016b. Climate and Developmental Plasticity: Interannual Variability in Grapevine Leaf Morphology. Plant Physiology 170: 1480-1491. DOI: 10.1104/pp.15.01825
- Costa JM, Ortuno MF, Lopes CM, Chaves MM 2012. Grapevine Varieties Exhibiting Differences in Stomatal Response to Water Deficit. Functional Plant Biology 39(3): 179-189. DOI: doi.org/10.1071/FP11156
- Das Gupta M, Nath U 2015. Divergence in Patterns of Leaf Growth Polarity is Associated With the Expression Divergence of miR396. The Plant Cell 27(10): 2785-2799. DOI: 10.1105/tpc.15.00196
- Ergül A, Perez-Rivera G, Söylemezoğlu G, Kazan K, Arroyo-Garcia R 2011. Genetic Diversity in Anatolian Wild Grapes (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*) Estimated by SSR Markers. Plant Genet. Resour. 9(3): 375-383. DOI:10.1017/S1479262111000013
- Fanourakis D, Habtamu G, Rube'n M, Roland P, Katrine HK, Marie B, Aleksandar V, Adriano NN, Fabio F, Carl-Otto O 2015. Pore Size Regulates Operating Stomatal Conductance, while Stomatal Densities Drive the Partitioning of Conductance Between Leaf Sides. Annals of Botany 115(4): 555-565, 2015 doi:10.1093/aob/mcu247
- Fraga H 2019. Viticulture and Winemaking Under Climate Change. Agronomy 9(12): 783 DOI:10.3390/agronomy9120783
- Franks PJ, Beerling DJ 2009. Maximum Leaf Conductance Driven by CO<sub>2</sub> Effects on Stomatal Size and Density Over Geologic Time. PNAS 106(25) 10343-10347. DOI: 10.1073/pnas.0904209106
- Franks PJ, Farquhar GD 2007. The Mechanical Diversity of Stomata and Its Significance in Gas-Exchange Control. Plant Physiology 143(1):78-87. DOI:10.1104/pp.106.089367
- Gargın S 2009. Eğirdir/Isparta Koşullarında Bazı Üzüm Çeşitlerinin Stoma Yoğunluklarının Belirlenmesi. 7. Türkiye Bağcılık ve Teknolojileri Sempozyumu 5-9 Ekim 2009, Manisa
- Gökbayrak Z, Dardeniz A, Bal M 2008. Stomatal Density Adaptation of Grapevine to Windy Conditions. Trakia Journal of Science 6(1): 18-22.
- İlahi WFF, Ahmad D 2017. A Study on the Physical and Hydraulic Characteristics of Cocopeat Perlite Mixture as a Growing Media in Containerized Plant

- Production. Sains Malaysiana 46(6): 975–980. DOI: 10.17576/jsm-2017-4606-17
- İşçi B, Altındişli A, Kaçar E 2015. Farklı Anaçlar Üzerine Aşılı Farklı Üzüm Çeşitlerinde Stoma Dağılımı Üzerine Araştırmalar. ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 3(1): 35–39.
- Konlechner C, Ursula Sauer 2016. Ultrastructural Leaf Features of Grapevine Cultivars (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*). OENO ONE 50(4). DOI: 10.20870/oeno-one.2016.50.4.51
- Kunter B, Çakmak G, Keskin N, Değirmenci Karataş D 2015. İyonize Radyasyon Uygulamalarıyla Elde Edilmiş Üzüm Genotiplerinde Stoma Özellikleri Üzerine Araştırmalar. Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi-(Türkiye 8. Bağcılık ve Teknolojileri Sempozyumu Özel Sayısı): 34-39.
- Lawson T, Blatt MR 2014. Stomatal Size, Speed, and Responsiveness Impact on Photosynthesis and Water Use Efficiency. . 164(4):1556-1570. DOI: 10.1104/pp.114.237107
- Lebon E, ANNE Pellegrino A, Louran GT, Lecoeur J 2006. Branch Development Controls Leaf Area Dynamics in Grapevine (*Vitis vinifera*) Growing in Drying Soil. Annals of Botany 98(1): 175–185, DOI:10.1093/aob/mcl085.
- Ledru AC, Lebon E, Christophe A, Gallo A, Gago P, Pantina F, Agnès Doligez, Simonneau T 2016. Reduced Nighttime Transpiration is a Relevant Breeding Target for High Water-Use Efficiency in Grapevine. PNAS 113(32) DOI:10.1073/pnas.1600826113
- Leigh A, Sevanto S, Close JD, Nicotra AB 2017. The Influence of Leaf Size and Shape on Leaf Thermal Dynamics: Does Theory Hold Up Under Natural Conditions? Plant Cell Environ. 40(2): 237–248. DOI: 10.1111/pce.12857
- Lorenz D, Eichhorn K, Bleiholder H, Klose R, Meier U, Weber E 1995. Phenological Growth Stages of the Grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*)-Codes and Descriptions According to the Extended BBCH Scale. Australian Journal of Grape and Wine Research 1(2):100-110. DOI: 10.1111/j.1755-0238.1995.tb00085.x
- Lu J, Zhang Y, Wang J 2010. Genetic Variation and Mechanism of Host Resistance to Downy Mildew Disease Among Oriental Vitis Species. In: Proc. 6<sup>th</sup> Int. Workshop of Grapevine Downy and Powdery Mildew, Bordeaux, France, 4-9 July 2010. Ed. INRA Bordeaux-Aquitaine, UMR 1065 Santé Végétale INRA-ENITA.
- Maraslı B, Aytakin A 2002. Sulanan ve Sulanmayan Bağ Koşullarında Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinde Stoma Sayısının Karşılaştırılması. Tarım Bilimleri Dergisi 9 (3): 370-372.
- Meneghetti S, Poljuha D, Frare E, Costacurta A, Morreale G, Bavaresco L, Calò A 2012. Inter- and Intra-Varietal Genetic Variability in Malvasia Cultivars. Mol. Biotechnol. 50(3): 189-199. DOI: 10.1007/s12033-011-9423-5.
- Montoro A, López-Urrea R, Fereres E 2016. Role of Stomata Density in the Water Use of Grapevines. Acta Hort. 1115: 41-48. DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1115.7
- Moutinho-Pereira JM, Gonçalves B, Bacelar E, Cunha B, Coutinho J, Correia CM 2009. Effects of Elevated CO<sub>2</sub> on Grapevine (*Vitis vinifera* L.): Physiological and Yield Attributes. Vitis 48(4): 159–165.
- Nicotra AB, Leigh A, Boyce CK, Jones CS, Niklas KJ, Royer DL, Tsukaya H 2011. The Evolution and Functional Significance of Leaf Shape in the Angiosperms. Funct Plant Biol 38(7): 535–552. DOI: 10.1071/fp11057
- Palliotti A, Cartechini A, Ferranti F 2000. Morpho-Anatomical and Physiological Characteristics of Primary and Lateral Shoot Leaves of Cabernet Franc and Trebbiano Toscano Grapevines Under Two Irradiance Regimes. Am. J. Enol.Vitic. 51(2): 122-130.
- Peppe DJ, Royer DL, Cariglino B, Oliver SY, Newman S, Leight E, Enikolopov G, Fernandez-Burgos M, Herrera F, Adams JM 2011. Sensitivity of Leaf Size and Shape to Climate: Global Patterns and Paleoclimatic Applications. New Phytol 190(3): 724–739. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2010.03615.x
- Prieto JA, Lebon E, Ojeda H 2010. Stomatal Behavior of Different Grapevine Cultivars in Response to Soil Water Status and Air Water Vapor Pressure Deficit. J. Int. Sci. Vigne Vin, 44(1): 9–20. DOI: 10.20870/oeno-one.2010.44.1.1459
- Poethig RS 2010. The Past, Present, and Future of Vegetative Phase Change. Plant Physiol 154(2): 541–544. DOI: 10.1104/pp.110.161620
- Rogiers SY, Hardie WJ, Smith JP 2011. Stomatal Density of Grapevine Leaves (*Vitis Vinifera* L.) Responds to Soil Temperature and Atmospheric Carbon Dioxide. Australian Journal of Grape and Wine Research 17(2) 147-152. DOI: 10.1111/j.1755-0238.2011.00124.x
- Santiago JL, Boso S, Gago P, Alonso-Villaverde V, Martínez MC, 2007. Molecular and Ampelographic Characterisation of *Vitis vinifera* L. 'Albariño', 'Savagnin Blanc' and 'Caíño Blanco' Shows that They are Different Cultivars. Span. J. Agric. Res. 5(3): 333-340. DOI: 10.5424/sjar/2007053-253
- Simonneau T, Lebon E, Ledru AC, Marguerit E, Rossddeutsch L, Ollat N 2017. Adapting Plant Material to Face Water Stress in Vineyards: Which Physiological Targets for an Optimal Control of Plant Water Status? OENO NE 51(2): 167-179. DOI: 10.20870/oeno-one.2016.0.0.1870
- Tardieu F 2011. Any Trait or Trait-Related Allele Can Confer Drought Tolerance: Just Design the Right Drought Scenario. Journal of Experimental Botany 63(1): 25–31. DOI: 10.1093/jxb/err269
- Tozer WC, Rice B, Westoby M 2015. Evolutionary Divergence of Leaf Width and Its Correlates. Am. J.



- Bot. 102(3):367-78. DOI: 10.3732/ajb.1400379.
- Uyak C, Keskin N, Doğan A, Gazioğlu Şensoy Rİ, Başdınç MA 2016. Van Ekolojisinde Yetişen Bazı Üzüm Çeşitlerinin Stoma Yoğunlukları ve Klorofil Miktarlarının Belirlenmesi. Bahçe, 46: 738-742
- Wang C, He J, Zhao TH, Cao Y, Wang G, Sun B, Yan X, Guo W, Li MH 2019 The Smaller the Leaf Is, the Faster the Leaf Water Loses in a Temperate Forest. Front. Plant Sci. 10(58): 1-12. DOI: 10.3389/fpls.2019.00058
- Zobayed SMA, Afreen FC, Kozai T 2001. Large-Scale Photoautotrophic Micropropagation in a Scaled-Up Vessel. Progress in Biotechnology 18: 345-354. DOI: 10.1016/S0921-0423(01)80091-5

## Farklı Kızılcık Genotiplerinin (*Cornus mas L.*) Yarı-Odun Çelikleri İle Çoğaltılma Olanakları

Mehmet Fikret BALTA<sup>1\*</sup>, İbrahim Ulvi EROL<sup>2</sup>, Orhan KARAKAYA<sup>3</sup>, Fikri BALTA<sup>4</sup>

<sup>1, 2, 3, 4</sup> Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ordu, Türkiye,

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-3859-6490>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-9898-4180>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0003-0783-3120>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0003-4414-8501>

✉: [fikret\\_balta@hotmail.com](mailto:fikret_balta@hotmail.com)

### ÖZET

Çalışma, farklı kızılcık genotipleri (21, 22, 24, 25 ve 44-05) ve Erolbey-77 çeşidinin yarı-odun çelikleri ile çoğaltılma olanaklarının belirlenmesi amacı ile yürütülmüştür. İncelenen kızılcık genotiplerine ait yarı-odun çelikleri 15 Temmuz 2014 tarihinde alınmıştır. Hazırlanan çelikler iki gruba ayrılarak, yarısına herhangi bir uygulama yapılmamış (kontrol grubu), diğer yarısına ise 4000 ppm indol 3-butirik asit (IBA) uygulaması yapılmıştır. Köklendirme ortamına dikimden 5 hafta sonra sökülen çeliklerde köklenme oranı, kallüslenme oranı, en uzun ve en kısa kök boyu, yaşayan çelik oranı, kök dallanması ve köklenme kalitesi parametreleri incelenmiştir. İncelenen kızılcık genotiplerinde kontrol uygulamasında köklenmenin meydana gelmediği tespit edilmiştir. IBA uygulanan yarı-odun çeliklerinde köklenme oranı %0.0 (21) ile %40.0 (25), kök sayısı 0.0 adet çelik<sup>-1</sup> (21) ile 1.93 adet çelik<sup>-1</sup> (Erolbey-77), kallüslenme oranı %33.3 (44-05) ile %86.6 (22), en uzun kök boyu 0.0 mm (21) ile 3.86 mm (25), en kısa kök boyu 0.0 mm (21) ile 1.27 mm (Erolbey-77) ve köklenme kalitesi 0.0 (21) ile 0.35 (25) arasında belirlenmiştir. Sonuç olarak, köklenme oranı, köklenme kalitesi ve diğer köklenme özellikleri bakımından genel olarak 25 nolu genotip diğer genotiplere göre daha iyi sonuçlar vermiştir.

### Araştırma Makalesi

### Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 01.07.2020

Kabul Tarihi : 20.08.2020

### Anahtar Kelimeler

Kızılcık  
Genetik kaynak  
Köklenme  
Kallüslenme  
indol-3 bütirik asit

## Propagation Possibilities With Semi-Hardwood Cuttings of Different Cornelian Cherry Genotypes (*Cornus mas L.*)

### ABSTRACT

This study was conducted to determine propagation possibilities with semi-hardwood cuttings of different cornelian cherry genotypes (21, 22, 24, 25 ve 44-05) and Erolbey-77 cultivar. Semi-hardwood cuttings took from cornelian cherry genotypes investigated on 15 July, 2014. Prepared cuttings were divided into two groups. First group was left untreated (control treatment), the other group was treated with 4000 ppm dose of indole-3 butyric acid. After five weeks of growing, cuttings were removed from the rooting media and rooting ratio, callus ratio, number of roots, longest root length, shortest root length, living cutting ratio, number of lateral roots and rooting quality were determined. Rooting ratio, number of roots, callus ratio, longest root length, shortest root length and rooting quality in the semi-hardwood cuttings applied IBA were determined from 0.0% (21) to 40.0% (25), 0.0 (21) to 1.93 number shoot<sup>-1</sup> (Erolbey-77), 33.3% (44-05) to 86.6% (22), 0.0 mm (21) to 3.86 mm (25), 0.0 mm (21) to 1.27 mm (Erolbey-77) and 0.0 (21) ile 0.35 (25), respectively. Consequently, the 25 genotype sustained better results in terms of rooting ratio, rooting quality and other rooting properties than other genotypes.

### Research Article

### Article History

Received : 01.07.2020

Accepted : 20.08.2020

### Keywords

Cornelian Cherry  
Genetic resource  
Rooting  
Callusing  
Indole-3 butyric acid

**Atf İçin:** Balta MF, Erol İU, Karakaya O, Balta F 2020. Farklı Kızılcık Genotiplerinin (*Cornus mas L.*) Yarı-Odun Çelikleri İle Çoğaltılma Olanakları. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (4): 777-783. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.760930.

**To Cite :** Balta MF, Erol İU, Karakaya O, Balta F 2020. Propagation Possibilities With Semi-Hardwood Cuttings of Different Cornelian Cherry Genotypes (*Cornus mas L.*). KSU J. Agric Nat 24 (4): 777-783. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.760930.

## GİRİŞ

Kızılçık Cornaceae familyasının, *Cornus* cinsi içerisinde yer almakta olup, bu cinsin dünya üzerinde yayılış gösteren yaklaşık 65 türü bulunmaktadır (Hosseinpour-Jaghdani ve ark., 2017). Bu türlerden en önemlisi *Cornus mas* L. olup, meyve kalitesinin iyi olması nedeni ile ticari kızılçık yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır (Seeram ve ark., 2002). Kızılçık dünya üzerinde Türkiye, Balkanlar, Kafkasya ve Akdeniz Havzası'nın da içinde bulunduğu Güneybatı Asya, Orta ve Güneydoğu Avrupa'da doğal olarak yayılış göstermektedir (Ercişli 2004; D'Antuono ve ark., 2014). Bu bölgelerde kızılçığın çoğunlukla tohumdan çoğaltılması dolayısıyla zengin bir genetik çeşitlilik ortaya çıkmıştır (Yılmaz ve ark., 2009; Mranitic ve ark., 2015).

Dünya kızılçık üretimi yaklaşık 723 bin tondur. Kızılçık üretim miktarı bakımından Amerika Birleşik Devletleri (404 880 t) ilk sırada yer almakta olup, bu ülkeyi sırası ile Kanada (195 196 t), Şili (106 180 t), Türkiye (11 481 t) ve Azerbaycan (2 874 t) izlemektedir (Anonim, 2020a). Ülkemiz dünya kızılçık üretiminde ilk sıralarda yer almasına karşın, kızılçık üretimdeki payı yaklaşık %1.6'dır. Türkiye'de kızılçık üretimi bakımından Samsun (1 243 t), Bolu (1 225 t), Bartın (847 t), Erzurum (594 t) ve Balıkesir (570 t) illeri öne çıkmaktadır (Anonim, 2020b).

Kızılçık insan sağlığını teşvik eden maddelerce zengin olup, günümüzde tıp alanında kullanılmaktadır (Hassanpour ve ark., 2011). Son yıllarda insanların doğal antioksidan kaynağı olan meyve türlerine olan talebinin artmasından dolayı kızılçık yetiştiriciliği artış göstermiştir (Gunduz ve ark., 2013; Bijelik ve ark., 2012). Bu bakımdan ülkemizin dünya kızılçık üretimindeki payının artırılması ve ekonomik gelir sağlanması açısından kızılçık ile kurulacak kapama bahçelerin sayısının artırılması önem arz etmektedir. Bu nedenle ülkemizde kızılçık üzerine yapılan seleksiyon ıslahı çalışmaları neticesinde seçilen genotiplerin ve standart kızılçık çeşitlerinin çoğaltılma olanaklarının belirlenmesi, kızılçık meyve türü ile kurulacak kapama bahçelerin fidan ihtiyacının karşılanması bakımından önemlidir (Balta ve ark., 2019).

Kızılçık tohum (Pırlak, 1997a; Hocoğlu, 2013), aşı (Kalkışım, 1997), çelik (Ivanicka ve Cvopa, 1997; Yavaş, 2000; Kalyoncu ve ark., 2008; Markovic ve ark., 2013, Yavuz, 2015; Balta ve ark., 2019) ve doku kültürü (Ayan ve Feyzioğlu, 2002; Durkovic, 2008) ile çoğaltılabilmektedir. Bu yöntemlerden çelik ile çoğaltma kızılçığın çoğaltılmasında en fazla kullanılan yöntemlerden biridir. Basit ve ucuz bir yöntem olan çelik ile çoğaltma köklenme kabiliyeti yüksek olan bazı meyve türlerinin çoğaltılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Kızılçıkta yeşil, yarı-odun ve odun çelikleri kullanılarak yapılan çoğaltma çalışmalarında

köklenme oranının düşük olduğu ve hormon uygulamasının köklenme oranını artırdığı bildirilmiştir (Pırlak, 1997b; Markovic ve ark., 2013, Balta ve ark., 2019). Bunun yanı sıra erken haziran çeliklerinin kızılçıkta köklenmeyi önemli ölçüde teşvik ettiği belirtilmektedir (Kalyoncu ve Ecevit, 1995). Kızılçık üzerine yapılan çoğaltma çalışmalarında yeşil çelikler için 3500 ppm (Yavuz, 2015), yarı-odun çelikleri için 4000 ppm (Pırlak, 1997b) ve odun çelikleri için 6000 ppm (Pırlak, 2000) IBA dozlarının köklenmeyi teşvik etmek için ideal konsantrasyonlar olduğu bildirilmiştir.

Çeliklerde köklenme üzerine etki eden içsel (genetik yapı, hormonlar, depo maddeleri vb.) (Hartmann ve ark., 2011) ve dışsal (sıcaklık, nem, ışık, köklendirme ortamı, çelik alma zamanı) birçok faktör bulunmaktadır (Ağaoğlu ve ark., 2019). Bu faktörlerin çeliklerde köklenme oranı, köklenme kalitesi ve köklenme özelliklerini önemli derecede etkilediği (Ağaoğlu ve ark., 2019) ve indol-3 bütirik asit (IBA)'in çeliklerde adventif kök oluşumunun teşvik edilmesi bakımından en iyi bitki büyüme düzenleyici olduğu belirtilmektedir (Kaşka ve Yılmaz, 1974).

Bu çalışma farklı kızılçık genotipleri ve Erolbey-77 kızılçık çeşidinin yarı odun çelikleri ile çoğaltılma olanaklarının belirlenmesi amacı ile yürütülmüştür.

## MATERYAL ve METOD

### Materyal

Çalışmanın materyalini Malatya Meyvecilik Araştırma Enstitüsü bünyesinde yürütülen 'Kızılçık Genetik Kaynaklarının Toplanması, Muhafazası ve Değerlendirilmesi' projesi kapsamında seçilen 5 kızılçık genotipi (21, 22, 24, 25 ve 44-05) ile, Erolbey-77 kızılçık çeşidi oluşturmuştur. Kızılçık genotiplerine ait çeliklerin köklendirilmesi için Malatya Meyvecilik Araştırma Enstitüsü bünyesindeki çoğaltma seraları kullanılmıştır.

### Metod

İncelenen kızılçık çeşit ve genotiplerine ait 7 yaşlı bitkilerde 15 Şubat 2014 tarihinde sert budama yapılmıştır. Budama yapılan kızılçık bitkilerinin yıllık sürgünlerinden yumuşak odunlaşmanın başladığı noktanın 20-25 cm üzerinden 15 Temmuz 2014 tarihinde çelik alma işlemi yapılmıştır. Alınan çeliklerde hem yaprak hem de göz olmasına dikkat edilmiştir. Çelikler nem kaybının olmaması için nemli bezlere sarılarak, gölge bir ortama transfer edilmiştir. Alınan çelikler 15-20 cm boyunda olacak şekilde hazırlanmış ve çeliğin en uçtaki bir veya iki yaprak çifti hariç diğer yapraklar kesilerek uzaklaştırılmıştır. Hazırlanan çelikler iki gruba ayrılarak, yarısına herhangi bir uygulama yapılmamış (kontrol grubu), diğer yarısına ise 4000 ppm indol 3-butirik asit (IBA) uygulaması yapılmıştır. IBA dozunun seçiminde

Pırlak (1997b)'ın kızılıçıkta yeşil ve yarı-odun çeliklerini kullanarak yaptığı çalışmanın sonuçları dikkate alınmıştır. Uygulama yapılan çelikler 2/3'lük kısmı köklendirme ortamında kalacak şekilde köklendirme tavalara dikilmiştir. Köklendirme ortamı olarak iri tarım perliti (0.0-0.5 mm) kullanılmıştır. Köklendirme ortamının nem içeriği %85-90 ve sıcaklığı ise 18-20°C olacak şekilde ayarlanmıştır. Köklendirme ortamının nem içeriğinin sağlanması için mistleme ünitesi kullanılmıştır.

Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 15 bitki olacak şekilde planlanmıştır. Köklendirme ortamına dikilen çeliklerde 5 hafta sonra söküm işlemi gerçekleştirilmiş ve köklenme oranı, kallüslenme oranı, en uzun ve en kısa kök boyu, kök dallanması, yaşayan çelik oranı ve köklenme kalitesi özellikleri belirlenmiştir.

**Köklenme oranı (%):** Köklenen çeliklerin sayılarak, tüm çeliklere oranlanması ile belirlenmiştir (Kalyoncu, 1996; Kalyoncu ve ark., 2008).

**Kallüslenme oranı (%):** Kallüslenmenin gerçekleştiği çeliklerde gözlem yolu ile belirlenmiş ve % olarak ifade edilmiştir (Kalyoncu, 1996; Kalyoncu ve ark., 2008).

**En uzun (mm) ve en kısa kök boyu (mm):** Köklenen çeliklerde en uzun ve en kısa kök boyu 0.01 mm'ye duyarlı dijital kumpas (Mitutoyo, Japonya) yardımıyla ölçülmüştür (Kalyoncu, 1996; Kalyoncu ve ark., 2008).

**Kök dallanması (adet çelik<sup>-1</sup>):** Kök dallanması meydana gelen çeliklerde sayım yapılarak belirlenmiştir (Kalyoncu, 1996; Kalyoncu ve ark., 2008).

**Yaşayan çelik oranı (%):** İncelenen kızılıçık çeşit ve genotiplerinde ölü çeliklerin sayısının yaşayan çelik sayısına oranlanmasıyla tespit edilmiştir (Kalyoncu, 1996; Kalyoncu ve ark., 2008).

**Köklenme kalitesi:** Köklenen çeliklerde 1-3 skalasına (1-zayıf, 2-orta, 3-iyi) göre değerlendirme yapılarak belirlenmiştir (Pırlak, 1997b).

### **İstatistiksel analiz**

İncelenen kızılıçık çeşit ve genotipleri arasında köklenme özellikleri bakımından görülen farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma yöntemi kullanılarak, %5 önem seviyesinde belirlenmiştir. % olarak ifade edilen özelliklere ait değerlerin istatistiksel analizinde aç transformasyonu uygulanmıştır. İstatistiksel analizler için Minitab 17 istatistik paket programı kullanılmıştır.

### **BULGULAR ve TARTIŞMA**

#### **Köklenme Oranı (%)**

Köklenme oranı bakımından IBA uygulanmış kızılıçık çeşit ve genotipleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ( $p<0.05$ ) belirlenirken, herhangi bir uygulamanın yapılmadığı kontrol konusunda ise

köklenmenin olmadığı görülmüştür. IBA uygulamasında köklenme oranı %0.0 (21 nolu genotip) ile %40.0 (25 nolu genotip) arasında değişiklik göstermiştir. Bunun yanı sıra IBA uygulamasında köklenme oranı bakımından 25 nolu genotip ve 44-05 nolu genotip ile Erolbey-77 çeşidi ve 22 nolu genotip ile 24 nolu genotip istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır (Çizelge 1). Pırlak (1997b) farklı kızılıçık genotiplerine ait yarı odun çelikleri ile yaptığı çalışmada köklenme oranının genotiplere bağlı olarak değişiklik gösterdiğini ve kontrol uygulamasına kıyasla (%0.0-5.0) en iyi köklenmenin 4000 ppm IBA uygulamasında (%30-60) olduğunu belirlemiştir. Yine kızılıçık yarı-odun çelikleri kullanılarak yapılan çoğaltma çalışmalarında benzer sonuçlar rapor edilmiştir (Yavaş, 2000; Yavuz, 2015). Mevcut çalışmada da köklenme oranı üzerine genotipin ve hormon uygulamasının önemli bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra 25, 44-05 genotipleri ile Erolbey-77 çeşidinin köklenme oranının araştırmacıların bulguları ile benzerlik gösterdiği, diğer genotiplerin ise köklenme oranının düşük olduğu tespit edilmiştir. Görülen farklılıkların genetik yapıdan (Hartmann ve ark., 2011) ve çeliklerin bitki üzerinden alındığı yerden (Yıldız ve ark., 2009) kaynaklanabileceği ifade edilebilir. Nitekim, çeliklerde kök oluşumu üzerine genetik yapının, hormonların, depo maddelerinin (Hartmann ve ark., 2011; Azad ve ark., 2016) sıcaklık, nem, ışık, köklendirme ortamı (Ağaoğlu ve ark., 2019), çelik alma zamanı, çelik yaşı ve çeliğin bitki üzerinden alındığı yerin önemli bir etkisi bulunmaktadır (Yıldız ve ark., 2009).

#### **Kök Sayısı (adet çelik<sup>-1</sup>)**

Kök sayısı, çeliklerde köklenme kalitesi ve sonraki aşamada fidan kalitesini etkileyen önemli bir özelliktir (Yıldız ve ark., 2009). Çeliklerde kök sayısı üzerine genetik yapı, çelik yaşı (Azad ve Matin, 2015) ve hormonlar (Cristofori ve ark., 2010) etki etmektedir.

İncelenen kızılıçık çeşit ve genotiplerinde kök sayısı bakımından yalnızca IBA uygulamasında önemli farklılıklar ( $p<0.05$ ) tespit edilmiştir. IBA uygulamasında kök sayısı 0.0 adet çelik<sup>-1</sup> (21 nolu genotip) ile 1.93 adet çelik<sup>-1</sup> (Erolbey-77) arasında belirlenmiştir. 25 nolu genotip ve 44-05 nolu genotip kök sayısı bakımından Erolbey-77 çeşidi ile istatistiksel olarak benzer grupta yer almıştır (Çizelge 1). Kök sayısını Yavaş (2000) kızılıçık yarı-odun çeliklerinde kontrol grubunda 52.80 adet çelik<sup>-1</sup> ve 3500 ppm IBA uygulamasında ise 135.20 adet çelik<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Bunun yanı sıra kızılıçıkta yeşil çelik kullanılarak yapılan çalışmalarda kök sayının genetik yapıya bağlı olarak değiştiği (Balta ve ark., 2019) ve kök sayısı üzerine IBA uygulamasının önemli bir etkisinin olduğu bildirilmiştir (Kalyoncu ve Ecevit, 1995; Kalyoncu ve ark., 2008; Balta ve ark., 2019).



Çalışmada da kök sayısı üzerine genetik yapının ve hormon uygulamasının önemli bir etkisi belirlenmiştir. Araştırmacıların bulguları ile kıyaslandığında incelenen genotiplere ait kök sayısı

değerlerinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Yürütülen çalışmalarda dikkate alındığında bu durumun genetik yapıdaki farklılıklardan (Azad ve Matin, 2015) kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 1. Kızılçık genotiplerinin köklenme oranı (%) ve kök sayısı (adet çelik<sup>-1</sup>)

Table 1. Rooting ratio (%) and number of root of (number cutting<sup>-1</sup>) cornelian cherry genotypes

Genotipler Genotypes	Köklenme Oranı (%) Rooting Ratio (%)		Kök Sayısı (adet çelik <sup>-1</sup> ) Number of Roots (number cutting <sup>-1</sup> )	
	Kontrol	4000 ppm	Kontrol	4000 ppm
21	0±0.0	0.0±0.0 c	0±0.0	0.0±0.0 c
22	0±0.0	13.33±1.53 b	0±0.0	0.73±0.29 ab
24	0±0.0	6.67±2.08 b	0±0.0	0.20±0.13 b
25	0±0.0	40.00±6.24 a	0±0.0	0.80±0.13 ab
44-05	0±0.0	33.33±8.14 a	0±0.0	1.33±0.57 ab
Erolbey-77	0±0.0	33.33±6.11 a	0±0.0	1.93±0.90 a

Aynı sütünde aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemsizdir (p<0.05)

### Kallüslenme Oranı (%)

Kallüslenme oranı çeliklerde köklenme oranı etkileyen önemli bir özelliktir (Kalyoncu ve ark., 2008). İncelenen kızılçık çeşit ve genotiplerinde kallüslenme oranı bakımından önemli farklılıklar belirlenmiştir (p<0.05). Kallüslenme oranı kontrol grubunda %40.0 (44-05) ile %100 (24) arasında tespit edilmiştir. 24 nolu genotipin diğer genotiplere kıyasla belirgin bir şekilde daha yüksek kallüslenme oranına sahip olduğu belirlenmiştir. IBA uygulamasında ise kallüslenme oranı %33.3 (44-05) ile %86.6 (22) arasında belirlenmiştir. 22 nolu genotip diğer genotiplere göre önemli derecede daha yüksek kallüslenme oranına sahip olmuştur (Çizelge 2).

Kızılçık ile yapılan çoğaltma çalışmalarında genotipe

bağlı olarak kallüslenme oranının önemli ölçüde değiştiği (Pırlak, 1997b; Yavuz, 2015) ve kontrol grubu çeliklerinde kallüslenme oranının IBA uygulanmış çeliklere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Kalyoncu ve ark., 2008; Balta ve ark., 2019). Nitekim, Markovic ve ark., (2013) kızılçık yarı-odun çeliklerinde kallüslenme oranını kontrol uygulamasında %73.3 olarak belirlerken, IBA uygulamasında ise %33.3 olarak tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmada da kallüslenme oranı bakımından genotipler arasında önemli farklılıkların olduğu ve IBA uygulanmış çeliklerde kallüslenme oranının kontrol çeliklerine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durum, hormon uygulamasının çeliklerde kallüs oluşumunu azaltması ve buna bağlı olarak kök oluşumunu arttırması ile ilişkili olabilir (Kalyoncu, 1996).

Çizelge 2. Kızılçık genotiplerinin kallüslenme ve yaşayan çelik oranı (%)

Table 2. Callus and survival cutting ratio (%) of cornelian cherry genotypes

Genotipler Genotypes	Kallüslenme Oranı (%) Callus Ratio (%)		Yaşayan Çelik Oranı (%) Survival Cutting Ratio (%)	
	Kontrol	4000 ppm	Kontrol	4000 ppm
21	80±5.0 b	53.3±6.81 bc	100±0.0	100±0.0
22	60±4.36 c	86.6±6.11 a	100±0.0	100±0.0
24	100±0.0 a	53.3±5.51 bc	100±0.0	100±0.0
25	80±4.58 b	66.6±3.21 ab	100±0.0	100±0.0
44-05	40±9.54 d	33.3±10.02 c	100±0.0	100±0.0
Erolbey-77	60±7.0 c	46.6±12.86 bc	100±0.0	100±0.0

Aynı sütünde aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsizdir (p<0.05)

### Yaşayan Çelik Oranı (%)

Yaşayan çelik oranı üzerine çeliklerde bulunan doğal oksin içeriği (Baul ve ark., 2010) ve kallüs oluşumu etki etmektedir (Kalyoncu, 1996). Bunun yanı sıra özellikle yeşil ve yarı-odun çelikleri kullanılarak yapılan çoğaltma çalışmalarında ortam neminde meydana gelebilecek nem kayıplarının minimum düzeyde tutulması yaşayan çelik oranının yüksek olması açısından önemli olduğu ifade edilmektedir (Kamaluddin ve Ali, 1996).

Mevcut çalışmada yaşayan çelik oranı bakımından her iki uygulamada da incelenen kızılçık genotipleri arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur (p>0.05). İncelenen kızılçık çeşit ve genotiplerinde yaşayan çelik oranı hem kontrol grubunda hem de IBA uygulamasında %100 olarak belirlenmiştir (Çizelge 2). Pırlak (1997b) yaşayan çelik oranı üzerine hormon uygulamasının etkili olduğunu ve genotipe bağlı olarak yaşayan çelik oranının farklılık gösterdiğini bildirirken, farklı araştırmacılar kızılçıkta yaşayan çelik

oranı üzerine hormon uygulamasının önemli bir etkisinin olmadığını ve tüm uygulamalarda yaşayan çelik oranının %100 olduğunu bildirilmişlerdir (Kalyoncu ve ark., 2008; Balta ve ark., 2019). Nitekim mevcut çalışmada da yaşayan çelik oranı üzerine genotipin ve hormon uygulamasının önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

### En Uzun ve En Kısa Kök Boyu (mm)

Kök uzunluğu, köklenen çeliklerde köklenme kalitesinin belirlenmemesinde kullanılan önemli bir özelliktir (Yıldız ve ark., 2009). İncelenen kızılcık çeşit ve genotiplerinde en uzun kök boyu ve en kısa kök boyu bakımından yalnızca IBA uygulamasında önemli farklılıklar ( $p<0.05$ ) tespit edilmiştir. IBA uygulamasında en uzun kök boyu 0.0 mm (21 nolu genotip) ile 3.86 mm (25 nolu genotip) arasında ölçülmüştür. En uzun kök boyu bakımından 25 nolu genotip ile Erolbey-77 çeşidi, 22 nolu genotip ve 24 nolu genotip ile 44-05 nolu genotip istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. IBA uygulamasında en kısa kök boyu 0.0 mm (21 nolu genotip) ile 1.27 mm

(Erolbey-77) arasında ölçülmüştür. En kısa kök boyu bakımından en yüksek değere sahip Erolbey-77 çeşidi ile 25 nolu genotip ve 44-05 nolu genotip istatistiksel olarak benzer grupta yer almıştır (Çizelge 3).

Yavuz (2015) kızılcıkta yarı-odun çeliklerini kullanarak yürüttüğü çalışmada kök uzunluğunun genotipe bağlı olarak değişiklik gösterdiğini ve kök uzunluğunun kontrol uygulamasında 2.48-4.10 mm, 3500 ppm IBA uygulamasında ise 8.50-14.00 mm arasında değiştiğini belirlemiştir. Yine kızılcık ile yapılan farklı çalışmalarda kök uzunluğu üzerine hormon uygulamasının (Pırlak, 1997b; Markovic ve ark., 2013) önemli bir etkisinin olduğu ve kök uzunluğunun genetik yapıya (Balta ve ark., 2019) bağlı olarak değiştiği rapor edilmiştir. Mevcut çalışmada da benzer sonuçlar elde edilirken, kök uzunluğuna ait değerlerin ise araştırmacıların bulgularından düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durumun genetik yapı (Balta ve ark., 2019) ve çeliklerde bulunan doğal oksin miktarı (Husen ve Pal, 2006; Baul ve ark., 2010) ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 3. Kızılcık genotiplerinin en uzun ve en kısa kök boyu (mm)

Table 3. Longest and shortest root length (mm) of cornelian cherry genotypes

Genotipler Genotypes	En Uzun Kök Boyu (mm) Longest Root Length (mm)		En Kısa Kök Boyu (mm) Shortest Root Length (mm)	
	Kontrol	4000 ppm	Kontrol	4000 ppm
	21	0±0.0	0.0±0.0 c	0±0.0
22	0±0.0	0.77±0.14 b	0±0.0	0.37±0.18 ab
24	0±0.0	0.20±0.09 b	0±0.0	0.13±0.13 b
25	0±0.0	3.86±0.52 a	0±0.0	1.15±0.49 ab
44-05	0±0.0	1.29±0.34 b	0±0.0	0.61±0.33 ab
Erolbey-77	0±0.0	3.15±0.93 a	0±0.0	1.27±0.64 a

Aynı sütünde aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsizdir ( $p<0.05$ )

### Köklenme Kalitesi

Köklenme kalitesi kök oluşumunun meydana geldiği çeliklerin fidan kalitesini etkileyen önemli bir özelliktir (Yıldız ve ark., 2009). Köklenme kalitesi bakımından incelenen kızılcık çeşit ve genotipleri arasında yalnızca IBA uygulamasında önemli

farklılıklar tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). İncelenen kızılcık çeşit ve genotiplerinde köklenme kalitesi 0.0 (21 nolu genotip) ile 0.35 (25 nolu genotip) arasında belirlenmiştir. Köklenme kalitesi bakımından 25 nolu genotip ve 44-05 nolu genotip Erolbey-77 çeşidi ile istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4).

Çizelge 4. Kızılcık genotiplerinin köklenme kalitesi ve kök dallanması

Table 4. Rooting quality and root branching of cornelian cherry genotypes

Genotipler Genotypes	Köklenme Kalitesi (1-3 skalası) Rooting Quality (1-3 scale)		Kök Dallanması (adet çelik <sup>-1</sup> ) Root Branching (number cutting <sup>-1</sup> )	
	Kontrol	4000 ppm	Kontrol	4000 ppm
	21	0±0.0	0±0.0 d	0±0.0
22	0±0.0	0.13±0.10 bc	0±0.0	0±0.0
24	0±0.0	0.06±0.03 c	0±0.0	0±0.0
25	0±0.0	0.35±0.05 a	0±0.0	0±0.0
44-05	0±0.0	0.26±0.04 ab	0±0.0	0±0.0
Erolbey-77	0±0.0	0.33±0.03 a	0±0.0	0±0.0

Aynı sütünde aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsizdir ( $p<0.05$ )

Pırlak (1997b) kızılcıkta köklenme kalitesi üzerine hormon uygulamasının önemli bir etkisinin olduğunu

ve uygulanan hormon dozu arttıkça köklenme kalitesinin de arttığını bildirmiştir. Benzer şekilde

Balta ve ark. (2019) kızılıçıkta köklenme kalitesinin hormon uygulaması ile arttığını ve genotipe bağı olarak önemli ölçüde değişiklik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Nitekim araştırmacılar farklı kızılıçık genotiplerinde köklenme kalitesini kontrol uygulamasında %0.0-0.5 arasında belirlerken, hormon uygulamasında 1.56-3.00 arasında belirlemişlerdir (Pırlak, 1997b; Balta ve ark., 2019). Mevcut çalışmada da benzer sonuçlar elde edilirken, köklenme kalitesine ait değerlerin ise araştırmacıların bulgularından düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun genetik yapıdaki farklılıklardan kaynaklı olabileceği ifade edilebilir.

### Kök Dallanması

İncelenen kızılıçık çeşit ve genotiplerinde kök dallanması meydana gelmemiştir (Çizelge 4). Kızılıçık yarı-odun çeliklerinde kök dallanmasını, Pırlak (1997b) farklı kızılıçık genotiplerinde kontrol uygulamasında 0-2 adet ve 4000 ppm IBA uygulamasında 15-17 adet; Markovic ve ark. (2013) kontrol grubunda 5.5 adet, %1'lik IBA uygulamasında ise 6.5 adet olarak belirlemiştir. Bunun yanı sıra farklı araştırmacılar kızılıçıkta yeşil çelik ile yapılan çoğaltma çalışmalarında kök dallanmasının olmadığını bildirmişlerdir (Kalyoncu ve ark., 2008; Balta ve ark., 2019). Benzer şekilde mevcut çalışmada da incelenen kızılıçık genotiplerinde kök dallanmasının olmadığı belirlenmiştir. Görülen farklılıkların genetik yapıdan kaynaklı olabileceği ifade edilebilir.

### SONUÇ

Farklı kızılıçık genotipleri ve Erolbey-77 çeşidinin yarı-odun çelikleri ile çoğaltılma olanaklarının araştırıldığı çalışmada, kızılıçığın çelik ile çoğaltılması üzerine hormon uygulamasının önemli bir etkisinin olduğu ve köklenme özelliklerinin genetik yapıya bağı olarak önemli ölçüde değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Köklenme oranı, köklenme kalitesi ve diğer köklenme özellikleri bakımından 25 nolu genotip diğer genotiplere ve Erolbey-77 çeşidine göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde incelenen kızılıçık çeşit ve genotiplerinin yarı-odun çelikleri ile çoğaltılma olanaklarının sınırlı olduğu, bu nedenle incelenen genotiplerden farklı dönemlerde alınacak çeliklerin köklenme oranı ve kalitesi üzerine olumlu bir etkisinin olabileceği düşünülmektedir.

### Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### KAYNAKLAR

- Ağaoğlu YS, Çelik H, Çelik M, Fidan Y, Gülşen Y, Günay A, Halloran N, Köksal AI, Yanmaz R 2019. Genel Bahçe Bitkileri. Ankara Üniversitesi Basım Evi, Ankara, 319sy.
- Anonim 2020a. Food and Agriculture Organization. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Anonim 2020b. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Türkiye İstatistik Kurumu. [http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1001](http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001).
- Ayan S, Feyzioğlu F 2002. Farklı Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Kızılıçık (*Cornus mas L.*) Planlet Gelişimine Etkileri. Gazi Üniversitesi Dergisi 15(2): 533-556.
- Azad M, Matin M 2015. Effect of Indole-3-butyric Acid on Clonal Propagation of *Swietenia macrophylla* through Branch Cutting. Journal of Botany 249308: 1-7.
- Azad MS, Alam MJ, Mollick AS, Matin MA 2016. Responses of IBA on Rooting, Biomass Production and Survival of Branch Cuttings of *Santalum album L.* A Wild Threatened Tropical Medicinal Tree Species. Journal of Science Technology and Environment Informatics2(3): 195-206.
- Balta MF, Erol İU, Özrenk K, Karakaya O, Uzun S 2019. Kızılıçık (*Cornus mas L.*) Genotiplerinin Yeşil Çelik ile Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi 6(2): 136-141.
- Baul TK, Mezbahuddin M, Hossain MM, Mohiuddin M 2010. Vegetative Propagation of *Holarrhena pubescens*, A Wild Tropical Medicinal Plant: Effect of Indole-3-Butyric Acid (IBA) on Stem Cuttings. Forestry Studies in China 12(4): 228-235.
- Bijelić S, Gološin B, Ninić Todorović J, Cerović S, Bogdanović B 2012. Promising Cornelian Cherry (*Cornus mas L.*) Genotypes from Natural Population in Serbia. Agriculturae Conspectus Scientificus 77(1): 5-10.
- Cristofori V, Roupheal Y, Rugini E 2010. Collection Time, Cutting Age, IBA and Putrescine Effects on Root Formation in *Corylus avellana L.* Cuttings. Scientia Horticulturae 124(2): 189-194.
- D'Antuono LF, Kolesnov A, Fedosova K, Jorjadze M, Boyko N, Mudryk M, Bignami C 2014. Cornelian Cherry: An Important Local Resource and Promising Health Promoting Fruit Plant of the Black Sea Area. Acta Horticulturae 1017: 299-307.
- Đurković J 2008. Micropropagation of Mature *Cornus mas* 'Macrocarpa'. Trees 22 (4): 597-602.
- Ercisli S 2004. A Short Review of The Fruit Germplasm Resources of Turkey. Genetic Resources and Crop Evolution 51(4): 419-435.
- Gunduz K, Saracoglu O, Özgen M, Serce S 2013. Antioxidant, Physical and Chemical Characteristics of Cornelian Cherry Fruits (*Cornus mas L.*) at Different Stages of Ripeness. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus 12(4): 59-

- 66.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies FT, Geneve RL 2011. Plant Propagation, Principles and Practices. 8th Ed., Prentice Hall Inc., New Jersey, 880pp.
- Hassanpour H, Yousef H, Jafar H, Mohammad A 2011. Antioxidant Capacity and Phytochemical Properties of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) Genotypes in Iran. *Scientia Horticulturae* 129(3): 459-463.
- Hocoğlu C 2013. Bazı Önışlemlerin Kızılcık (*Cornus mas*) ve Yabani Kiraz (*Prunus avium*) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi. Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 31sy.
- Hosseinpour-Jaghdani F, Shomali T, Gholipour-Shahraki S, Rahimi-Madiseh M, Rafieian-Kopaei M 2017. *Cornus mas*: A Review on Traditional Uses and Pharmacological Properties. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* 14(3): 1-28.
- Husen A, Pal M 2006. Variation in Shoot Anatomy and Rooting Behaviour of Stem Cuttings in Relation to Age of Donor Plants in Teak (*Tectona grandis* Linn. f.). *New Forests* 31(1): 57-73.
- Ivanicka J, Cvopa J 1977. Propagation of Dogwood (*Cornus mas* L.) by Softwood and Semi-Hardwood Cuttings. *Gartenbauwissenschaft* 42(4): 169-171.
- Kalkışım Ö 1997. Kızılcıkta (*Cornus mas* L.) Aşı Kaynaşması ile Çelik Köklenmesinin Anatomik ve Histolojik Olarak İncelenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 105sy.
- Kalyoncu H 1996. Konya Yöresindeki Kızılcık (*Cornus mas* L.) Tiplerinin Bazı Özellikleri ve Farklı Nem Ortamlarındaki Köklenme Durumu Üzerine Bir Araştırma. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı, Doktora tezi, 138sy.
- Kalyoncu H, Ecevit FM 1995. Farklı Nem Seviyelerinin Kızılcık (*Cornus mas* L.) Yeşil Çeliklerinde Köklenme Üzerine Etkileri. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 3-6 Ekim 1995, Adana.
- Kalyoncu H, Ersoy N, Yılmaz M 2008. Kızılcık (*Cornus mas* L.) Yeşil Uç Çeliklerinin Köklenmesi Üzerine Farklı IBA Dozları ve Nem Seviyelerinin Etkileri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 22(46): 62-67.
- Kamaluddin M, Ali M 1996. Effects of Leaf Area and Auxin on Rooting and Growth of Rooted Stem Cuttings of Neem. *New Forests* 12(1): 11-18.
- Kaşka N, Yılmaz M 1974. Bahçe Bitkileri Yetiştirme Tekniği. (Hudson T. Hartman ve Dale E. Kester'den Çeviri), Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ders Kitabı No: 52, Adana, 611sy.
- Marković M, Grbić M, Djukić M 2013. Effects of Cutting Type and A Method of IBA Application on Rooting of Softwood Cuttings from Elite Trees of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) from Belgrade Area. International Scientific Conference at 85th Anniversary of Bulgarian Academy of Sciences 1-2 October 2013, Sofia, Bulgaria.
- Mratinic E, Akšić MF, Rakonjac V, Miletić R, Žikić M 2015. Morphological Diversity of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) Populations in the Stara Planina Mountain, Serbia. *Plant Systematics and Evolution* 301(1): 365-374.
- Pırlak L 1997a. Bazı Uygulamaların Kızılcık (*Cornus mas* L.) Tohumlarının Çimlenme Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 28(2): 212-221.
- Pırlak L 1997b. Kızılcıkta (*Cornus mas* L.) Çelik Alma Zamanlarının ve IBA Uygulamalarının Yeşil Çeliklerin Köklenmeleri Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 28(3): 369-380.
- Pırlak, L. 2000. Effects of Different Cutting Times and IBA Doses on the Rooting Rate of Hardwood Cuttings of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.). *Journal of Aegean Agricultural Research Institute* 10(1): 122-134.
- Seeram NP, Schutzki R, Chandra A, Nair MG 2002. Characterization, Quantification, and Bioactivities of Anthocyanins in *Cornus* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(9): 2519-2523.
- Yavaş MA 2000. Tokat'ta Kızılcık'ın (*Cornus mas* L.) Yeşil ve Odun Çelikleri ile Çoğaltılması Üzerine Bir Araştırma. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Tokat, 56sy.
- Yavuz Ç 2015. Malatya İli'nden Selekte Edilen Bazı Kızılcık (*Cornus mas* L.) Genotiplerinde Farklı IBA Uygulamalarının Yeşil Çeliklerin Köklenmesi Üzerine Etkileri. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, 37sy.
- Yıldız K, Çekiç Ç, Güneş M, Özgen M, Özkan Y, Akça Y, Gerçekçioğlu R 2009. Farklı Dönemlerde Alınan Kara Dut (*Morus nigra* L.) Çelik tiplerinde köklenme başarısının belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 26(1): 1-5.
- Yılmaz KU, Ercişli S, Zengin Y, Şengül M, Kafkas EY 2009. Preliminary Characterisation of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) Genotypes for Their Physico-Chemical Properties. *Food Chemistry* 114(2): 408-412.





## Besni Üzüm Çeşidinin Salkım, Tane ve Bazı Fitokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

Nazan BALBABA<sup>1\*</sup>, Sefair BAĞCI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>KSÜ Türkoğlu Meslek Yüksek Okulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Kahramanmaraş, <sup>2</sup>Kahramanmaraş İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Bitkisel Üretim Bölümü, Kahramanmaraş

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-2688-5452>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-8860-2334>

✉: dogar@ksu.edu.tr

### ÖZET

Besni üzüm çeşidi Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen beyaz renkli ve çekirdekli kurutmalık bir üzüm çeşididir. Bu çalışma ile Kahramanmaraş ili Pazarcık İlçesi'nde üretimi yapılan Besni üzüm çeşidinin pomolojik özellikleri, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite gibi özellikler araştırılmıştır. Bu survey çalışmasında Akçalar, Kizirli ve Yumaklıcerit köylerindeki 12 farklı üzüm bağından ve bu bağlarda bulunan farklı omcalardan salkım örnekleri alınmıştır. Salkım ve tane özellikleri ile üzüm sırasında SÇKM (suda çözünür kuru madde miktarı), titrasyon asitliği, pH değerleri belirlenmiştir. Ayrıca üzüm örneklerinde renk ölçer cihazı ile L\*, a\*, b\*, Chroma ve Hue açısı değerleri kaydedilerek tane kabuk rengi belirlenmiştir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 7.07.2020

Kabul Tarihi : 1.03.2021

#### Anahtar Kelimeler

Besni  
Tane Kabuk Rengi  
Toplam Fenolik Madde  
Antioksidan Aktivitesi  
Kurutmalık Üzüm

## Investigation of Pomological and Some Phytochemical Properties of Besni Grape Variety

### ABSTRACT

Besni grape variety is a white seeded and dryable grape grown in the Southeastern Anatoia Region. In this study, the pomological properties such as total phenol compound content and antioxidant capacity of (Pazarcık District of Kahramanmaraş province produced) this variety were investigated. In this research, different cluster samples were collected from 12 different vineyards of Akçalar, Kizirli and Yumaklıcerit villages. For this purpose, TSS (total soluble solids), titration acidity, pH levels were determined in grape cluster, berry properties and grape must. Additionally, berry skin color was determined with the color meter by recording L\*, a\*, b\*, Chroma and Hue angle values in the grape samples.

### Research Article

#### Article History

Received : 7.07.2020

Accepted : 1.03.2021

#### Keywords

Besni  
Berry Skin Color  
Total Phenol Compound  
Antioxidant Activity  
Dried Grapes

**Atf İcin:** Balbaba N, Bağcı S 2021. Besni Üzüm Çeşidinin Salkım, Tane ve Bazı Fitokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg. 24 (4): 784-794. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.765359.

**To Cite :** Balbaba N, Bağcı S 2021. Investigation of Pomological and Some Phytochemical Properties of Besni Grape Variety. KSU J. Agric Nat 24 (4): 784-794. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.765359

### GİRİŞ

Bağcılık için yerkürenin en elverişli iklim kuşağı üzerinde yer alan ülkemiz asmanın gen merkezi olmasının yanı sıra, son derece eski ve köklü bir bağcılık kültürüne de sahiptir. Anadolu'da bağcılık kültürünün tarihi oldukça eskidir. Yapılan arkeolojik kazılardan, Anadolu'da bağcılık kültürünün M.Ö. 3500 yıllarına dayandığı saptanmıştır (Çelik, 1998). Tarih öncesi çağlarda kültüre alınan asma ve bağcılık kültürü, doğu ve batı medeniyetlerinin sosyal ve ekonomik yapısı içinde her dönemde önemli bir yer tutmuştur (Çelik ve ark., 1998). Ülkemizin Dünya üzerindeki coğrafi konumu ve ekolojik faktörlerin elverişli olması nedeniyle bağcılık, yurdumuzda uygun koşullara sahip olan tarımsal uğraşılardan birini oluşturmaktadır. İklim farklılıklarına bağlı olarak uygun yetiştirme teknikleri gelişmiş, tüketim ve

değerlendirme şekilleri artmıştır (Çelik, 1998).

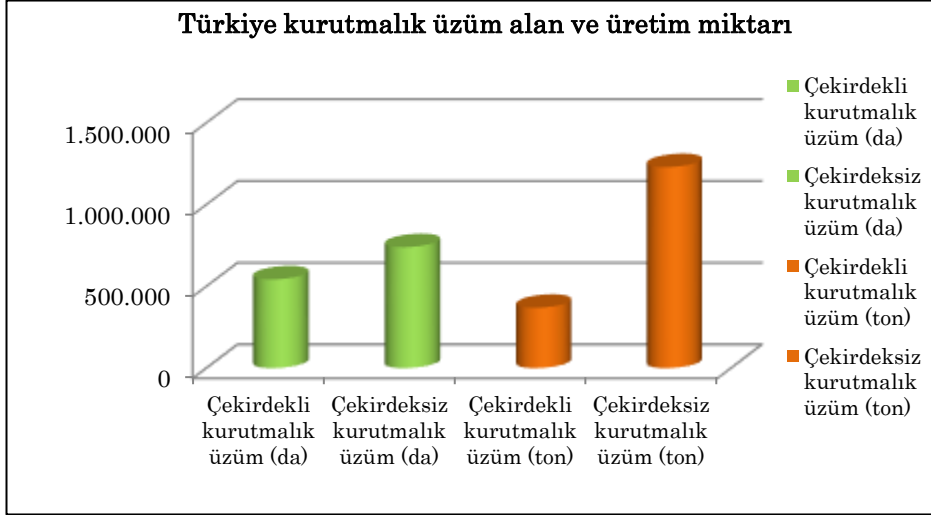
Türkiye'de 2019 yılı itibariyle 4.054.387 dekar alanda 2.050.000 ton sofralık, 1.599.000 ton kurutmalık, 451.000 ton şaraplık üzüm olmak kaydıyla toplam 4.100.000 ton üzüm üretimi yapılmıştır. Kahramanmaraş ilinde, 139.748 dekar bağ alanında 50.630 ton çekirdekli sofralık, 753 ton çekirdeksiz sofralık, 18.096 ton çekirdekli kurutmalık olmak üzere toplam 69.479 ton üzüm üretilmiştir (Tüik, 2020).

Şekil 1 ve Şekil 2'de görüldüğü üzere Kahramanmaraş ili kurutmalık üzüm üretim miktarı Türkiye kurutmalık üzüm üretim miktarının % 1.18'ine karşılık gelmektedir (Tüik, 2020).

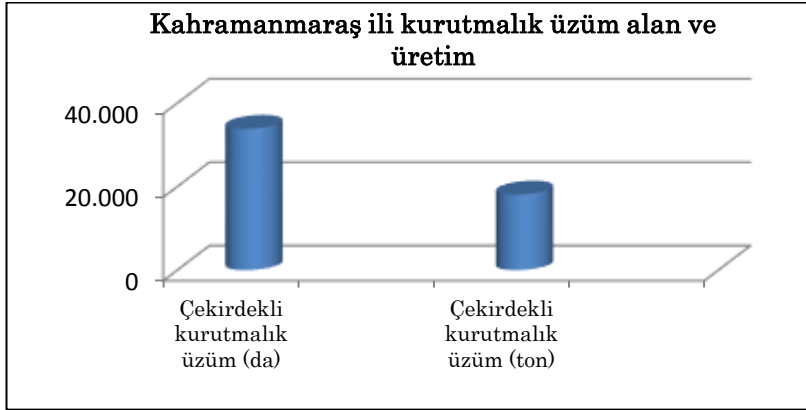
Kahramanmaraş ilinin Dulkadiroğlu, Onikişubat, Pazarcık ve Türkoğlu ilçelerinde çekirdekli kurutmalık üzüm üretimi yapılmaktadır. Şekil 3'de

görüldüğü gibi Pazarcık ilçesi kurutmalık üzüm üretimi bakımından diğer ilçelere göre daha yüksek

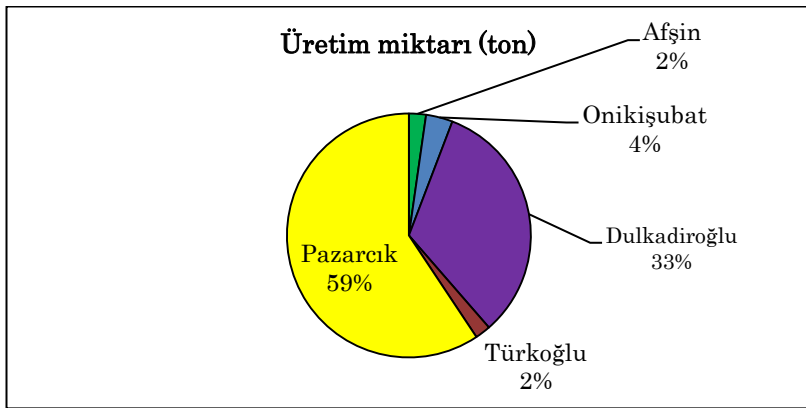
üretim düzeyi ile ilk sırada yer almaktadır (Tüik, 2020).



Şekil 1: Türkiye kurutmalık üzüm üretim alan ve üretim miktarı  
Figure 1. Turkey dried grape production area and production quantity



Şekil 2: Kahramanmaraş ili kurutmalık üzüm üretim alan ve üretim değeri  
Figure 2. Kahramanmaraş province dried grape production area and production value



Şekil 3. Kahramanmaraş ili ilçelerinde kurutmalık üzüm üretim miktarı  
Figure 3. The amount of dried grape production in Kahramanmaraş province districts

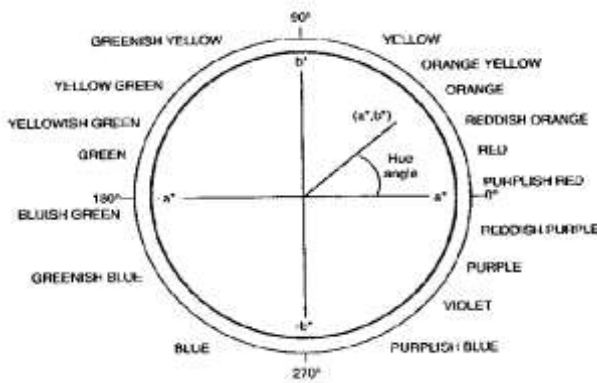
Çalışmaya konu olan Besni üzüm çeşidi Kahramanmaraş ili Pazarcık ilçesinde yoğun olarak üretilmektedir. İlçede bulunan Yumaklıcerit-Taşdemir-Kızırlı-Akçalar köyleri üretim bakımından üst sırada yer almaktadır. Pazarcık Havzası Akdeniz

ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi iklim özelliklerinin etkisi altında kalmaktadır. Havzanın rakımı 700-1200 m arasında değişmektedir. Havzanın en önemli çeşidi Besni (Peygamber üzümü) olup ülkemizin en kaliteli beyaz çekirdekli kuru üzüm üretiminde ilk sırada yer

almaktadır. İslahiye Karası üzüm çeşidi ise havzanın önemli siyah kurutmalık üzüm çeşidi olarak değerlendirilmektedir.

Yaz aylarında taze, kış aylarında ise kurutulmuş olarak tüketilen Besni (Peygamber üzümü) çeşidi; fenolik madde, flavonoid, antosiyanin ve resveratrol gibi insan sağlığı üzerine fonksiyonel öneme sahip fitokimyasalları içermektedir (Kavaz ve ark.,2016).

CIE (International Commission on Illumination) Lab renk sistemine göre renk koordinatları ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) meyvelerde bir renk ölçer cihazıyla belirlenmektedir.  $L^*$  değeri 0 ile 100 arasında bir değer olarak siyah renkten beyaza doğru olan parlaklığı belirtmektedir. Yatay ekseninde pozitif  $a^*$  değeri kırmızı mor; negatif  $a^*$  değeri ise mavimsi-yeşil rengi ifade etmektedir. Dikey ekseninde pozitif  $b^*$  değeri sarı rengi, negatif  $b^*$  değeri ise mavi rengi ifade etmektedir (McGuire,1992) (Şekil 4).



Şekil 4. CIE renk koordinatları ( $a^*$ ,  $b^*$  ve hue açısı)  
Figure 4. CIE color coordinates ( $a^*$ ,  $b^*$  and hue angle)

Fitokimyasallar; karotenoidler, alkaloidler, azot içeren fitokimyasallar, sülfür içeren fitokimyasallar ve fenolik bileşikler olarak 5 ana gruba ayrılır. Son yıllarda fitokimyasallar fonksiyonel gıda ve nutrasötik olarak isimlendirilir. (Yahia, 2017).

Üzümler; fenolik bileşikler, pigmentler ve askorbik asit içeren zengin fitokimyasallar içerir. Sekonder metabolit olan fenolik bileşikler böcek ve hayvan zararına karşı bitkiyi korurlar. Fenolik bileşikler, flavonoidleri (antosiyaninler, flavan-3-oller, flavonoller, flavonlar ve flavononlar) ve flavonoid olmayanları (hidroksibenzoik ve hidroksisülsanik asitler, stilbenler) kapsar. Fenolik bileşiklerin bir kısmı acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında bir kısmı da sarı, kırmızı, mor ve mavi gibi renklerin oluşmasını sağlar. Antioksidan maddeler serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonu durdurarak, oksidasyonun teşvik ettiği zararlanmayı engeller. Fenolik bileşikler; kanser, kalp damar hastalıkları, katarakt, diyabet ve alzheimer hastalığı ile yaşlanmaya karşı olumlu etkiye sahiptir. Ayrıca fenolik maddelerin göz hastalıklarını engellediği ve yaşlanmayı geciktirdiği ifade

edilmektedir (Nizamloğlu ve Nas 2010, Yahia, 2017). Fenolik bileşiklerin besin değeri ve antioksidan aktivite kapasitesi yüksektir. Taze üzümler ve üzüm suyu mükemmel bir antioksidan kaynağıdır. Üzümlerde bulunan fenolik bileşiklerin tipleri ve düzeyi insan sağlığında önemli rol oynar. Üzümde toplam fenolik bileşiklerin miktarıyla doğrudan bağlantılı olan antioksidan aktivite; antifungal, trombosit agregasyonu ile LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein)'yi önleyici etkiye sahiptir. Ayrıca fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivite, antitoksik, antienflamatuar ve antioksidan gücü nedeniyle sağlığa oldukça yararlı olduğu bilinmektedir (Yahia, 2017).

Bu çalışma ile, Kahramanmaraş ili Pazarcık İlçesinde yoğun olarak üretimi yapılan ve kurutmalık olarak değerlendirilen Besni üzüm çeşidinin; salkım ağırlığı, salkım boyu, salkım eni, tane boyu, tane eni, tane ağırlığı, tanede bulunan çekirdek sayısı, SÇKM (suda çözünebilir kuru madde miktarı), pH ile titrasyon asitliği, tane kabuk rengi ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Chroma ve Hue açısı değerleri) gibi pomolojik özellikleri ile toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite düzeyi belirlenmiştir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Besni (Peygamber üzümü): Salkım formu konik ve dolgun, 400-500 g salkım ağırlığı olan, tane şekli uzun eliptik, tane iriliği 7-8 g, kabuk rengi yeşil- sarı, çekirdek sayısı 1-4, tadı nötral, orta mevsimde olgunlaşan ve kurutmalık olarak değerlendirilen bir çeşittir (Çelik 2006). Besni üzüm çeşidi örnekleri Pazarcık havzasının, farklı köylerindeki üretici bağlarından 29 Ağustos 2018 tarihinde hasat edilerek toplanmıştır. 29 Ağustos 2018 tarihinde SÇKM düzeyi % 16'dan daha yüksek değerde olunca derim yapılmıştır. Türk Standartları Enstitüsü, TS101 Sofralık üzüm standardına göre çekirdekli çeşitlerde (SÇKM) suda çözünebilir kuru madde değerinin en az % 13 olması gerektiğini bildirmektedir.

Bu survey çalışmasında Akçalar, Kizirli ve Yumaklıcerit köylerinde 12 farklı üzüm bağından ve bu bağlarda bulunan farklı omcalardan salkım örnekleri alınmıştır. Bu üç farklı lokasyonda bulunan bağların toprak pH düzeyi 8'den yukarı olarak alkali düzeydedir. Akçalar ve Kizirli'de bulunan bağların toprak yapısı kireçli, Yumaklıcerit bağ alanları tınlı-killi yapıdadır. Akçalar köyü bağ alanları Güney doğu ile Güney yöneyinde, % 10-20 eğimli arazide; Kizirli bağ alanları kuzey ve kuzey batı yöneyinde, % 10-15 eğimli arazide; Yumaklıcerit bağ alanları düz arazide kurulmuştur.

Çalışma için örnek alınan bağlarda ortalama omca yaşı 15-20 yaş arasında, yöresel olarak serpene olarak isimlendirilen terbiye şekillerinden oluşmakta ve bu

omcılar yerli fidan olup dikim sıklığı 3\*3 m şeklindedir.

Her bağdan alınan örnekler, örnek kodu 1'den başlamak üzere sıralandırılmıştır. İlk 4 örnek Akçalar köyünden, 5, 6, 7, 8 no'lu örnekler Kizirli, 9, 10, 11 ve 12 numaralı örnekler Yumaklıcerit köylerinden elde edilmiştir. Örneklerin elde edildiği köylere ait rakım ve koordinat bilgileri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Besni bağ alanlarının rakım ve koordinat bilgileri  
Table 1. Altitude and coordinate information of vineyard areas of Besni

Örnek Kodu Sample Code	Rakım (m) Altitude	Koordinat Coordinate
1	987	37° 31' 55.62"K-37°27'05.66" D
2	947	37°31'33.95"K-37°27'27.29" D
3	935	37°32'32.78"K-37°26'09.64" D
4	870	37°30'37.48"K- 37°30'04.90"D
5	1005	37°32'10.56"K- 37°28'32.76"D
6	970	37°32'25.19"K- 37°29'11.47"D
7	946	37°32'02.82"K- 37°28'42.78"D
8	1054	37°32'23.51"K- 37°28'16.74"D
9	1019	37°34'43.42"K- 37°31'57.66"D
10	963	37°34'50.53"K- 37°32'36.59"D
11	1031	37°34'25.63"K- 37°31'37.12" D
12	998	37°34'11.38"K- 36°31'47.01"D

## Yöntem

### Pomolojik analiz

Salkım ağırlığı (g): Havzayı temsil edecek şekilde üzüm bağlarındaki farklı omcılardan tesadüfi olarak salkım örnekleri alınmıştır. 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 10 adet salkım örneği tartılarak ortalaması alınmıştır. **Salkım boyu (cm) ve Salkım eni (cm):** Salkım boyu ve salkım eni ölçülmüştür. **Tane boyu (mm) ve Tane eni (mm):** Salkım örneklerinin farklı kısımlarından alınan tanelerde dijital kumpas ile ölçülmüştür. **Tane ağırlığı (g):** Hassas terazide kaydedilmiştir. **Tanede bulunan çekirdek sayısı (n):** Tane örneklerindeki çekirdek sayısı kaydedilmiştir. **SÇKM (suda çözünebilir kuru madde miktarı) (%):** Üzüm sırasında refraktometre ile kaydedilmiştir. **Titrasyon asitliği (%):** Üzüm örneklerinde 0.1 N NaOH kullanılarak titrasyon yöntemiyle belirlenmiştir. **pH:** pH metre ile ölçülmüştür.

### Tane Kabuk Rengi Analizi

Tane kabuk rengi, üç tekerrürlü olarak ve her tekerrürde 5 adet üzüm tanesinin 2 farklı bölgesinde renk ölçer cihazı (Hunter-lab, ColorFlex) ile ölçülmüştür. CIE (International Commission on Illumination) Lab renk sistemine göre L\*, a\* ve b\* değerleri ölçülmüştür (McGuire,1992). L\* değeri parlaklığı, +a\* değeri kırmızı rengi -a\* değeri yeşili, +b\* değeri sarı rengi ve -b\* değeri mavi renk aralığını belirtir (Piccardo ve ark., 2019). Hue renk tonu açısını, Chroma renk yoğunluğunu ifade etmektedir. CIE Lab

renk koordinat sistemine göre; 0° kırmızı-mor rengi, 90° sarı, 180° mavi- yeşil, 270° mavi rengi tanımlamaktadır.

Hue açısı, Eşitlik 1'deki gibi belirlenir.

Eşitlik 1:  $h = \arctan(b^*/a^*)$  (McGuire, 1992).

Renk doygunluğu olan Chroma değeri ise, Eşitlik 2'deki gibi hesaplanır.

Eşitlik 2:  $Chroma = (a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$  (McGuire,1992; Belafi-Bako ve Nemestothy, 2017).

### Toplam Fenol Bileşiklerin Analizi

Toplam fenol bileşiklerin belirlenmesi için, Folin Ciocalteu kolorimetrik metodu kullanılarak Singleton ve Rossi (1965)'ye göre yapılmıştır. Folin Ciocalteu reagent, Merck; Gallic asit ise Sigma-Aldrich firmasından elde edilmiştir. Tanelerdeki toplam fenolik bileşik miktarı spektrofotometrede gallic asit cinsinden mg GAE 100 g<sup>-1</sup> olarak okunmuştur.

### Antioksidan Aktivite Analizi

Üzüm ekstraktlarında antioksidan aktivite analizi, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) serbest radikali kullanılarak yapılmıştır (Özden ve Vardin, 2009; Kelebek 2009). DPPH Sigma-Aldrich firmasından elde edilmiştir. Her örneğin serbest radikalleri indirgeme kapasitesi aşağıda belirtilen formül aracılığıyla antioksidan aktivite olarak belirlenmiştir.

DPPH inhibisyonu (%) =  $[(Ac - As) / Ac * 100]$

Ac: Kontrol absorbansı

As: Örneklerin absorbansı

### İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, Akçalar, Kizirli ve Yumaklıcerit gibi farklı köylerden alınan üzüm örneklerinin kalite özellikleri ortaya konulmuştur. Deneme Tesadüf Parselleri Deneme Deseni şeklinde 3 tekerrürlü olarak düzenlenmiştir. Standart sapma değerleri kaydedilmiştir.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada salkım ve tane özellikleri incelendiğinde (Çizelge 2), salkım ağırlığının 167.72 g ile 294.21 g, salkım uzunluğu 12.97 cm-19.97 cm, salkım eninin 9.75 cm-14.11 cm, salkım büyüklüğü değerleri ise 127.75 cm<sup>2</sup>-28.21 cm<sup>2</sup> arasında değiştiği görülmektedir.

Çizelge 2 incelendiğinde, salkım ağırlığı ortalama değerinin 230.96 g, salkım uzunluğu ortalama değerinin 16.47 cm, salkım genişliğinin ortalama 11.93 cm olarak belirlenmesi ile OIV ( Office International De La Vigne) notasyon değerlerine göre; Besni üzüm çeşidinin salkım ağırlığı (Kod: 502), salkım uzunluğu (Kod: 202) ve salkım genişliği (Kod: 202) bakımından orta düzeyde olduğu kaydedilmiştir (Anonim 2009).



Çizelge 2. Besni üzüm çeşidinin salkım özellikleri

Table 2. Cluster properties of Besni grape variety

Örnek Kodu Sample Code	Salkım ağırlığı (g) Cluster weight (g)	Salkım uzunluğu (cm) Cluster length (cm)	Salkım genişliği (cm) Cluster width (cm)	Salkım büyüklüğü (cm <sup>2</sup> ) Cluster size (cm <sup>2</sup> )
1	239.63±10.35	17.10±0.42	10.43±0.21	179.31±4.72
2	280.09±12.15	19.97±0.52	11.37±0.32	228.21±6.43
3	219.87±8.34	14.33±0.38	10.30±0.25	147.03±3.60
4	235.37±8.59	13.62±0.33	11.94±0.28	163.05±4.36
1.Lokasyon ort.	243.74±9.86	16.25±0.41	11.01±0.26	179.40±4.77
5	181.93±8.11	13.45±0.30	14.11±0.39	187.05±5.23
6	245.70±9.55	13.54±0.36	9.79±0.22	129.41±4.06
7	294.21±13.02	18.55±0.48	11.01±0.27	203.93±5.95
8	167.72±7.69	12.97±0.32	9.87±0.26	127.75±3.81
2.Lokasyon ort.	222.39±9.59	14.63±0.36	11.19±0.28	162.03±4.76
9	252.18±11.46	14.24±0.29	12.55±0.36	176.51±5.47
10	213.43±9.93	15.34±0.45	9.75±0.23	143.06±4.19
11	241.30±8.88	14.83±0.35	11.27±0.24	168.04±4.06
12	237.65±9.19	14.33±0.28	11.30±0.33	161.81±4.53
3.Lokasyon ort.	236.14±9.86	14.68±0.34	11.22±0.29	162.35±4.56
Min	167.72	12.97	9.75	127.75
Max	294.21	19.97	14.11	228.21
Ort.	230.96	16.47	11.93	177.98
Standart sapma	34.38	1.27	0.96	15.70

Çizelge 3. Besni üzüm çeşidinin tane özellikleri

Table 3. Berry properties of Besni grape variety

Örnek Kodu Sample Code	Tane ağırlığı (g) Berry weight (g)	Tane uzunluğu (mm) Berry length (mm)	Tane genişliği (mm) Berry width (mm)	Çekirdek sayısı (n) Number of seeds (n)
1	7.21±0.03	30.59±0.39	18.89±0.14	2.0±0.05
2	7.43±0.02	30.72±0.31	19.97±0.13	4.0±0.09
3	6.52±0.01	29.84±0.28	18.51±0.15	2.0±0.06
4	8.07±0.03	29.25±0.26	20.26±0.21	3.0±0.08
1.Lokasyon ort.	7.31±0.02	30.10±0.31	19.40±0.16	2.75±0.07
5	5.91±0.01	28.88±0.30	18.42±0.12	1.0±0.05
6	6.36±0.02	28.32±0.25	19.69±0.16	2.0±0.06
7	7.70±0.03	30.76±0.42	20.03±0.20	3.0±0.07
8	6.35±0.02	31.15±0.32	18.29±0.12	2.0±0.06
2.Lokasyon ort.	6.58±0.02	29.77±0.32	19.11±0.15	2.0±0.06
9	6.85±0.02	34.05±0.45	20.53±0.18	2.0±0.05
10	7.11±0.03	31.34±0.37	20.56±0.17	3.0±0.09
11	5.75±0.01	27.76±0.26	19.12±0.13	2.0±0.05
12	6.82±0.02	30.34±0.32	19.24±0.14	2.0±0.06
3.Lokasyon ort.	6.63±0.02	30.87±0.35	19.86±0.15	2.25±0.05
Min	5.75	27.76	18.29	1.0
Max	8.07	34.05	20.56	4.0
Ort.	6.91	30.90	19.42	2.5
Standart sapma	0.08	1.11	0.53	0.23

Boz ve ark. (2011), Adıyaman Gölbaşı İlçesinden elde edilen Besni (Peygamber üzümü) çeşidinde salkım şeklinin W. konik olduğunu ifade etmişlerdir.

Doğan ve ark. (2017), Besni (Peygamber üzümü) çeşidinde salkım uzunluğunun küçük olduğunu (126.2±70.50), salkım sıklığının orta, salkım ağırlığının küçük (208.2±30.74), bildirmişlerdir.

Besni üzüm çeşidi ile ilgili yeterli literatür bulunamadığından elde edilen bulgular diğer beyaz

üzüm çeşitleri ile kıyaslanmıştır.

Yılmaz ve Dardeniz (2009), Amasya üzüm çeşidi salkımlarında salkım ağırlığını 261.6 g, salkım boyunu 13.84 cm, salkım enini ise 10.00 cm olarak elde etmişlerdir. Kamiloğlu ve Polat (2009), Yalova İncisi çeşidiyle yaptıkları bir çalışmada salkım ağırlığını 260.2 g, salkım boyunu 17.8 cm, salkım enini ise 9.3 cm olarak belirlemişlerdir. Akın (2011), çalışmasında Müşküle üzüm çeşidine ait kontrol grubu omcalarında,

salkım ağırlığını 250.89 g, salkım uzunluğunu 25.59 cm, salkım genişliğini 8.76 cm olarak elde edilmiştir.

Çalışmada, Besni üzüm çeşidi örneklerinde tane ağırlığı 5.75 g ile 8.07 g, tane uzunluğu 27.76 mm ile 34.05 mm, tane genişliği 18.29 mm-20.56 mm arasında kaydedilmiştir (Çizelge 3).

Rolle ve ark. (2015), sofralık üzümlerde tane çapının küçük tanelerde 16-17 mm, orta büyüklükteki tanelerde 18-19 mm, büyük tanelerde ise 20-21 mm olduğunu belirlemiştir.

Melo ve ark. (2014), şaraplık üzümlerde tane çapının küçük tanelerde <13 mm, orta büyüklükteki tanelerde 13-14 mm, büyük tanelerde ise >14 mm olduğunu belirlemiştir.

Bu çalışmada, ortalama olarak tane ağırlığı 6.91 g, tane uzunluğu 30.90 mm ve tane genişliği 19.42 mm şeklinde belirlenmiştir (Çizelge 3). OIV notasyon değerlerine göre; tane ağırlığı (Kod: 503) ağır olarak, tane boyu (Kod:220) orta- uzun, tane eni (Kod:221) orta-geniş olarak kaydedilmiştir (Anonim 2009).

Adıyaman Besni üzüm çeşidi; tane özelliği bakımından iri olup, (347,11±65,59 mm<sup>2</sup>), homojen, orta uzunlukta (21,02±2,24 mm), kısa oval (ters yumurtamsı) şeklinde ve 2-3 çekirdekli bir üzüm çeşidi olarak tescil ettirilmiştir (Anonim 2018).

Boz ve ark. (2011), Adıyaman Gölbaşı İlçesinden elde edilen Besni (Peygamber üzümü) çeşidinde tane şeklinin L ovoid, kabuk rengini beyaz, tatlı ve 2-3 çekirdekli olarak ampelografik tanımlamasını yapmışlardır. Derim tarihinin Ağustos ayı ortalarında olduğunu belirlemiştir.

Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından Adıyaman İlinde yetiştirilen Peygamber üzümü (Besni) çeşidinde kaydedilen tane uzunluğu değerleri OIV değerlendirme sıkalasına göre tane ağırlığı (9 g) ağır tane şeklinde, tane uzunluğu uzun tane (28 mm) olarak, tane genişliği (23 mm) iri tane şeklinde elde edilmiştir (Boz, 2012).

Doğan ve ark. (2017), Besni (Peygamber üzümü) çeşidinde, tane uzunluğunu uzun (23.45±3.53), tane genişliğinin geniş tane (18.06±1.56), tanelerin bir örnek olduğunu, tane şeklinin kısa oval ve yuvarlak olduğunu, tane kabuk renginin yeşil-sarı ve uniform olduğunu, tane kabuğu ince, tane sulu, sıra verimi yüksek (83.4±3.26), meyve eti sertliğinin yüksek, çekirdek uzunluğunu orta (5.1±1.92), çekirdek genişliğini enli tane (4.88±1.86), tane ağırlığını orta (5.23±1.70), şıradaki şeker kapsamının çok yüksek (%26), şıradaki toplam asitliğin düşük (4.46) olduğunu bildirmişlerdir.

Liang ve ark. (2011), Coudsi, İskenderiye Misketi, Beyaz Korint, Sultana Moschata, Chasselas Ciotat, Muscat Oliver, Solferino, Muscat St. Laurent, Pearl of Zola gibi beyaz üzüm çeşitlerinde tane iriliğini sırasıyla: 4.25 g, 5.70 g, 0.75 g, 2.75 g, 1.60 g, 1.55 g,

3.20 g, 2.40 g, 1.65 g olarak belirlemişlerdir. Kamiloğlu ve Polat (2009), Yalova İncisi üzüm çeşidinde tane ağırlığını 6.70 g, tane boyunu 26.0 mm, tane enini ise 20.6 mm olarak belirlemişlerdir. Akın (2011), çalışmasında Müşküle üzüm çeşidine ait kontrol grubu omcalarında, tane ağırlığını 4.54 g olarak kaydetmiştir.

Çizelge 4'de sıra özellikleri incelendiğinde SÇKM düzeyi % 16.1- 23.0 arasında, titre edilebilir asitliğin 0.310-0.544, pH düzeyinin 3.81 ile 4.06 arasında değiştiği görülmektedir.

Çizelge 4. Besni üzüm çeşidi sıra özellikleri  
Table 4. Must characteristics of Besni grape variety

Örnek Kodu Sample Code	SÇKM (%) TSS (%)	Asitlik (%) Acidity (%)	pH pH
1	23.0±0.13	0.355±0.01	4.01±0.02
2	20.8±0.09	0.361±0.01	3.99±0.02
3	18.5±0.06	0.377±0.01	3.99±0.02
4	21.1±0.08	0.379±0.02	4.03±0.02
1.Lokasyon ort.	20.8±0.09	0.368±0.01	4.00±0.02
5	20.4±0.07	0.448±0.02	3.90±0.01
6	19.9±0.06	0.408±0.02	3.92±0.01
7	22.4±0.12	0.372±0.01	3.99±0.02
8	20.4±0.07	0.544±0.02	4.02±0.03
2.Lokasyon ort.	20.7±0.08	0.443±0.02	3.96±0.01
9	19.7±0.06	0.358±0.01	4.06±0.03
10	16.1±0.06	0.555±0.02	3.81±0.01
11	22.0±0.10	0.310±0.01	3.93±0.02
12	22.2±0.09	0.381±0.01	3.81±0.01
3.Lokasyon ort.	20.0±0.07	0.401±0.01	3.90±0.01
Min	16.1	0.310	3.81
Max	23.0	0.544	4.06
Ort.	19.5	0.427	3.93
Standart sapma	0.26	0.05	0.07

Üzüm meyvesinde dikkate alınan tat metabolitleri arasında, SÇKM ve titrasyon asitliğinin ölçümü ile şeker ve organik asit kompozisyonu vardır. Tüketicinin damak tadına göre, sofralık üzümde kalite; şeker kapsamı, organik asit ve bunlar arasındaki dengeye bağlıdır. Derim döneminde sofralık üzümdeki titrasyon asitliği düzeyindeki farklılıklar çeşide, çevresel koşullara, depo koşullarına ve diğer faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterir. Tadı etkileyen titrasyon asitliği ile birlikte SÇKM (tatlılık) olgunlaşmanın bir göstergesidir. Pek çok ticari çeşitte olgunlaşma döneminde SÇKM düzeyi % 15-18 arasında değişir. Ayrıca, üzümlerin kimyasal kompozisyonu olgunlaşma, genotip ve büyüme koşulları gibi bazı faktörlerden etkilenir (Munoz-Robredo ve ark., 2011).

Besni üzüm çeşidinde SÇKM düzeyi ortalama olarak % 19.5, titrasyon asitliği değeri % 0.427, pH düzeyi 3.93 olarak belirlenmesi ile OIV notasyon değerlerine göre; SÇKM (Kod: 505) değerinin orta-yüksek, titrasyon asitliği (Kod: 506) değerinin düşük düzeyde, pH kapsamı düşük-orta seviyede olarak belirlenmiştir (Anonim 2009).

Adıyaman İlinde yetişen Besni üzüm çeşidinin çeşit

tescil raporunda; kuru madde düzeyi % 82.40, titrasyon asitliği % 0.47 ve pH düzeyi 4.41 olarak belirlenmiştir (Anonim, 2018).

Yalçinkaya (2016), Besni üzüm çeşidiyle yaptığı çalışmada Kontrol grubu olan yaş üzüm örnekleri ile kurutulmuş üzüm örneklerinde SÇKM düzeyini sırasıyla: % 20.16 ile 73.70 arasında, titrasyon asitliği değerlerini 0.26 g<sup>-1</sup> 100 g ve 1.05 g<sup>-1</sup> 100 g, pH düzeyini ise 4.29 ile 4.52 arasında kaydetmiştir.

Lung ve ark. (2016) lokal üzüm çeşidi olan Timpuriu de Cluj'de SÇKM düzeyini 20.9 olarak belirlemişlerdir. Bellincontro ve ark. (2006), lokal üzüm çeşidi olan Aletico üzüm çeşidinin kontrol grubunda SÇKM düzeyini % 20.5 olarak kaydetmiştir. Akın (2011), çalışmasında Müşküle üzüm çeşidine ait kontrol grubu omcalarından elde edilen üzümlerde SÇKM düzeyini % 17.76, titrasyon asitliğini 0.26 g l<sup>-1</sup> olarak kaydetmiştir.

Bellincontro ve ark. (2006), lokal üzüm çeşidi olan Aletico üzüm çeşidinde, kontrol grubunda titre edilebilir asitlik düzeyini 2.5 g l<sup>-1</sup> olarak, pH miktarını da 4.1 şeklinde belirlemiştir.

Üzümde olgunlaşma esnasında tanede şeker birikimi meydana gelir. Şeker kapsamı; çeşide, yetiştirme şekline ve çevresel koşullara bağlıdır. Üzümler yüksek

oranda karbonhidrat içerir. Ayrıca, pek çok vitamin (B<sub>6</sub>, C, E ve K) ve mineral madde (potasyum, fosfor, kalsiyum ve magnezyum) kaynağıdır. Üzümde kalite özelliklerinden bir olan titrasyon asitliği, üzümde baskın organik asit olan tartarik asit oranı ile elde edilir. Üzüm suyunda bulunan hidrojen iyonlarının konsantrasyonu pH olarak tanımlanır. pH düzeyi titrasyon asitliği ile bağlantılı olarak üzümde renk düzeyini de etkilemektedir (Creasy and Creasy, 2009).

Besni üzüm çeşidi tane kabuk rengi parametreleri incelendiğinde L\* değeri 32.92 ile 44.44, a\* değeri -6.31 ile -0.99, b\* değeri 22.33 ile 30.50, Chroma 21.00 ile 30.79, Hue açısı 77.42 ile 85.96 arasında belirlenmiştir (Çizelge 5). Bu çalışmada belirlenen Hue açısı ile CIELAB renk koordinat sisteminde, Besni üzüm çeşidinin tane kabuk renginin sarı olduğu belirlenmiştir. Adıyamanda yetişen Besni üzüm üzüm çeşidi renginin altın sarısına yakın kehribar renkte olduğu çeşit tescil raporunda yer almaktadır (Anonim, 2018). Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından Adıyaman İlinde yetiştirilen Peygamber üzümü (Besni) çeşidinde tane rengi OIV değerlendirme skalasına göre yeşil-sarı renkte belirlenmiştir (Boz ve ark., 2012).

Çizelge 5. Besni üzüm çeşidi tane kabuk rengi özelliği  
Table 5. Feature of berry skin color of Besni grape variety

Örnek Kodu Sample Code	L* L*	a* a*	b* b*	Chroma Chroma	Hue açısı Hue Angle
1	42.16±0.68	-3.01±0.29	26.18±0.29	26.36±0.35	83.40±0.69
2	44.18±1.01	-6.31±0.23	30.09±0.45	30.79±0.55	78.12±0.45
3	44.02±0.93	-4.16±0.27	28.57±0.35	28.89±0.43	81.77±0.61
4	41.26±0.63	-1.00±0.40	24.46±0.28	24.48±0.32	80.73±0.49
1.Lokasyon ort.	42.91±0.81	-3.62±0.30	27.32±0.34	27.63±0.41	81.00±0.56
5	38.07±0.60	-3.80±0.28	23.68±0.25	24.02±0.32	80.95±0.55
6	40.66±0.65	-6.26±0.23	27.35±0.31	28.13±0.41	77.42±0.44
7	33.24±0.58	-4.09±0.26	22.33±0.26	22.71±0.29	79.48±0.46
8	32.92±0.55	-2.26±0.37	20.87±0.25	21.00±0.29	83.83±0.65
2.Lokasyon ort.	36.22±0.59	-4.10±0.28	23.55±0.27	23.96±0.33	80.42±0.52
9	42.96±0.80	-2.59±0.34	27.39±0.30	27.52±0.33	84.54±0.75
10	41.69±0.75	-4.47±0.25	27.86±0.34	28.79±0.37	81.12±0.53
11	44.07±0.86	-2.13±0.32	30.50±0.48	30.62±0.50	85.96±0.82
12	44.44±1.13	-4.95±0.26	30.10±0.42	30.51±0.46	80.63±0.51
3.Lokasyon ort.	43.29±0.88	-3.53±0.29	28.96±0.38	29.36±0.41	83.06±0.65
Min	32.92	-6.31	22.33	21.00	77.42
Max	44.44	-1.00	30.50	30.79	85.96
Ort.	38.68	-3.65	26.41	25.89	81.69
Standart sapma	2.26	0.98	1.18	1.23	1.83

Ayrıca, 0-100 rakamları arasında yer alan ve koyudan açık renge doğru ilerleyen L\* değerine göre tane kabuk renginin orta düzeyde parlak olduğu, kırmızı rengi ifade eden +a\* değerinin ise sarı rengi belirten +b\* değerinden daha düşük düzeyde olduğu kaydedilmiştir.

Ekonomik olarak üretimi yapılan üzümlerde görünüm önemlidir. Üzümde renk oluşumu çeşide özgü pigmentin oluşumuna bağlı olarak tane gelişiminin son aşamasında meydana gelir. Beyaz üzümlerde renk, şeffaf veya yeşil-sarı renkte olabilir (Carreno ve ark., 1998).

Yalçinkaya (2016), Besni üzüm çeşidiyle yaptığı çalışmada Kontrol grubu olan yaş üzüm örnekleri ile kurutulmuş üzüm örneklerinde renk analizi sonuçlarına göre; L\* değeri sırasıyla 39.86 ile 25.02, a\* değeri 1.17 ile 6.53, b\* değeri 9.09 ile 13.13, Chroma değeri 9.25 ile 15.10, Hue açısı değeri ise 90.36 ile 55.25 arasında belirlemiştir. Bu değerler, bu çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Akın (2011), Müşküle üzüm çeşidinde kontrol grubu omcalarından alınan üzüm örneklerinde L\*, a\* ve b\* değerlerini sırasıyla; 42.43, -2.47, 8.48 olarak bildirmiştir. Dardeniz ve ark. (2018), Yalova çekirdeksizi kontrol grubu üzüm örneklerinde L\* değerini ortalama 39.34, Chroma değerini 14.76, Hue açısını 110.2 şeklinde ifade etmişlerdir.

Sayman ve Akın (2015), Razakı üzüm çeşidi kontrol grubu örneklerinde L\* değerini 46.92, a\* değerini -

5.05, b\* değerini 15.70 olarak belirlemiştir.

Carreno ve ark. (1998) bazı üzüm çeşitlerinin renk ölçüm değerlerini belirlemiştir. Buna göre; Superior Seedless, Perlette, Thompson Seedless, Perle de Csaba ve Italia üzüm çeşitlerinin L\* değeri sırasıyla; 48.00, 53.67, 46.23, 47.14 ve 43.34 olarak, a\* değeri sırasıyla -6.42, -7.76, -5.10, -6.28 ve -4.31 olarak, b\* değerini sırasıyla; 17.56, 20.51, 15.66, 18.12, 13.14, Hue açısını 110.08, 110.73, 108.05, 109.11 ve 108.15 olarak, Chroma değerleri ise sırasıyla; 18.70, 21.93, 16.48, 19.18 ve 13.82 olarak bildirilmiştir. Sarı-yeşil renkli üzüm çeşitlerin ortalama olarak renk değerleri; L\* 43.82, a\* -4.72, b\* 13.47, Hue açısı 108.97 ve Chroma değeri 14.30 şeklinde kaydedilmiştir.

Çizelge 6 incelendiğinde, Besni üzüm çeşidi toplam fenol düzeyi 114.3 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> ile 247.1 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> arasında olduğu görülmektedir.

Çizelge 6. Besni üzüm çeşidi örneklerinin toplam fenol ve antioksidan aktivite düzeyi

Table 6. Total phenol and antioxidant activity levels of Besni grape samples

Örnek Kodu Sample Code	Toplam Fenol (mg GAE 100 g <sup>-1</sup> ) Total phenol (mg GAE 100 g <sup>-1</sup> )	Antioksidan aktivite (%) Antioxidant activity (%)
1	136.6±1.55	40.6±0.72
2	123.2±1.60	53.4±0.80
3	186.3±1.71	42.9±0.74
4	197.8±1.85	77.8±1.05
1. Lokasyon ort.	160.9±1.68	53.7±0.83
5	188.3±1.77	76.0±1.22
6	240.6±2.26	79.1±1.13
7	216.0±1.92	63.3±0.86
8	247.1±2.62	54.3±0.77
2. Lokasyon ort.	223.0±2.14	68.2±0.99
9	114.3±1.51	59.4±0.83
10	138.8±1.60	37.2±0.70
11	224.8±2.13	71.8±0.99
12	246.3±2.42	71.5±0.89
3. Lokasyon ort.	181.0±1.91	59.9±0.93
Min	114.3	37.2
Max	247.1	79.1
Ort.	180.7	58.1
Standart sapma	6.387	2.983

Üzümde bulunan fenolik madde miktarının çeşit, üretim yılı (yıldan yıla iklimsel değişimler), üretim alanı (üzüm üretimine coğrafik alana etkisi, toprak kompozisyonu ve gübreleme) ile olgunlaşma düzeyi gibi önemli dört faktör tarafından etkilendiğini ifade etmiştir (Boonterm, 2010).

Yalçinkaya (2016), Besni üzüm çeşidiyle yaptığı çalışmada Kontrol grubu olan yaş üzüm örnekleri ile kurutulmuş üzüm örneklerinde sırasıyla; toplam fenol miktarını 292.86 mg<sup>-1</sup> GAE 100 g ve 285.11 mg<sup>-1</sup> GAE 100 g arasında kaydetmiştir. Bu çalışmaya göre kurutulan Besni üzüm örneklerinde toplam fenol miktarının azaldığını ifade etmiştir. Candemir ve ark. (2015), kurutulmuş Besni üzüm çeşidinin toplam fenolik madde miktarını 518.79 mg GAE L<sup>-1</sup> olarak

belirlemiştir.

Genova ve ark. (2012), İskenderiye Misketi üzüm çeşidinde toplam fenol düzeyini 252.9 mg<sup>-1</sup> GAE 100 g şeklinde kaydetmiştir.

Lung ve ark. (2016), beyaz üzüm çeşitleri olan Aromat de Iași ile Timpuriu de Cluj üzüm çeşitlerinin kabuklarında toplam fenol düzeyini sırasıyla 13.4 mg ile 25.3 mg kg<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Kök ve Bal (2017), Italy, Tekirdağ misketi, Chardonnay ve Riesling üzüm çeşitlerinde toplam fenol miktarını sırasıyla 205.53 mg, 192.52 mg, 2277.38 mg ile 2107.5 mg GAE kg<sup>-1</sup> şeklinde kaydetmişlerdir. Liang ve ark. (2011), Coudsi, İskenderiye Misketi, Beyaz Korint, Sultana Moschata, Chasselas Ciotat, Muscat Oliver, Solferino, Muscat St. Laurent, Pearl of Zola gibi beyaz



üzüm çeşitlerinde toplam fenol miktarını sırasıyla; 0.242, 0.303, 0.359, 0.362, 0.429, 0.580, 0.614, 0.662, 0.848 mg g<sup>-1</sup> olarak elde etmişlerdir. Genova ve ark. (2012), İskenderiye Misketi üzüm çeşidinde toplam fenol miktarını, 252.9 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> şeklinde belirlemiştir. Yang ve Xiao (2013), Chardonnay üzüm çeşidinin meyve etinde, toplam fenol bileşiklerinin miktarının 1.92 mg GAE g<sup>-1</sup> olduğunu bildirmiştir. Bellincontro ve ark. (2006), lokal üzüm çeşidi olan Aletico üzüm çeşidinin kontrol grubunda toplam fenol miktarını 500 mg l<sup>-1</sup> kateşin olarak kaydetmiştir.

*Vitis vinifera* türünde bulunan fenolik bileşikler (fenolik asitler, stilbenler, flavonoidler (flavonol, flavanol ve antosiyaninler) üzüm kalitesinin oluşumunda önemli rol oynar. Fenolik bileşiklerin üzümdeki miktarı tür, çeşit ve farklı dokularda değişik düzeylerde olabilir (Yahia, 2017). Meyve sebzelerde bulunan fitokimyasalların kapsamı ve bileşimi üzerine genetik ve çevresel koşullar etkilidir. İklim, yetiştirme dönemi, sıcaklık, yağış, toprak mineral kompozisyonu, bitkinin vejetatif gelişimi, verim, kültürel işlemler ve hasat sonrası depolama ve işleme koşulları fitokimyasalların içeriği üzerine etkilidir (Lutz ve ark., 2012; Yahia, 2017).

Üzümde bulunan fenolik bileşikler, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, Alzheimer veya demans gibi hastalıkları önleyen veya destekleyici olan antikarsinogenik ve antioksidan özellik gösterirler (Artes Hernandez, 2003).

Besni üzüm çeşidi antioksidan aktivite düzeyi % 37.2- % 79.1 arasında belirlenmiştir (Çizelge 6).

Candemir ve ark., (2015) kurutulmuş Besni üzüm çeşidinin antioksidan aktivite düzeyini 0.56 mmol TEL<sup>-1</sup> olarak bildirmişlerdir.

Kelebek ve ark. (2013), Besni üzüm çeşidinde DPPH yöntemiyle antioksidan aktivite düzeyini 36.67 (mmol L<sup>-1</sup> Trolox kg<sup>-1</sup>) olarak belirlemişlerdir.

Genova ve ark. (2012), 24 saat 4 °C'de depolanan İskenderiye Misketi üzüm çeşidinde antioksidan aktivite miktarını 31.9 TE L<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Elfogohi (2019), Narince üzüm çeşidinde antioksidan aktivitenin % 100 civarında olduğunu bildirmiştir. Karaca Sanyürek ve ark. (2018), beyaz üzüm çeşidi olan Hasani çeşidinde antioksidan aktivite düzeyini 40.1, µg ml<sup>-1</sup> olarak belirlemişlerdir.

## SONUÇLAR

Kahramanmaraş'ın çekirdekli kurutulmuş üzüm üretiminin en fazla olduğu Pazarcık Havzasında, Besni üzüm çeşidinin kalite özellikleri ile toplam fenol ve antioksidan aktivite düzeyi bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Çalışmada, lokasyon ortalama değerlerine bakıldığında; salkım, tane ve sıra özellikleri bakımından 1. Lokasyondan alınan örnekler diğerlerine göre daha üst sırada yer almaktadır.

Toplam fenol ve antioksidan aktivite düzeyi bakımından 2. Lokasyon ortalama değerleri öne çıkmıştır.

Besni üzüm çeşidinde Pazarcık Havzasından elde edilen 2 numaralı Akçalar ve 7 numaralı Kizirli köyünden alınan salkım örnekleri ağırlık ve büyüklük bakımından diğer örneklerle göre ilk sırada yer almaktadır. Tane ağırlığı bakımından ise 2 numaralı Akçalar ve 7 numaralı Kizirli örnekleri biraz daha öne çıkmaktadır. Tane uzunluğu ve genişliği, SÇKM miktarı, farklı köylerden alınan örneklerde birbirine yakın düzeyde kaydedilmiştir. Besni üzüm çeşidinde renk kriteri açısından; tane kabuğunda Hue açısı değerlerinin CIELAB renk koordinat sisteminde sarı renge karşılık geldiği kaydedilmiştir.

Toplam fenol düzeyi ile antioksidan aktivite bakımından çalışmada incelenen bütün örnekler içerisinde Kizirli köyü üzüm örneklerinin ilk sıralarda yer aldığı görülmektedir.

Kahramanmaraş İli Pazarcık İlçesi ekolojik koşullarında yetişen Besni üzüm çeşidinde bu çalışma sonucunda elde edilen bulguların Kahramanmaraş İli ve çevre illerde önemli bir üretim potansiyeli barındıran kurutulmuş üzüm üretim sektörü ve Besni üzüm çeşidi ile yapılacak araştırmalar açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 2018/3-32 M.

## Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## KAYNAKLAR

- Akın A 2011. Müşküle Üzüm Çeşidinde Salkım Ucu Kesme ve Bazı Büyüme Düzenleyici Uygulamalarının Üzüm Verimi ve Kalitesine Etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Derg 21(2): 134-139.
- Anonim 2009. OIV Technical Standards and Documents. <http://www.oiv.int/public/medias/2274/code-2e-edition-finale.pdf>. (Access date: 02.11.2020).
- Anonim 2018. No: 357-Menşe Adı Adıyaman Besni Üzümü. Tescil Ettiren Besni Belediyesi.
- Artes-Hernandez F, Artes F, Tomas Barbera FA 2003. Quality and Enhancement of Bioactive Phenolics in Cv. Napoleon Table Grapes Exposed to Different Postharvest Gaseous Treatments Agric. Food

- Chem. 51: 5290-5295.
- Belafi-Bako K, Nemestothy N 2017. Food Biosynthesis. Chapter 9. 277-292.
- Bellincontro A, Fardelli A, De Santis D, Botondi, R., Mencarelli, F. 2006. Postharvest Ethylene and 1-MCP Treatments Both Affect Phenols, Anthocyanins, and Aromatic Quality of Aleatico Grapes and Wine. Australian Journal of Grape and Wine Research 12: 141-149.
- Boonterm V, Silapapun A, Boonkerd N 2010. Effects of Nitrogen, Potassium Fertilizers and Clusters Per Vine on Yield and Anthocyanin Content in Cabernet Sauvignon Grape. Suranaree J. Sci. Technol. 17(2):155-163.
- Boz Y, Bakır M, Çelikkol BP, Kazan, K, Yılmaz F, Çakır B, Aslantaş Ş, Söylemezoğlu G, Yaşasın AS, Özer H, Çelik H, Ergül A. (2011). Genetic characterization of grape (*Vitis vinifera* L.) germplasm from Southeast Anatolia by SSR markers. Vitis 50 99-106.
- Boz Y, Uysal T, Yaşasın AS, Gündüz A, Avcı GG, Sağlam M, Kıran T, Öztürk L. 2012. Türkiye Asma Genetik Kaynakları. Grapevine Genetic Resources of Turkey. Ampelografik Tanımlama. Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu, 72s. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/bagcilik/Lists/KutuMenu/Attachments/6/99%20Son%20Sayfalar.pdf>. (Alınma Tarihi: 6.11.2020).
- Candemir A, Güler A, Soltekin O, Teker T (2015). Üzüm ürünlerinin biyokimyasal özellikleri. Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Derg 27: 399-402.
- Carreno J, Martinez A, Almela L, Fernandez-Lopez J.A. 1998. Measuring the Color of Table Grapes. Color Research and Application. 21(1): 50-54.
- Creasy GL, Creasy LL 2009. Grapes (Crop Production Science in Horticulture) 1st Edition CABI, 331p.
- Çelik S 1998. Bağcılık (Ampeloloji). Cilt-1. Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tekirdağ, 428 sy.
- Çelik H, Ağaoglu, YS, Fidan Y, Marasalı B, Söylemezoğlu, G 1998. Genel Bağcılık. Sunfidan A.Ş., Mesleki Kitaplar Serisi 1: 253 sy.
- Çelik H 2006. Üzüm Çeşit Kataloğu. Ankara. 165 sy.
- Dardeniz A, Gündoğdu MA, Akçal A, Sarıyer T, Atik F, Harput N 2018. Yalova Çekirdeksiz Üzüm Çeşidinin Yazlık Sürgünlerinde Farklı Tepe Alma Uygulamalarının Yıllık Dal ile Üzüm Verim ve Kalitesine Etkileri. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Derg 6(1): 51-59.
- Doğan A, Uyak C, İlhan E 2017. Adıyaman Merkez İlçede Yetiştirilen Yerel Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Tanımlanması. YYÜ Tar Bil Derg (Yyu J Agr Sci) 27(1): 118-131.
- Elfogohi LRA 2019. Anadolu'da yetiştirilen bazı üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşitlerinin biyokimyasal içeriğinin, antikanser ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Kastamonu Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 47 sy.
- Genova G, Iacopini P, Baldi M, Ranieri A, Storchi P, Sebastiani L 2012. Temperature and Storage Effects on Antioxidant Activity of Juice From Red and White Grapes. International Journal of Food Science and Technology 47: 13-23.
- Kamiloğlu Ö, Polat A 2009. Bazı Sofralık Üzüm Çeşitlerinin Dörtüyl-Erzin Yöresi Koşullarında Verim ve Kalite Performanslarının Belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Derg 14 (1): 9-16.
- Karaca Sanyürek N, Tahmaz H, Çakır A, Söylemezoğlu G 2018. Tunceli İlinde Yetiştirilen Bazı Şaraplık Üzüm Çeşitlerinde Antioksidan Aktivitenin ve Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Derg 5(4): 551-555.
- Kavaz A, Yüksel M, Dağdemir E 2016. Kurutulmuş Besni üzümünden (*Vitis vinifera* L.) üretilen dondurmaların belirli kalite özelliklerinin, ısı ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi. Dairy Technol, 69: 418-424. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12277>
- Kelebek H 2009. Değişik Bölgelerde Yetiştirilen Öküzgözü, Boğazkere ve Kalecik Karası Üzümlerinin ve Bu Üzümlerden Elde Edilen Şarapların Fenol Bileşikleri Profili Üzerinde Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, 259 sy.
- Kelebek H, Jourdes M, Selli S, Teissedre PL. 2013. Comparative Evaluation of the Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Sun-Dried Raisins. J Sci Food Agric 2013; 93: 2963-2972.
- Kök D, Bal E 2017. Compositional Differences in Phenolic Compounds and Anthocyanin Contents of Some Table and Wine Grape (*V. Vinifera* L.) Varieties from Turkey. Oxidation Communications 40 (2): 648-656.
- Liang Z, Owens CL, Zhong GY, Cheng L 2011. Polyphenolic Profiles Detected in the Ripe Berries of *Vitis Vinifera* Germplasm. Food Chemistry 129: 940- 950.
- Lung ML, Pamfil D, Pop N, Catana C, Lazar SL, Giacosa S, Torchio F, Ferrandino Aİ, Rio Segade S, Rolle L 2016. Investigation on Phenolic and Aroma Compounds of Table Grapes from Romania. Not Bot Horti Agrobo 44(1): 140-146.
- Lutz M, Cajas Y, Henri´quez C 2012. Phenolics content and antioxidant capacity of Chilean grapes cv. Pai´s and Cabernet Sauvignon. Contenido de fenoles y capacidad antioxidante en uvas chilenas cv. Pai´s y Cabernet Sauvignon CyTA – Journal of Food 10 (4):251-257.
- McGuire RG 1992. Reporting of Objective Color Measurements. Hortscience 27 (12): 1254-1255.
- Melo, M.S., C.G., Schultz, C.G., Volschenk and J.J., Hunter, 2014. Berry Size Variation of *Vitis vinifera* L. cv. Syrah: Morphological Dimensions, Berry

- Composition and Wine Quality. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 36(1):1-10.
- Munoz-Robredo P, Robledo P, Manriquez D, Molina R, Defilippi BG 2011. Characterization of Sugars and Organic Acids in Commercial Varieties of Table Grapes. *Chilean Journal of Agricultural Research* 71(3): 452-458.
- Nizamlioğlu NM, Nas S 2010. Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Derg* 5 (1): 25-35.
- Özden M, Vardin H 2009. Şanlıurfa Koşullarında Yetiştirilen Bazı Şaraplık Üzüm Çeşitlerinin Kalite ve Fitokimyasal Özellikleri. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Derg* 13(2):21-27.
- Piccardo D, Favre G, Pascual O, Canals JM, Zamora F, Gonzalez- Neves G 2019. Influence of the Use of Unripe Grapes to Reduce Ethanol Content and pH on the Color, Polyphenol and Polysaccharide Composition of Conventional and Hot Macerated Pinot Noir and Tannat Wines. *European Food Research and Technology* 245: 1321-1335.
- Rolle LF, Torchio S, Giacosa S, Rio Segade S 2015. Berry Density and Size as Factors Related to the Physicochemical Characteristics of Muscat Hamburg Table Grapes (*Vitis vinifera* L.). *Food Chem.* 173:105- 113.
- Sayman M, Akın A 2015. Razakı Üzüm Çeşidinde Farklı Seviyede Şarj (Ürün Yüğü) ve Hüyük Madde Uygulamalarının Verim ve Verim Unsurları Üzerine Etkileri. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Derg* 3(2): 1-8.
- Singleton VL, Rossi JA 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144-158.
- Tük 2020. Türkiye İstatistik Kurumu. Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. 2020 Yılı Verileri. (Alınma Tarihi: 12.04.2020).
- Yahia EM 2017. Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health, 1 and 2 Volumes, Edition 2. John Wiley & Sons, 1488 p.
- Yalçınkaya E 2016. Kuru Besni Üzümünde Bandırma Eriyiğinin (Potasa Çözeltisi) Aroma Profili Üzerine Etkileri. İnönü Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 60 sy.
- Yang J, Xiao YY 2013. Grape Phytochemicals and Associated Health Benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53: 1202-1225.
- Yılmaz E Dardeniz A 2009. Bazı Üzüm Çeşitlerindeki Salkım ve Sürgün Pozisyonunun Üzüm Verim ve Kalitesi ile Vejetatif Gelişime Etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Derg 4 (2):1-7.

## Residual Contact Toxic Effects of Spinosyn Insecticide, Spinetoram Against German Cockroach (*Blatella germanica*) Adults

Ferhat KÜÇÜKSARI<sup>1</sup>, Hasan TUNAZ<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>KSÜ, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Avşar Kampüsü, 46100 Onikişubat/ Kahramanmaraş

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-9301-0256>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-4942-6056>

✉: htunaz@ksu.edu.tr

### ABSTRACT

The study investigated the residual contact toxicity of spinetoram suspension, which is spinosyn (semi-synthetic) insecticide, against *Blatella germanica* (L.) adults on the surfaces of concrete, ceramic floor tile and parquet. On three different surfaces, *B. germanica* adults were exposed with spinetoram suspension at the rates of 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 25, 50, 75, 100 mg·m<sup>-2</sup> and mortality of *B. germanica* adults were recorded at the day of 1, 3, 5, 7 and 9. In all surface applications of spinetoram, exposure times and concentrations caused significant effect on mortality rates of *B. germanica* adults. Lower concentrations of spinetoram (2.5 and 5 mg·m<sup>-2</sup>) on the all-applied surfaces caused low mortality of adults of *B. germanica*. However, 75 and 100 mg·m<sup>-2</sup> concentrations caused 100% mortality of *B. germanica* adults after 5 day of exposure time. In general, while mortality rate of *B. germanica* adults increased with exposure time, 100% mortality was not achieved for the concentrations of spinetoram (7.5, 10, 15, 25 and 50 mg·m<sup>-2</sup>). There were significant differences in the efficacy of spinetoram concentrations against *B. germanica* adults on all three applied surfaces. At 100 mg·m<sup>-2</sup> concentration of spinetoram, mortality of *B. germanica* adults was higher on concrete surface than the other surfaces. However, other concentrations of spinetoram, mortality of adults was generally similar on all three surfaces. As a result, spinetoram has potential to control of house pest, *B. germanica*, and decreases using of dangerous conventional synthetic insecticides.

### Research Article

### Article History

Received : 15.09.2020

Accepted : 26.10.2020

### Keywords

Spinetoram

*Blatella germanica*

Residual contact toxicity

## Yarı Sentetik Spinosin Insektisidi Spinetoram' ın Alman Hamam Böceği (*Blatella Germanica* (L.)) Ergin Dönemine Karşı Rezidual Kontak Toksik Etkisi

### ÖZET

Mevcut çalışmada laboratuvar koşullarında yarı-sentetik spinosin insektisidi Spinetoram' ın solüsyon halinde üç farklı uygulama yüzeyinde (beton, fayans ve parke) Alman Hamam böceği 'nin ergin dönemine karşı kontak toksisitesi araştırılmıştır. Üç farklı yüzeyde *B. germanica* erginlerine karşı 1, 3, 5, 7, 9 gün süreyle Spinetoram' ın 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 25, 50, 75, 100 (mg aktif madde·m<sup>-2</sup>) konsantrasyonlarında biyolojik testler yapılmıştır. *B. germanica* erginlerinin ölüm oranları üzerinde spinetoram' ın tüm uygulama yüzeylerinde spinetoram konsantrasyonu ve maruz bırakma süresi önemli etkiye sahip olmuştur. Spinetoram' ın düşük konsantrasyonları (2.5 ve 5 mg·m<sup>-2</sup>) tüm uygulama yüzeylerinde *B. germanica* nimf ve erginlerini düşük oranlarda öldürmüştür. Diğer yandan Spinetoram' ın 75 ve 100 mg·m<sup>-2</sup> konsantrasyonları her üç uygulama yüzeyinde uygulamanın 5. gününde *B. germanica* erginlerinde %100 ölüme sebep olmuştur. Genel olarak, *B. germanica* erginlerinin ölüm oranı maruziyet süresi ile artarken, spinetoram konsantrasyonları için (7.5, 10, 15, 25 ve 50 mg·m<sup>-2</sup>)% 100 ölüm sağlanamamıştır. Uygulanan üç yüzeyin hepsinde *B. germanica* erginlerine karşı spinetoram konsantrasyonlarının etkililiğinin de önemli farklılıklar olmuştur. 100 mg / m<sup>2</sup> spinetoram konsantrasyonunda *B. germanica* erginlerinin ölüm oranı beton

### Araştırma Makalesi

### Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 15.09.2020

Kabul Tarihi : 26.10.2020

### Anahtar Kelimeler

Spinetoram

*Blatella germanica*

Rezidual kontak toksisite



yüzeyde diğer yüzeylere göre daha yüksek gerçekleşmiştir. Bununla birlikte, diğer spinetoram konsantrasyonlarda, erginlerin ölüm oranı genellikle üç yüzeyde de benzer olmuştur. Bu çalışmadan çıkan sonuç Spinetoram'ın ev ve diğer binalarda sorun olan *B.germanica* mücadelesinde kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu ve Spinetoram'ın bu zararlıya karşı kullanılan çevreye zararlı kimyasalların oranını azaltacağı düşünülebilir.

**To Cite :** Küçüksarı F, Tunaz H 2021. Residual Contact Toxic Effects of Spinosyn Insecticide, Spinetoram Against German Cockroach (*Blatella germanica*) adults. KSU J. Agric Nat 24 (4): 795-804. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.795321.

## INTRODUCTION

Cockroaches are widely distributed in the World (Demirsoy, 1990) and are found in hot and humid places and generally in places with common living areas such as houses, restaurants, bakeries, hotels. Besides causing harmful effect to people, they also contaminate food stuffs. They also transmit infectious diseases such as cholera, plague, childhood paralysis (Bitter and Williams, 1949; Öden, 1962; Burgess et al., 1973; Çetin et al., 1973). They also cause allergies in humans, as they carry pathogens (Waldvogel et al., 1999). In addition to continuing their life activities in this way, they are vectoring various diseases, especially by carrying a variety of pathogenic microorganisms on the countertops due to wandering around. Most food poisoning occurs when humans consume foodstuffs that cockroaches leave their saliva, feces and eggs. They infect bacteria and protozoans when they get stuck and then they get on the food. Therefore, they are harmful, medical and economical pests (Roberts, 1996). Synthetic pesticides are applied intensively for managements of pest insects in homes and in food-producing areas. Cockroaches are commonly controlled by synthetic insecticides (Rust et al., 1993). Long-term use of broad-spectrum synthetic insecticides is known to be a very harmful effect on the environment, human health and beneficial organisms (Pimentel et al., 1992; Mansouri et al., 2004). However, cockroaches have improved resistance to a wide range of insecticides (Rust and Reiersen, 1991; Dong et al., 1998; Holbrook et al., 1999; Zhang et al., 2007). In addition, the cost of production required to develop a new insecticide is high (Thacker, 1999). Therefore, as German cockroaches threaten human and animal health, damage to natural biological equilibrium, resistance to insecticides, it is necessary to develop alternative control methods against cockroaches in order to minimize their damage or to reduce their populations. In recent years, increasing consciousness of people towards the environment and natural pesticides have been searched for alternatives that have less impact on the environment and non-target organism. It can be also broken down more quickly and easily than synthetic pesticides which is negative effects on human health (Arnason et al., 1989; Feng and Isman, 1995; Wewetzer, 1995; Hedin et al., 1997;

Momen et al., 2004).

The semi-synthetic spinosin insecticide spinetoram that are both protective and contact active has lower toxicity to the environment, mammals and birds. Spinetoram needs to be investigated in the control of German cockroaches for the reason that it is not done up to now with the spinetoram against German cockroaches. Spinosad, derived from the fermentation product of the *Saccharopolyspora spinosa* bacterium from the Actinomycete class, naturally found in the soil, is a commercially available insecticide (Mertz & Yao 1990). Spinosad is active on the insect nervous system in an uncertain location on nicotinic acetylcholine receptors, and it is contact and stomach effects (Dripps et al., 2011). Spinosad has a low toxicity to mammals (acute oral oral LD50 > 5000 mg / kg) and a rapid decrease in activity when exposed to sunlight (Thompson et al., 2000; Dow AgroSciences, 2006). Spinetoram is a new member of semi-synthetic spinosin insecticides. Spinetoram is a low-risk insecticide (DeAmicis et al., 2011; Dow AgroSciences, 2006; EPA, 2009; FAO, 2010) resulting from the chemical modification of Spinosine (spinosin L and J) resulting from the fermentation of the *Saccharopolyspora spinosa* bacterium from the Actinomycete class. Spinetoram is a new spinosin insecticide with faster and higher potency compared to spinosad (Dripps et al., 2008; Sparks et al., 2008). Spinetoram is a broad-spectrum insecticide against many pest insects including Lepidoptera, Thysanoptera and Diptera in many plants. Low doses of spinetoram (10 µg / ml) show low toxicity against the predators such as Chrysopidae and Hemiptera (Copping et al., 2001; DeAmicis et al., 1997; Gamal et al., 2007; Kirst et al., 1992; Mahmoud et al., 2007; Williams et al., 2003). This active substance has also low toxicity to birds and mammals (Bret et al., 1997). It has been shown by the US Environmental Protection Agency as one of the insecticides with low toxicity to the environment (Dow AgroSciences, 2008). The spinetoram acts quickly when taken by the stomach and stops feeding within 24 hours and death occurs. When the mechanism of action of the spinetoram is examined, it is effective on nicotinic acetylcholine and gamma amino butyric acid (GABA) receptors (Williams et al., 2003).

Because of the low negative effect of the semisynthetic spinosin insecticide spinetoram on the environment and lack of studies on German cockroaches with this insecticide, this study investigates to determine the residual contact toxicity of spinetoram against adult stages of German cockroaches using spraying technique on three different application surfaces (concrete, ceramic floor tile and parquet).

## MATERIALS and METHODS

### Insect

*Blattella germanica* colonies were grown in plastic cups (60 liters) and kept at room temperature. The habitat of *B. germanica* (L.) was provided with egg containers placed in plastic boxes. We supplied water in glass tubes with cotton stoppers and dry dog food to the insects. For biological tests, the adult stages of *B. germanica* (L.) were used.

### Surfaces Used in Biological Tests

#### Parquet Surface

Laminated parquet, which is produced in accordance with HDR and 717 E-1 standards, is 8 × 195 × 1200 mm in dimensions and is cut to dimensions of 100 × 100 mm and dimensioned for use in the tests.

#### Tile Surface

The tile surfaces used in the study are 150 × 150 × 5.5 mm in size, according to TS202 standards, from the mixture of clay, kaolin, quartz, feldspar and limestone materials and they are reduced to 100 × 100 mm dimensions.

#### Concrete Surface

Concrete surface used in biological tests The mortar obtained from a mixture of 200 g cement + 50 ml water was poured into plastic boxes (100 × 100 × 60 mm) and then the plastic boxes which were poured with mortar were left to dry to form the concrete surface.

### Pressure Adjustable Machine for Surface Spraying

The Airbrush compressor is used in surface spraying for biological tests. HSENG Airbrush AS18 (Ningbo Haosheng Pneumatic Machinery Co., Zhejiang China). On the pressure gauge, pressure regulator, air filter and airbrush (paint gun), start at 30 psi, adjustable pressure, stop at 60 psi (available special pressure). Airbrush compressor, power: 1/5 HP, voltage: 220-240 V, frequency: 50 HZ, size: 25.5 × 13.5 × 17 cm, net weight: 3.6 kg. Paint gun, nozzle: 0.2 mm, working pressure: 15 - 50 psi, reservoir capacity: 2 ml.

### Spinetoram Surface Applications in Laboratory Conditions against German cockroach

Biological tests were conducted in a completely dark

climate room of 25 ± 1 °C temperature and 65 ± 5% relative humidity. In the biological tests, adult German cockroach was used, spinetoram, commercial preparation Delegate 250 WG, was used on concrete, tile, parquet surfaces in plastic boxes. In the biological tests, the control and experiments were conducted in 5 replications and 10 insects were used for each replicate. The amount of active substance corresponding to the concentrations of 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 25, 50, 75, 100 mg/m<sup>2</sup> (mg active substance /m<sup>2</sup> surface area) was weighed with a precision scale (0.0001 g). Ten ml of pure water was added to the glass beaker (50 ml) with glass cylinder (10 ml) and the weighed amount of insecticide was transferred into a glass beaker and mixed with magnetic stirrer for 10 min. One ml of spinetoram was used for each repetition of each concentration application in surface spraying. In each concentration application, the spinetoram suspension, which was used for each concentration, was sprayed homogeneously on the application surfaces with the spraying pump by putting the micropipette (1000 µl) into the reservoir of the pressurized spraying pump. After the surfaces were dried and holes were opened to provide air inlet and outlet to the lids of the plastic box, 10 adult insects were placed in plastic boxes for each replication. Experiments were kept in a dark climate room of 25 ± 1 °C temperature and 65 ± 5% relative humidity. In the experiment daily motility rates were recorded. Compared to control insects, insects with no antennas and legs movements were considered dead (Toews et al., 2003).

### Evaluation of Data and Statistical Analysis

The mortality rates (%) of *B. germanica* were calculated for each surface application and subjected to Arcsine transformations and bi-directional (factors, exposure duration and application concentration) variance analysis (ANOVA) (Proc GLM; SAS Ins., 2009) was applied. The differences between the means were determined according to the 5% significance level LSD (SAS Ins., 2009).

## RESULTS

### Mortality Rates of *Blattella germanica* Adults Exposed to Different Concentrations of Spinetoram on Concrete Surface

The mortality rate (%) of *B. germanica* exposed to different concentrations of spinetoram on the concrete surface for 9 days is given in Table 1. Significant differences were found among mortality rates of all concentrations of spinetoram in all exposures (Table 1, P < 0.0001). There was no statistically significant difference between the mortality rates of the controls and low concentrations of spinetoram (2.5, 5 mg/m<sup>2</sup>) (Table 1) at day 1 and the lowest mortality rates were obtained at day 1 at all the concentrations of

spinetoram. Mortality rates for 75 and 100 mg/m<sup>2</sup> concentrations on the 7th and 9th day were statistically similar. Mortality rates for spinetoram 75 and 100 mg/m<sup>2</sup> concentrations were significantly higher than those of spinetoram 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 25, 50 mg/m<sup>2</sup> concentrations at the exposure times (days 3, 5, 7 and 9) except first day of exposure time. Overall, there was a significant increase in mortality rates at subsequent concentrations of 25 mg/m<sup>2</sup> of spinetoram in all other exposure times except day 1. Although the slowing of movement in insects was observed from day 3, 100% mortality of *B. germanica* adults was obtained at day 7 with concentrations of 75 and 100 mg/m<sup>2</sup>. Tested all the concentrations of spinetoram caused very low mortality of the *B. germanica* adults after one day exposure. On the other hand, at the end of 7th and 9th day, high concentrations of spinetoram (50, 75, 100 mg/m<sup>2</sup>) resulted in 100% and nearly 100% of deaths of the adults.

Horizontally, there was a statistically significant difference in the mortality rates of *B. germanica* adults exposed to all concentrations of spinetoram at the concrete surface (Table 1,  $P < 0.0001$ ). The highest mortality rate at all concentrations was obtained on day 9 while the lowest mortality was obtained on day 1 (Table 1). The mortality rates at 3, 5, 7 and 9 days at all concentrations were significantly higher than those obtained at day 1. When the table is examined horizontally, it is found that the mortality rates at day 9 are significantly higher than those at day 7 at 2.5, 5 and 25 mg/m<sup>2</sup> concentrations (Table 1). In general, the mortality rates at 9th day and 7th day in the concentrations of spinetoram 75 and 100 mg/m<sup>2</sup> were statistically similar while mortality rates at 9th day in the concentrations 2.5 and 5 mg/m<sup>2</sup> were higher than at 7th day (Table 1).

#### **Mortality Rates of *Blatella germanica* Adults Exposed to Different Concentrations of Spinetoram on Tile Surface**

The mortality rate (%) of *B. germanica* exposed for 9 days to different concentrations of spinetoram on the tile surface is given in Table 2. Statistically significant differences between mortality rates for all concentrations of spinetoram in a majority of exposures, if not all, when examined vertically (Table 2,  $P < 0.0001$ ). In general, an increase in the mortality rate was observed with increasing concentrations of spinetoram during all exposure periods (Table 2).

Horizontally, there was a statistically significant difference in the mortality rates of *B. germanica* adults exposed to all concentrations of spinetoram on the tile surface (Table 2,  $P < 0.0001$ ). At all concentrations, the highest mortality rate was obtained on day 9 while the lowest mortality rate was obtained on day 1 (Table 2). As a result, the mortality rates of the adults of *B. germanica* at 3rd, 5th, 7th, and 9th day were higher

than the mortality rates in 1st day at all concentrations except 7.5 and 50 mg/m<sup>2</sup>.

#### **Mortality Rates of *Blatella germanica* Adults Exposed to Different Concentrations of Spinetoram on Parquet Surface**

The mortality rate (%) of the adults of *B. germanica* exposed to different concentrations of spinetoram on the parquet surface for 9 days is given in Table 3. Statistically significant differences were found between mortality rates for all concentrations of spinetoram in all exposure times (Table 3,  $P < 0.0001$ ). The lowest mortality rates of the adults of *B. germanica* were obtained on day 1 at all concentrations applied. On day 9, concentrations of 75 and 100 mg/m<sup>2</sup> were statistically similar. Mortality rates at concentrations of 75 and 100 mg/m<sup>2</sup> at day 9 were statistically significantly higher than the mortality rates at concentrations of 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 25 and 50 mg/m<sup>2</sup>.

When examined Table 3. horizontally, there was a statistically significant difference in the mortality rates of *B. germanica* adults from all concentrations of spinetoram on the parquet surface (Table 3,  $P < 0.0001$ ). The highest mortality rate at all concentrations was obtained on day 9 while the lowest mortality was obtained on day 1 (Table 3). Adult mortality rates at all concentrations other than 50 and 75 mg/m<sup>2</sup> on day 9 were statistically similar to adult mortality on day 7.

#### **The Effect of the Applied Surface on *Blatella germanica* Mortality**

Horizontally, it was observed that there was no statistically significant difference between the mortality rates of *B. germanica* adults on all application surfaces at all concentrations except 75 and 100 mg/m<sup>2</sup> on the 3rd day. In all concentrations (2.5, 5, 10, 15, 25 and, 50 mg/m<sup>2</sup>) of spinetoram except 75 and 100 mg/m<sup>2</sup>, the mortality rates on concrete, tile and parquet surfaces were found to be statistically similar (Table 4). In general, it was observed that spinetoram was more effective against *B. germanica* adults on concrete surface and especially at high concentrations (75 and 100 mg/m<sup>2</sup>) than on tile and parquet surfaces.

Mortality rates on the 5th day of *B. germanica* adults exposed to different concentrations of spinetoram on concrete, tile and parquet surfaces are given in Table 5. It was observed that there was no statistically significant difference between the mortality rates of *B. germanica* adults on all application surfaces at all concentrations except 100 mg/m<sup>2</sup> on the 5th day. It was observed that Spinetoram was more effective against *B. germanica* adults on concrete surface than on tile and parquet surfaces at concentration of 100 mg/m<sup>2</sup>.

**Table 1. Mortality rate of *Blatella germanica* adults exposed to different concentrations of spinetoram on concrete surface for 9 days**

*Çizelge 1. Beton yüzey üzerinde Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarına 9 gün süreyle maruz bırakılan Blatella germanica erginlerinin ölüm oranı*

Concentration (mg / m <sup>2</sup> )	Mortality rate (%) * ± S.E					F and P value	LSD value
	1.day	3.day	5.day	7.day	9.day		
2.5	0 ± 0 Cd	8 ± 2 EFc	16 ± 2.44 DEc	32 ± 2 Eb	56 ± 2.44 Da	F <sub>4,20</sub> = 81.45; P < 0.0001	6.0466
5	2 ± 2 Cd	12 ± 2 DEFc	22 ± 2 Dc	40 ± 3.16 DEB	60 ± 3.16 CDa	F <sub>4,20</sub> = 65.08; P < 0.0001	6.5905
7.5	4 ± 2.44 BCc	16 ± 2.44 CDEb	30 ± 3.16 CDb	52 ± 3.74 CDEa	60 ± 3.16 CDa	F <sub>4,20</sub> = 3649; P < 0.0001	7.9713
10	4 ± 2.44 BCc	28 ± 3.74 BCDb	48 ± 2 BCa	54 ± 2.44 CDa	66 ± 4 CDa	F <sub>4,20</sub> = 47.70; P < 0.0001	7.8893
15	8 ± 3.74 BCc	30 ± 4.47 BCDb	50 ± 3.16 BCab	60 ± 3.16 CDa	70 ± 3.16 CDa	F <sub>4,20</sub> = 31.94; P < 0.0001	9.1284
25	8 ± 2 BCd	32 ± 6.63 BCc	58 ± 3.74 Bb	66 ± 2.44 Cab	80 ± 4.47 BCa	F <sub>4,20</sub> = 36.63; P < 0.0001	9.4334
50	12 ± 2 ABd	38 ± 2 Bc	68 ± 3.74 Bb	88 ± 3.74 Ba	92 ± 3.74 ABa	F <sub>4,20</sub> = 45.56; P < 0.0001	10.406
75	16 ± 4 ABd	74 ± 4 Ac	90 ± 4.47 Ab	100 ± 0 Aa	100 ± 0 Aa	F <sub>4,20</sub> = 75.28; P < 0.0001	9.4972
100	28 ± 2 Ac	72 ± 2 Ab	98 ± 2 Aa	100 ± 0 Aa	100 ± 0 Aa	F <sub>4,20</sub> = 193.58; P < 0.0001	5.4598
Control	0 ± 0 Ca	4 ± 2.44 Fa	6 ± 2.44 Ea	8 ± 3.74 Fa	8 ± 3.74 Ea	F <sub>4,20</sub> = 1.45; P = 0.2540	-
F and P value	F <sub>9,40</sub> = 9.73 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 34.61 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 56.57 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 85.01 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 59.06 P < 0.0001		
LSD value	9.4962	8.2654	8.8151	7.5522	8.4936		

\*Two-way analysis of variance (ANAVO) was applied to the data and the differences between the averages were determined according to LSD test at 5% significance level. Different upper-case letters in the same column and different lower-case letters in the same line are statistically different from each other.

**Table 2. Mortality rate of *Blatella germanica* adults exposed to different concentrations of spinetoram on tile surface for 9 days**

*Çizelge 2. Fayans yüzey üzerinde Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarına 9 gün süreyle maruz bırakılan Blatella germanica erginlerinin ölüm oranı*

Concentration (mg/m <sup>2</sup> )	Mortality rate (%)* ± S.E					F and P value	LSD value
	1.day	3.day	5.day	7.day	9.day		
2.5	2 ± 2 DEd	12 ± 2 Ec	20 ± 0 Ebc	32 ± 3.74 Fb	50 ± 3.16 Ea	F <sub>4,20</sub> = 47.95; P < 0.0001	6.6105
5	4 ± 2.44 CDEd	14 ± 2.44 DEc	32 ± 3.74 DEb	46 ± 2.44 EFab	52 ± 2 Ea	F <sub>4,20</sub> = 38.39; P < 0.0001	7.6046
7.5	10 ± 3.16 BCDc	20 ± 3.16 CDEc	38 ± 3.74 CDb	54 ± 2.44 DEab	60 ± 3.16 DEa	F <sub>4,20</sub> = 29.60; P < 0.0001	7.8154
10	12 ± 2 ABCd	28 ± 3.74 BCDc	46 ± 4 BCDb	62 ± 2 CDEa	72 ± 3.74 CDEa	F <sub>4,20</sub> = 56.71; P < 0.0001	6.0195
15	14 ± 2.44 ABd	30 ± 3.16 BCDc	50 ± 3.16 BCDb	64 ± 4 CDEb	80 ± 3.16 BCDA	F <sub>4,20</sub> = 60.87; P < 0.0001	6.2428
25	18 ± 3.74 ABe	36 ± 4 BCd	54 ± 2.44 BCc	70 ± 3.16 BCDb	86 ± 2.44 BCa	F <sub>4,20</sub> = 61.63; P < 0.0001	6.3904
50	18 ± 3.74 ABd	36 ± 5.09 BCcd	60 ± 3.16 Bbc	74 ± 4 BCb	90 ± 4.47 BAa	F <sub>4,20</sub> = 30.68; P < 0.0001	10.558
75	22 ± 3.74 ABe	40 ± 3.16 BAAd	60 ± 3.16 Bc	82 ± 3.74 Bb	100 ± 0 Aa	F <sub>4,20</sub> = 131.73; P < 0.0001	6.2301
100	28 ± 3.74 Ad	56 ± 4 Ac	84 ± 4 Ab	100 ± 0 Aa	100 ± 0 Aa	F <sub>4,20</sub> = 162.70; P < 0.0001	5.9302
Control	0 ± 0 Eb	2 ± 2 Fab	5 ± 2.44 Fab	12 ± 3.74 Ga	12 ± 3.74 Fa	F <sub>4,20</sub> = 4.14; P = 0.0132	11.88
F and P value	F <sub>9,40</sub> = 12.91 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 26.06 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 40.34 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 62.32 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 58.68 P < 0.0001		
LSD value	8.5161	6.9917	6.8479	6.9156	8.2441		

\*Two-way analysis of variance (ANAVO) was applied to the data and the differences between the averages were determined according to LSD test at 5% significance level. Different upper-case letters in the same column and different lower-case letters in the same line are statistically different from each other.



**Table 3. Mortality rate of *Blatella germanica* adults exposed to different concentrations of spinetoram on parquet surface for 9 days**

*Çizelge 3. Parke yüzey üzerinde Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarına 9 gün süreyle maruz bırakılan Blatella germanica erginlerinin ölüm oranı*

Concentration (mg / m <sup>2</sup> )	Mortality rate (%)* ± S.E					F and P value	LSD value
	1.day	3.day	5.day	7.day	9.day		
2.5	4 ± 2.44 CDd	10 ± 3.16 EFcd	18 ± 2 Dbc	28 ± 3.74 Fgab	46 ± 4 Ea	F <sub>4,20</sub> = 17.43; P < 0.0001	9.6312
5	4 ± 2.44 CDd	14 ± 2.44 DEc	26 ± 2.44 CDbc	40 ± 3.16 EFab	48 ± 2 Ea	F <sub>4,20</sub> = 33.26; P < 0.0001	7.4412
7.5	8 ± 3.74 BCDd	16 ± 2.44 DEcd	32 ± 3.74 CDbc	46 ± 2.44 DEab	56 ± 2.44 DEa	F <sub>4,20</sub> = 24.65; P < 0.0001	8.6038
10	12 ± 3.74 ABCDc	24 ± 2.44 CDc	44 ± 4 BCb	58 ± 3.74 CDEab	72 ± 2 CDa	F <sub>4,20</sub> = 33.31; P < 0.0001	8.1686
15	16 ± 5.09 ABCDd	30 ± 3.16 BCDcd	44 ± 2.44 BCbc	62 ± 3.74 CDab	78 ± 3.74 CBa	F <sub>4,20</sub> = 25.33; P < 0.0001	9.4487
25	18 ± 3.74 ABCd	36 ± 2.44 ABCc	54 ± 2.44 Bbc	68 ± 3.74 Cab	82 ± 3.74 CBa	F <sub>4,20</sub> = 45.35; P < 0.0001	6.83
50	24 ± 2.44 ABd	40 ± 3.16 ABCcd	56 ± 5.09 Bbc	70 ± 3.16 Cb	88 ± 3.74 Ba	F <sub>4,20</sub> = 31.70; P < 0.0001	8.6062
75	26 ± 5.09 ABd	44 ± 2.44 ABc	60 ± 4.47 ABc	86 ± 2.44 Bb	100 ± 0 Aa	F <sub>4,20</sub> = 108.53; P < 0.0001	6.6591
100	30 ± 3.16 Ad	54 ± 4 Ac	76 ± 4 Ab	98 ± 2 Aa	100 ± 0 Aa	F <sub>4,20</sub> = 61.90; P < 0.0001	8.8563
Control	2 ± 2 Db	4 ± 2.44 Fab	6 ± 2.44 Eab	14 ± 2.44 Ga	14 ± 2.44 Fa	F <sub>4,20</sub> = 5.48; P = 0.0038	10.414
F and P value	F <sub>9,40</sub> = 6.70 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 22.88 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 31.95 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 65.01 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 65.25 P < 0.0001		
LSD value	11.681	7.4092	7.2923	6.517	7.3919		

\*Two-way analysis of variance (ANAVO) was applied to the data and the differences between the averages were determined according to LSD test at 5% significance level. Different upper-case letters in the same column and different lower-case letters in the same line are statistically different from each other

**Table 4. Mortality rates of *Blatella germanica* adults on day 3 exposed to different concentrations of spinetoram on different surfaces**

*Çizelge 4. Farklı yüzeyler üzerinde Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan Blatella germanica erginlerinin 3. gündeki ölüm oranları*

Concentration (mg / m <sup>2</sup> )	Mortality rate (%)* ± S.E			F and P value	LSD value
	Concrete surface	Tiles surface	Parquet surface		
2.5	8 ± 2 FEa	12 ± 2 Ea	10 ± 3.16 EFa	F <sub>2,12</sub> = 0.63; P = 0.5509	-
5	12 ± 2 FEDa	14 ± 2.44 EDa	14 ± 2.44 EDa	F <sub>2,12</sub> = 0.26; P = 0.7828	-
7.5	16 ± 2.44 CEDa	20 ± 3.16 ECDa	16 ± 2.44 EDa	F <sub>2,12</sub> = 0.65; P = 0.5392	-
10	28 ± 3.74 CBDa	28 ± 3.74 BCDa	24 ± 2.44 DCa	F <sub>2,12</sub> = 0.46; P = 0.6439	-
15	30 ± 4.47 CBDa	30 ± 3.16 BCDa	30 ± 3.16 BDCa	F <sub>2,12</sub> = 0.00; P = 0.9990	-
25	32 ± 6.63 CBa	36 ± 4 BCa	36 ± 2.44 BACa	F <sub>2,12</sub> = 0.32; P = 0.7288	-
50	38 ± 2 Ba	36 ± 5.09 BCa	40 ± 3.16 BACa	F <sub>2,12</sub> = 0.33; P = 0.7273	-
75	74 ± 4 Aa	40 ± 3.16 BAb	44 ± 2.44 BAb	F <sub>2,12</sub> = 31.18; P < 0.0001	6.1556
100	72 ± 2 Aa	56 ± 4 Ab	54 ± 4 Ab	F <sub>2,12</sub> = 8.34; P = 0.0054	-
Control	4 ± 2.44 Fa	2 ± 2 Fa	4 ± 2.44 Fa	F <sub>2,12</sub> = 0.25; P = 0.7828	-
F and P value	F <sub>9,40</sub> = 34.61 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 26.06 P < 0.0001	F <sub>9,40</sub> = 22.88 P < 0.0001		
LSD value	8.2654	6.9917	7.4092		

\*Two-way analysis of variance (ANAVO) was applied to the data and the differences between the averages were determined according to LSD test at 5% significance level. Different upper-case letters in the same column and different lower-case letters in the same line are statistically different from each other.

**Table 5. Mortality rates of *Blatella germanica* adults on day 5 exposed to different concentrations of spinetoram on different surfaces**

*Çizelge 5. Farklı yüzeyler üzerinde Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan Blatella germanica erginlerinin 5. gündeki ölüm oranları*

Concentration (mg / m <sup>2</sup> )	Mortality rate (%)* ± S.E			F and P value	LSD value
	Concrete surface	Tiles surface	Parquet surface		
2.5	16 ± 2.44 <sup>EDa</sup>	20 ± 0 <sup>Ea</sup>	18 ± 2 <sup>Da</sup>	F <sub>2,12</sub> = 1.20; P = 0.3349	-
5	22 ± 2 <sup>Da</sup>	32 ± 3.74 <sup>EDa</sup>	26 ± 2.44 <sup>DCa</sup>	F <sub>2,12</sub> = 3.11; P = 0.816	-
7.5	30 ± 3.16 <sup>CDa</sup>	38 ± 3.74 <sup>CDa</sup>	32 ± 3.74 <sup>DCa</sup>	F <sub>2,12</sub> = 1.35; P = 0.2964	-
10	48 ± 2 <sup>CBa</sup>	46 ± 4 <sup>CBDa</sup>	44 ± 4 <sup>BCa</sup>	F <sub>2,12</sub> = 0.34; P = 0.7169	-
15	50 ± 3.16 <sup>CBa</sup>	50 ± 3.16 <sup>CBDa</sup>	44 ± 2.44 <sup>BCa</sup>	F <sub>2,12</sub> = 1.38; P = 0.2877	-
25	58 ± 3.74 <sup>Ba</sup>	54 ± 2.44 <sup>CBa</sup>	54 ± 2.44 <sup>Ba</sup>	F <sub>2,12</sub> = 0.63; P = 0.5495	-
50	68 ± 3.74 <sup>Ba</sup>	60 ± 3.16 <sup>Ba</sup>	56 ± 5.09 <sup>Ba</sup>	F <sub>2,12</sub> = 2.27; P = 0.1461	-
75	90 ± 4.47 <sup>Aa</sup>	60 ± 3.16 <sup>Ba</sup>	60 ± 4.47 <sup>BAa</sup>	F <sub>2,12</sub> = 13.20; P = 0.0009	12.167
100	98 ± 2 <sup>Aa</sup>	84 ± 4 <sup>Ab</sup>	76 ± 4 <sup>Ab</sup>	F <sub>2,12</sub> = 16.81; P = 0.0003	9.9217
Control	6 ± 2.44 <sup>Ea</sup>	5 ± 2.44 <sup>Fa</sup>	6 ± 2.44 <sup>Ea</sup>	F <sub>2,12</sub> = 0.00; P = 1.0000	-
F ve P value	F <sub>9,40</sub> = 56.57 P < .0001	F <sub>9,40</sub> = 40.34 P < .0001	F <sub>9,40</sub> = 31.95 P < .0001		
LSD value	8.8151	6.8479	7.2923		

\*Two-way analysis of variance (ANAVO) was applied to the data and the differences between the averages were determined according to LSD test at 5% significance level. Different upper-case letters in the same column and different lower-case letters in the same line are statistically different from each other

## DISCUSSION

This laboratory study has investigated residual contact toxicity for spinetoram to adults of *B. germanica* on three different application surfaces (concrete, tiles and parquet). Different concentrations of spinetoram and exposure times have had significant impact on the mortality rates of adults of *B. germanica*. In general, at the end of day 1, all the tested concentrations of spinetoram showed that adults of *B. germanica* hardly ever died, and that at all concentrations the mortality of adults of *B. germanica* increased significantly after day 1. Similar to these results, Çelik (2013) investigated residual contact toxicity of spinetoram against *Acanthoscelides obtectus* adults on solution concrete, tile and parquet surface in solution and determined that the duration and concentration of spinetoram as a result of the study had a significant effect on the insect mortality rate. Rişvanlı (2015) also investigated the residual contact toxicity of spinetoram against *P. americana* adults on concrete, tile and parquet surface and it was determined that spinetoram had a significant effect on the mortality rate of *P. americana* adults. Low concentrations of Spinetoram (0.001 and 0.002 mg/cm<sup>2</sup>) on all application surfaces caused a low mortality rate in *P. americana* adults. In addition, concentrations of Spinetoram 0.005 mg/cm<sup>2</sup> and above on all application surfaces caused 100% mortality in *P. americana* adults. All of these results indicate that the effectiveness of spinetoram may vary depending on the insect species tested and application concentration. In addition, in the present study, as in these studies, it was found that spinetoram exposure time and concentration had a significant effect on mortality. In the present study, it was seen that with the tested low concentrations of spinetoram on all application surfaces (concrete, tiles and parquet) caused very low mortality of *B. germanica* adults, but the majority of them died especially at high concentrations (75 and 100 mg/m<sup>2</sup>). In general, low concentrations of Spinetoram (2.5, 5, 7.5, 10, 15, 25 and 50 mg/m<sup>2</sup>) on all application surfaces caused very low mortality of *B. germanica* adults. All these results showed that spinetoram concentrations of 75 mg/m<sup>2</sup> and above could successfully control *B. germanica* adults on all application surfaces.

The application surface of spinetoram had a significant effect on the mortality rates of *B. germanica* adults. The efficacy of spinetoram on application surfaces against *B. germanica* adults showed significant differences in application concentrations. According to the mortality rates on the third and 5th days, the effectiveness of spinetoram against *B. germanica* adults was found to be the same in lower concentrations on concrete, tile and parquet surfaces. However, it has been determined that the effectiveness of spinetoram against *B. germanica* adults is

significantly higher on the concrete surfaces at higher (75 and 100 mg/m<sup>2</sup>) concentrations than the tile and parquet surfaces. Similarly, several studies have shown that the application surface, the insect species tested and the insecticide formulation against the stored product pests have significant effects on different contact and residual insecticides (Williams et al., 1983; Jain and Yadav, 1989; Samson and Hall, 1989; Arthur, 1997 and 2007). In addition, Toews et al. (2003) reported that the effect of spinosad against some stored grain pests, especially on concrete surfaces, was higher than that of galvanized steel, waxed and wax-free tile surfaces. Similar to these results, in the present study, it was found that spinetoram had higher activity against *B. germanica* adults on the surface of the concrete at higher concentrations than the tiles and parquet surfaces. This difference is thought to be due to the insect species tested, the formulation of the insecticides or the active substance tested. It can also be said that differences in the physical structure of concrete, tile and parquet surfaces cause differences in the effectiveness of spinetoram. In many studies (Chadwick, 1985; Hodges and Dales, 1991; Hodges, 1993), the residual activity of insecticides is higher on non-porous surfaces (glass, iron, ceramic tiles, etc.) than porous surfaces (such as concrete, burlap and mud).

As a result, concentrations of spinetoram solution 75 mg/m<sup>2</sup> and above showed high residual toxicity against *B. germanica* adults on all application surfaces (concrete, tiles and parquet) under laboratory conditions. Based on the data obtained, it is thought that the solution application of spinetoram can be used for the controlling of *B. germanica*, which is a problem in home and other buildings, and may be a potential alternative to synthetic insecticides. However, in order for spinetoram to be used commercially in the control of *B. germanica*, it is necessary to investigate the insecticide properties of spinetoram on real habitats of German cockroaches beside the laboratory and to investigate the applicability of spinetoram under natural conditions and to determine long-term residual contact toxicity.

## ACKNOWLEDGMENT

This work is part of the first author's master thesis.

## Author Contributions

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

## Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

- AgroSciences D 2006. Spinetoram technical bulletin. Dow AgroSciences.
- AgroSciences, D 2008. Spinetoram Technical Bulletin, Dow AgroSciences 1 - 6.
- Arnason JT, Philogene BJR, Morand P 1989. Insecticides of plant origin. ACS Symp Ser. No 387. *American Chemical Society*, Washington, Dc, USA, 213 p.
- Arthur FH 1997. Differential effectiveness of deltamethrin dust on plywood, concrete and tile surfaces against three stored-product beetles. *J Stored Prod Res* 33: 167-173.
- Arthur FH 2007. Efficacy of chlorfenapyr against *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults exposed on concrete, vinyl tile, and plywood surfaces. *J Stored Prod Res* 44 (2): 145-151.
- Bitter ZS, Williams OB 1949. Enteric organisms from the American Cockroach. *J Infect Dis* 85:87-89.
- Bret BL, Larson LL, Schoonover JR, Sparks TC, Thompson GD 1997. Biological Properties of Spinosad. *Down to Earth* 52 (1): 6 -13.
- Burgess NRH, Mc Dermott SN, Whiting A 1973. Aerobic bacteria occurring in the hind-gut of the cockroach, *B. Orientalis*. *Epidemiol Infect* 71(1): 1-8.
- Chadwick PR 1985. Surfaces and other factors modifying the effectiveness of pyrethroids against insects in public health. *J Pestic Sci* 16(4): 383-391.
- Copping LG, Menn JJ 2001. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Manag Sci* 56(8): 651-676.
- Çelik A 2013. Yarı-sentetik Spinosin insektisidi spinetoram' ın fasulye tohum böceği (*Acanthoscelides obtectus* (Say.))'e karşı residual kontak toksisitesinin belirlenmesi. MSc, Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Kahramanmaraş, Turkey.
- Çetin ET, Ang Ö, Töreci K 1973. *Tıbbi Parazitoloji*. İstanbul 13:504.
- DeAmicis C, Edwards NS, Giles MB, Harris GH, Hewitson P et al. 2011. Comparison of preparative reversed phase liquid chromatography and countercurrent chromatography for the kilogram scale purification of crude spinetoram insecticide. *J Chromatogr A* 1218(36): 6122-6127.
- DeAmicis JE, Dripps CV, Hatton CJ, Karr LL 1997. Physical and Biological Properties of the Spinosyns: Novel Macrolide Pest-Control Agents from Fermentation. Pages 144-154. In: Hedin, Hollingworth, Masler, Miyamoto. *Phytochemicals for Pest Control*, Symposium Series 658.
- Demirsoy A 1990. Türkiye Blattodea Faunasının Tesbiti ve Taksonomik İncelenmesi. Seri : 8, Bölüm: 4, No: 13, Tübitak, 80. s.
- Dong K, Valles RM, Scharf ME, Zeichner B, Bennet GW 1998. The Knockdown resistance (*kdr*) mutation in Pyrethroid-Resistant German cockroaches. *Pestic Biochem Phys* 60(3): 195-204.
- Dripps JE, Olson B, Sparks T, Crouse G 2008. Spinetoram: how artificial intelligence combined natural fermentation with synthetic chemistry to produce a new spinosyn insecticide. *Plant Health Progress*. <http://dx.doi.org/10.1094/PHP-2008-0822-01-PS>.
- EPA 2009. United States Environmental Protection Agency. <http://www.epa.gov/>
- FAO 2010. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org>
- Feng R, Isman MB 1995. Selection for resistance to Azadirachtin in the green peach aphid, *Myzus persicae*. *Experientia* 51(8): 831-833.
- Gamal A, El-kady El Sharabasy HM, Mahmoud MF, Bahgat IM 2007. Toxicity of Two Potential Bio-Insecticides Against Moveable Stages of *Tetranychus urticae* Koch. *J Appl Sci Res* 3(11): 1315-1319.
- Hedin P A, Hollingworth RM, Masler EP, Miyamoto J, Thompson DG 1997. Phytochemicals for pest control, ACS Symp Ser. No 658. *American chemical society*, Washington, Dc, USA, 372 p.
- Hodges RJ, Dales MJ 1991. Report on an investigation of insecticide persistence on grain store surfaces in Ghana. 3 April-10 May 1991, NRI Report 26 p.
- Hodges RJ 1993. The relative efficacy of contact insecticide sprayed onto store wall surfaces in Mali. West Africa NRI Report R2027, 9 p.
- Holbrook G L, Roebuck J, Moore CB, Schal C 1999. Prevalence and Magnitude of insecticide resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). In “ *Proceedings of the 3 rd International Conference of Urban Pests* “ (W. H. Robinson, F. Rettich, and G. W. Rambo, Eds.), pp. 141-145. Graficke Zavody Hronov, Prague, Czech Republic.
- Jain S, Yadav TD 1989. Persistence of deltamethrin, etrimfos and malathion on different storage surfaces. *Pestic Sci* 23 (11): 21-24.
- Kirst HA, Michel KH, Mynderse JS, Chio EH, Yao RC et al. 1992. Discovery, isolation, and structure elucidation of a family of structurally unique fermentation-derived tetracyclic macrolides. In: *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals III*. Chapter 20, ACS Symposium Series, Vol. 504, pp 214-225.
- Mahmoud MF, Osman MAM 2007. Relative toxicity of some bio-rational insecticides to second instar larvae and adults of onion thrips (*Thrips tabaci* Lind.) and their predator *Orius albidipennis* Under Laboratory and Field Conditions. *J Plant Prot Res* 47(4): 391-400.
- Mansouri F, Azaizeh H, Saadf B, Tadmor Y, Abo-Moch F et al. 2004. The Potential of middle eastern flora as a source of new safe bio-acairicides to control *Tetranychus cinnabarinus*, the Carmine Spider



- Mite. *Phytoparasitica* 32 (1): 66-72.
- Mertz FP, Yao RC 1990. *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar rum still. *Int J Syst Evol Microbiol* 40 (1):34-39.
- Momen F, Reda AS, Saadf B, Tadmor Y, Abo-Moch F et al. 2004. The potential of middle eastern flora as a source of new safe bio-acaricides to control *Tetranychus cinnabarinus*, the carmine spider mite. *Phytoparasitica* 32 (1): 66-72.
- Öden T 1962. Zirai Mücadele İlaçları. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü Neşriyatı No: 2: 368
- Pimentel D, Acquary H, Biltonen M, Rice P, Silva M et al. 1992. Environmental and economic cost of pesticide use. *BioScience* 42 (10): 750-760
- Rişvanlı MR 2015. Spinosin insektisidi Spinetoram' ın Amerikan Hamam Böceği (*Periplaneta americana*) (L.)'nin 3-4. dönem nimf ve ergin dönemine karşı residual kontak toksisitesinin belirlenmesi. MSc, Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Kahramanmaraş, Turkey. p 39
- Roberts J 1996. Cockroaches linked with asthma, *BMJ* (International ed.) Edition 312 (7047): 1630-1637.
- Rust MK, Reiersen DA 1991. Chlorpyrifos resistance in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) from restaurants. *J Econ Entomol* 84(3): 736-740
- Rust MK, Reiersen DA, Ziechner BC 1993. Relationship between insecticide resistance and performance in choice tests of field collected German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol* 86(4): 1124-1130.
- Samson PR, Hall EA 1989. Effect of relative humidity on the biological activity of fenitrothion residues on different surfaces. *J Stored Prod Res* 25(4): 243-246.
- SAS Institute 2009. SAS/STAT User' s Guide, Version 9.1.3. Portable, SAS Institute, Cary, NC.
- Sparks TC, Crouse GD, Dripps JE, Anzeveno P, Martynow J et al. 2008. Neural Network-Based QSAR and insecticide discovery: spinetoram. *J Comput Aid Mol Des* 22 (6-7): 393-401.
- Thacker JRM 1999. Identification of a plant phytosterol with toxicity against arthropod pests. *JAMS* 4(2): 13-17.
- Thompson GD, Dutton R, Sparks TC 2000. Spinosad a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Manag Sci* 56(8): 696-702.
- Toews MD, Subramanyam Bh, Rowan JM 2003. Knockdown and mortality of adults of eight species of stored-product beetles exposed to four surfaces treated with spinosad. *J econ entomol* 96(6):1967-1973.
- Waldvogel MG, Moore CB, Nalyanya GW, Stringham SM, Watson DW et al. 1999. Integrated cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) management in confined swine production. In Proceedings of the 3rd international conference of urban pests. Prague (Czech Republic): Graficke Zavody Hronov, pp. 183-188.
- Wewetzer A 1995. Callus cultures of *Azadirachta indica* and their potential for the Production of Azadirachtin. *Phytoparasitica*, 26(1): 47-52.
- White NDG 1982. Effectiveness of malathion and pirimiphos-methyl applied to plywood and concrete to control *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae). *J Entomol Soc Ont* 113: 65-69.
- Williams P, Semple RL, Amos TG 1983. Relative toxicity of three pyrethroid insecticides on concrete, wood and iron surfaces for the control of grain insects. *Gen Appl Ent* 15: 7-10.
- Williams T, Valle J, Viñuela E 2003. Is the naturally derived insecticide Spinosad® compatible with insect natural enemies. *Biocontrol Sci Techn* 13(5): 459-475.
- Zhang J, Wu M, Chen J 2007. Resistance investigation of *Blattella germanica* to six insecticides and control strategy in Hefei city. *Chin J Vec Biol Contr* 18: 98-99.



## Burdur İlinde Plum pox virus'un Tespiti ve Kısmi Kılıf Protein Geninin Moleküler Karakterizasyonu

Ali Ferhan-MORCA<sup>1,\*</sup>, Sevgi-COŞKAN<sup>2</sup>, Ali ÇELİK<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup>Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, <sup>3</sup>Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Bitki Koruma Bölümü]

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-7480-922X>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-3589-6041>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-5836-8030>

✉: ferhan.morca@gmail.com

### ÖZET

Plum pox virus (PPV), sert çekirdekli meyvelerde önemli verim kayıplarına sebep olan Şarka hastalığının etmenidir. PPV, Türkiye'nin farklı bölgelerinde sınırlı olarak tespit edilmesine rağmen, bugüne kadar Burdur iline ait herhangi bir kayıt bulunmamaktadır. Bu çalışmada, 2016-2019 yılları arasında Burdur ilinde PPV'nin varlığının belirlenmesine yönelik serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılan araştırmanın sonuçlarına yer verilmiştir. Sürveyler süresince toplanan 47 adet sert çekirdekli meyve yaprak örneği ilk olarak Double antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) ile analiz edilmiş ve 2 adet şeftali örneğinin PPV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, PPV'nin kılıf protein bölgesi için 767 nükleotid büyüklüğünde bir bölgeyi çoğaltan bir adet dejenere primer çifti tasarlanmıştır. Yeni primerler ile gerçekleştirilen Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) ve sekans analizleri sonucunda elde edilen diziler GenBank'a kaydedilmiştir. Yapılan BlastN analizi neticesinde Burdur PPV izolatları en yüksek benzerlik oranını (%99.86-%98.49), PPV-M ırkı ile göstermiştir. Neighbour-joining yöntemiyle yapılan filogenetik ağaçta Burdur izolatlarının, Türkiye ve farklı ülkelere ait PPV-M izolatı ile kümelendiği belirlenmiştir. Bu çalışma ile elde edilen 2 adet PPV-M izolatı Akdeniz Bölgesi'nin PPV açısından ari alanı konumunda olan Burdur ilinde ilk kayıt niteliğindedir. Çalışma sonucunda enfekteli olduğu tespit edilen ağaçlar eradike edilerek 1 km çapında tampon bölge oluşturulmuş ve 3 yıl boyunca *Prunus* türlerinin yetiştiriciliğinin yasaklanmasına ve sürvey çalışmalarının devam edilmesine karar verilmiştir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 10.07.2020

Kabul Tarihi : 04.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

Filogenetik Analiz

Şarka Hastalığı

Şeftali

PPV-M

## Determination of Plum pox virus and Molecular Characterization of Partial Coat Protein Gene in Burdur Province

### ABSTRACT

Plum pox virus (PPV), the causal agent of Sharka disease, causes significant yield losses in stone fruits. Despite PPV occurrence as restricted in different regions of Turkey, there is no record of PPV yet in Burdur province. Hence, this study includes the results for determining the presence of PPV in Burdur province between 2016-2020 by serological and molecular methods. A total of 47 leaf samples collected during the surveys were first analyzed by Double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA), and only 2-peach samples were determined to be infected with PPV. A degenerate primer pair that amplifies a 767 bp product was designed for the partial coat protein region of PPV in this study. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was performed using designed primer pair, and novel isolates obtained by sequence analysis were deposited in the GenBank. As a result of the BlastN analysis, Burdur PPV isolates showed the highest similarity (99.86% -98.49%) with the PPV-M strain. The phylogenetic tree was generated by the Neighbor-Joining method, resulting in novel PPV-Burdur

### Research Article

#### Article History

Received : 10.07.2020

Accepted : 04.12.2020

#### Keywords

Phylogenetic Analysis

Sharka Disease

Peach

PPV-M

isolates were clustered with the PPV-M isolates belonging to Turkey and other countries. The novel two PPV-M isolates were the first records in the province of Burdur, the PPV-free area in the Mediterranean Region. As a result of this study, by eradicating infected trees, a one-kilometer diameter buffer zone was established. It has been decided to ban the replanting of *Prunus* species and continue the survey studies for three years.

**Atf İçin:** Morca AF, Coşkan S, Çelik A 2021. Burdur İlinde Plum pox virus'un Tespiti ve Kısmi Kılıf Protein Geninin Moleküler Karakterizasyonu. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (4): 805-814. DOI: 10.18016/ksutarimdoge.vi.767409

**To Cite :** Morca AF, Coşkan S, Çelik A 2021. Determination of Plum pox virus and Molecular Characterization of Partial Coat Protein Gene in Burdur Province. KSU J. Agric Nat 24 (4): 805-814. DOI: 10.18016/ksutarimdoge.vi.767409

## GİRİŞ

Plum pox virus (PPV), *Potyvirus* cinsi içerisinde yer alan, sert çekirdekli meyve ağaçlarında ciddi ekonomik kayıplara yol açabilen önemli bir viral hastalık etmenidir (Nemeth, 1986). Hastalık etmeni erik, şeftali ve kayısı başta olmak üzere sert çekirdekli meyvelerde verim ve kalite kayıplarına yol açmaktadır (Rochon ve ark., 2003). İlk olarak 1917-18 yılında Bulgaristan'da tespit edilen (Atanassov, 1932) PPV'nin tüm Avrupa ve Akdeniz ülkelerine yayılma eğiliminde olduğu bildirilmiştir (Garcia ve Cambra, 2007). PPV'nin günümüze kadar yabancı ve kültüre alınmış sert çekirdekli meyve ağaçlarında (James ve Thompson, 2006; Sochor ve ark., 2012) ve dikotiledon familyasına ait 8 farklı bitki türünde enfeksiyon oluşturma durumları araştırılarak, virüsün 20 farklı afit türü ile taşınması üzerine deneysel çalışmalar yürütülmüştür (Labonne ve ark., 1994; Gildow ve ark., 2004). Global ölçekte yayılımı sürekli takip edilen PPV, günümüzde sert çekirdekli meyve ağaçlarının en önemli viral sorunu haline gelmiştir. Öyle ki, PPV bitki virüsleri içerisinde en çok çalışılan 10 virüs arasında yerini almıştır (Scholthof ve ark., 2011).

RNA virüsleri tipik olarak, viral RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) ribonükleotidleri sık sık hatalı birleştirmesi sonucu yönlendirilen yüksek mutasyon oranlarına sahip genetik olarak farklı yeni popülasyonlar oluşturabilirler (Korboukh ve ark., 2014). Bununla beraber RNA virüslerinin genetik çeşitliliğine katkıda bulunan başka bir mekanizmada rekombinasyondur (Garcia-Arenal ve ark., 2001). Rekombinasyon, Potiviruslerin evriminde önemli bir rol oynamaktadır (Chare ve Holmes, 2006). Ancak bu evrim net olarak bilinmemekle birlikte mutasyon değişikliklerinin rekombinasyon olaylarına kıyasla göreceli önemi hala anlaşılammaktadır (Ohshima ve ark., 2007; James ve ark., 2016). Rekombinasyon düzeyi yüksek olan RNA virüsleri arasında yer alan PPV'nin günümüze kadar 10 farklı ırkı tespit edilmiştir. Bu ırklar sırası ile PPV-D ve PPV-M (Kerlan 1979), PPV-EA (Wetzel ve ark., 1991), PPV-C (Nemchinov ve Hadidi, 1996), PPV-Rec (Glasa ve ark., 2004), PPV-W (James ve Varga, 2005), PPV-T (Serçe ve ark., 2009), PPV-An (Palmisano ve ark., 2012), PPV-CR (Glasa ve ark., 2013) ve PPV-CV (Chirkov ve ark.,

2017) olarak isimlendirilmiştir. PPV ırkları virüsün biyolojik, epidemiyolojik ve nükleotid farklılıkları gözetilerek ayrılmıştır (Sihelská ve ark., 2017).

Tek sarmal RNA yapısında olan PPV genomu, yaklaşık 9.8 kb büyüklüğünde ve tüm diğer *Potyvirus* üyeleri gibi tek bir okuma çerçevesinden oluşmaktadır (Revers ve Garcia, 2015). Ayrıca genom üzerinde P3N-PIPO mini trans-frame proteinin kodlandığı ikinci bir küçük okuma çerçevesi de bulunmaktadır (Chung ve ark., 2008). PPV'nin dünya genelinde ırk düzeyindeki yaygınlığına bakıldığında PPV-D ve PPV-M ırklarının yaygın olduğu bildirilmiş, (Candresse ve ark., 1998) yapılan son çalışmalarda ise PPV-Rec ırkının dağılımında da bir artışın meydana geldiği rapor edilmiştir (Garcia ve ark., 2014).

PPV'nin, ana konukçularından olan erik, kayısı, şeftali ve badem gibi sert çekirdekli meyvelerde farklı belirtiler meydana getirdiği görülmüştür. Konukçu bitkide meydana gelen bu farklı belirtiler, virüsün ırkına, bitkinin yaşına ve türüne göre değişiklik göstermektedir (Deligöz ve ark., 2015). PPV genellikle, konukçu bitki yapraklarında klorotik bantlaşma, damarlarda renk açılması, halka şeklinde lekeler ve çiçeklerde renk kırılması gibi belirtiler ile kendini belli etmektedir (Akbaş ve ark., 2011). Ayrıca hassas konukçuların meyve ve yapraklarında şekil bozuklukları oluşturduğu, bununla beraber meyvelerin erken dönemde dökülmelerine sebep olduğu bildirilmiştir (Lopez-Moya ve ark., 2000). PPV Türkiye'de ilk olarak Edirne ilinde 1968 yılında tespit edilmiştir (Sahtiyancı, 1969). Virüsün yaklaşık yarım asırdır önce tespit edilmiş olması, üzerinde çok çalışılan bir organizma olmasına neden olmuş ve etmeni sert çekirdekli meyve ağaçlarının önemli bir bitki patojeni haline getirmiştir. Günümüzde hastalığın Türkiye'de birçok bölgesinde bulunduğu bildirilmiştir (Elibüyük, 2003; Elibüyük, 2004; Çıtır ve İbbağı, 2006; Candresse ve ark., 2007; Gümüş ve ark., 2007; Akbaş ve ark., 2011; İbbağı ve Çıtır, 2014; Gürcan ve Ceylan, 2016). Türkiye'de PPV'nin ırk düzeyinde tespiti üzerine yapılan çalışmalarda PPV-D (Elibüyük, 2004; Gürcan ve Ceylan, 2016; Gürcan ve ark., 2020), PPV-M (Sertkaya ve ark., 2003; Elibüyük, 2004; Gürcan ve ark., 2019), PPV-T (Serçe ve ark., 2009; Teber ve ark., 2019) ve PPV-Rec olmak üzere



toplam dört ırkı tespit edilmiştir. PPV-Rec sadece Isparta ve Bursa illerinde sınırlı olarak belirlenmesine (Candresse ve ark., 2007; Gürcan ve Ceylan, 2016) rağmen diğer üç ırk birçok ilde tespit edilmiştir.

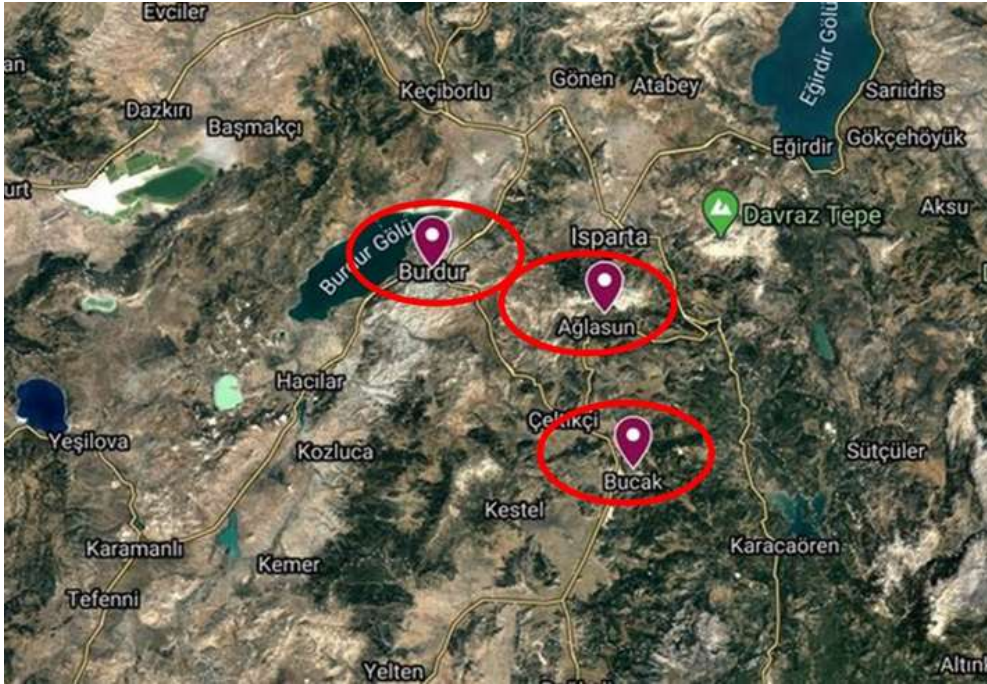
PPV, global ölçekte olduğu gibi Türkiye’de de karantinaya tabi viral etmenler arasında yer almaktadır (Deligöz ve ark., 2015). Türkiye’de karantina şartları kapsamında izlenen PPV’nin yeni bölgelerde tespiti ve eradikasyonu özellikle PPV ile mücadelede alınması gereken önlemler bakımından oldukça önemlidir. Bu çalışmada Burdur ilinde

PPV’nin takibi amacıyla yapılan sürvey çalışmaları kapsamında virüsün ilk tespiti ve kısmi kılıf protein bölgesine özgü geliştirilmiş olan dejenere primerler ile yapılan karakterizasyon çalışmaları bildirilmektedir.

## MATERYAL ve METOD

### Sürvey

Sürvey çalışmaları 2016-2019 yılları arasında Burdur iline bağlı Merkez, Ağlasun ve Bucak ilçelerinde (Şekil 1)



Şekil 1. Burdur ili 2016-2019 yılları arasında sürvey yapılan Ağlasun, Bucak ve Merkez ilçelerinin konumunu gösteren harita

Figure 1. The map showing Ağlasun, Bucak, and Merkez districts of Burdur province where surveys were conducted between 2016-2019

Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından hazırlanmış ve yayınlanmış olan “Sürvey Talimatları Kılavuz El Kitabı” kapsamında belirtilen usullere göre yapılmıştır (Anonim, 2017). Örneklemeye yapılırken sadece ticari bahçelerden değil aynı zamanda geleneksel olarak tabir edilen eski ev tipi bahçelerden de örnekler alınmıştır. Toplanan örnekler için gerekli bilgiler (tarih, lokasyon, örnek numarası, arazi büyüklüğü) not edilmek suretiyle kaydedilmiştir. Örnekler PPV belirtileri açısından ilk olarak arazide makroskopik olarak kontrol edilmiştir. Kontroller sonucu sürvey bölgesinden PPV benzeri belirti gösteren 47 adet örnek toplanmış ve Ankara Ziraat Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Viroloji Laboratuvarında analize alınmıştır.

### DAS-ELISA

Sürvey yapılan alanlardan toplanan örnekler makroskopik gözlemlerden sonra serolojik olarak PPV ırklarına (PPV-An, PPV-C, PPV-CR, PPV-D, PPV-EA,

PPV-M, PPV-Rec, PPV-T ve PPV-W) spesifik poliklonal antiserum (Agdia Inc. Elkhart, IN, USA) kullanılarak ilgili firmanın önerileri doğrultusunda ELISA yöntemi (Clark ve Adams, 1977) ile test edilmiştir. Test sonucunda ELISA mikroyuvarları 405 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda (Tecan Sunrise Microplate Reader 16039400) absorbans değerleri ölçülmüştür. Değerlendirmede negatif kontrolün absorbans değerinin en az iki katı ve üzeri değere sahip örnekler enfekteli (pozitif) olarak kabul edilmiştir.

### Toplam RNA İzolasyonu, Dejenere Primer Tasarımı ve RT-PCR

ELISA sonucunda PPV pozitif olarak belirlenen örneklerden ve PPV negatif örnekten (Kontrol) ticari kit (NucleoSpin RNA Plant Mini kit-Macherey-Nagel, USA) kullanılarak toplam RNA’lar izole edilmiştir. Elde edilen toplam RNA’ların konsantrasyonları nanospektrofotometre (NanoDrop 2000, Thermo) ile



ölçülmüş ve eşit hacime getirilmiştir.

Çalışmada kullanılan primer çiftinin tasarımı için NCBI'dan PPV'nin tüm ırklarının kılıf protein bölgesini içeren nükleotid dizileri referans alınmıştır. Referans alınan NCBI izolatlarına ait genom dizilimi ve ilgili gen üzerindeki pozisyonu Şekil 2'de verilmiştir. Referans alınan bu izolatlar Mega 7

programında (Kumar ve ark., 2016) Clustal W (Thompson ve ark., 1994) tekniği kullanılarak hizalanmıştır. Hizalama sonucunda elde edilen diziler ile Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) programında tasarlanan ve ilk defa bu çalışmada kullanılan 767 nükleotid boyutunda PPV-2F/PPV-2R isimli dejenere primer çifti oluşturulmuştur.

NCBI Erişim No İzolat Adı	Pozisyon	Nükleotid dizisi	Pozisyon
HF585103 PPV-M	8777	C A A A C C G C G G T C T T T T G G A G >	
MF370999 PPV-M	8777	C A A A C C G C G G T C A T T T G G A G >	
LT158756 PPV-D	8777	T C A A C T G C A A A C T T T T G G A A >	
MF346285 PPV-T	8777	C A C A C C G C G G T C T T T T G G A G >	
HG964685 PPV-Rec	8777	C A C A C C G C A G T C T T T T G G A G >	
DQ431465 PPV-EA	8783	T A C A C C T C C T T C T T T T G G A G >	
KC347608 PPV-W	8780	T A A C C C A A C G T C T T T T G G C G >	
KJ787006 PPV-C	8786	A A G T C C A C T C T C G T A T G G G G >	
MG736814 PPV-CR	8783	A A G T C C A T T C T C T T A T G G A G >	
HF674399 PPV-An	8777	C A A C C C G C A G T C T T T T G G A G >	
MF447179 PPV-CV	8783	A A G C C C A T T C T C A T A T G G T G >	
		* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *	
<b>PPV-2F Primeri</b>		<b>Y M M A C Y G C R R W C T T T T G G A R</b>	
HF585103 PPV-M		> C G T G A A T C G C A A C A T G C A C A	9543
MF370999 PPV-M		> C G T G A A T C G G C A A C A T G C A C A	9543
LT158756 PPV-D		> C G T T A A T C G C A A C A T G C A C A	9543
MF346285 PPV-T		> T G T G A A T C G C A A C A T G C A C A	9543
HG964685 PPV-Rec		> C G T G A A T C G C A A C A T G C A C A	9543
DQ431465 PPV-EA		> T G T T A A T C G C A A C A T G C A T A	9549
KC347608 PPV-W		> T G T G A A T C G C A A C A T G C A T A	9546
KJ787006 PPV-C		> T G T T A A T C G C A A C A T G C A C A	9552
MG736814 PPV-CR		> T G T T A A T C G C A A C A T G C A C A	9549
HF674399 PPV-An		> T G T G A A T C G C A A C A T G C A C A	9543
MF447179 PPV-CV		> T G T T A A T C G C A A C A T G C A C A	9549
		* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *	
<b>PPV-2R Primeri</b>		<b>T G T G C A T G T T G C G A T T M A C R</b>	

Şekil 2. PPV-2F/2R dejenere primerlerinin tasarımında referans alınan GenBank PPV izolatları ve nükleotid dizileri

Figure 2. The reference GenBank PPV isolates and nucleotide sequences for designing PPV 2F/2R degenerate primer pair

Çalışmada elde edilen RNA'lar ve çalışmaya özgü tasarlanan PPV-2F/PPV-2R primer çifti ile toplam 25 µl hacimdeki PCR karışımı: 8 µl 5X GoTaq Flexi Buffer, 1.25 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0.7 µl dNTP (10 mM), 0.25 µl GoTaq polimeraz enzim (5 U µl), 1 µl ileri (Forward) primer (10 µM), 1 µl geri (Reverse) primer (10 µM), 0.2 µl Reverse-transcriptase enzimi (200 U/µl), 0.2 µl RNase inhibitörü (5000 U/ml), 2 µl RNA içerecek şekilde hazırlanmış ve nükleaz-içermeyen steril su ile toplam hacime tamamlanmıştır. Elde edilen PCR karışımı ile gerçekleştirilen tek aşamalı RT-PCR için reaksiyon koşulları: 45 dk 50 °C süre ile gerçekleştirilen cDNA aşamasının ardından, 95 °C'de 5 dk, 94 °C'de 45 sn, 46 °C'de 45 sn, 72 °C'de 90 sn ve 72 °C'de 10 dk şeklinde gerçekleştirilmiştir. RT-PCR

sonucunda elde edilen amplikonlar Pronosafe (Conda, Madrid, Spain) DNA boyası ile hazırlanan %1.5'lük agaroz jelde 80 V'da 60 dk yürütülmüş ve UV transilluminatör altında görüntülenmiştir.

#### Dizileme ve Filogenetik Analiz

RT-PCR sonucu pozitif olarak belirlenen amplikonlar hizmet alımı yöntemi ile dizilenmek üzere ticari firmaya (Macrogen The-BM Laboratory Systems, Türkiye) gönderilmiştir. Elde edilen ham nükleotid dizileri temizlenerek işlenmiş ve Clustal W tekniği kullanılarak MEGA 7 programında konsensus dizileri oluşturulmuştur (Thompson ve ark., 1994). PPV'nin kılıf protein bölgesine ait kısmi nükleotid dizilerini içeren 2 adet izolat, GenBank'ta yer alan referans

izolatlar ile nükleotid düzeyinde BlastN (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) analizine tabi tutulmuştur. BlastN analizinden sonra izolatlar ait nükleotit dizileri GenBank'a kayıt edilmiştir.

İzolatların kayıt işleminden sonra filogenetik ağaç oluşturulması için NCBI'dan PPV'nin kılıf protein bölgesinin tamamını içeren 27 adet referans izolat ve 1 adet dış izolat (Potato virus Y) indirilerek nükleotid düzeyinde çeşitlilik sağlanmıştır (Çizelge 1). Filogenetik ağaç oluşturulurken kullanılacak model, Mega 7 programında yer alan en iyi model bulma seçeneği (Kumar ve ark., 2016) kullanılarak elde edilmiş ve Tamura-Nei (TN93+G+I) olarak belirlenmiştir. Bulunan model ile 1000 Bootstrap değeri seçilerek Neighbour-Joining (NJ) (Saitou ve Nei, 1987) yöntemi ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

Çizelge 1. Filogenetik analizde kullanılan izolatlar  
Table 1. The list of isolates subjected to phylogenetic analyses

No	GenBank Erişim Numarası	Ülke-Şehir	İrk
1	MN877409*	Türkiye-Burdur	PPV-M
2	MN901052*	Türkiye-Burdur	PPV-M
3	KX423931	Türkiye-Bursa	PPV-M
4	KX423928	Türkiye-Bursa	PPV-M
5	KX423929	Türkiye-Bursa	PPV-M
6	KX423905	Türkiye-Bursa	PPV-M
7	EF626549	Slovakya	PPV-M
8	HF585103	Slovakya	PPV-M
9	MF371001	Türkiye-İstanbul	PPV-M
10	MF370999	Türkiye-İstanbul	PPV-M
11	LT158756	Slovakya	PPV-D
12	AB576049	Japonya	PPV-D
13	AY953266	Kanada	PPV-D
14	MF346285	Türkiye-Konya	PPV-T
15	MF346290	Türkiye-Konya	PPV-T
16	EU734794	Türkiye-Ankara	PPV-T
17	HG964685	Kanada	PPV-Rec
18	EU117116	Polonya	PPV-Rec
19	DQ431465	Mısır	PPV-EA
20	FN424180	Mısır	PPV-EA
21	KC347608	Rusya	PPV-W
22	AY912055	Kanada	PPV-W
23	KJ787006	Rusya	PPV-C
24	KY221840	Almanya	PPV-C
25	MG736816	Rusya	PPV-Cr
26	MG736814	Rusya	PPV-Cr
27	HF674399	Arnavutluk	PPV-An
28	MF447179	Rusya	PPV-CV
29	MF447180	Rusya	PPV-CV
30	KR528584**	Uruguay	PVY

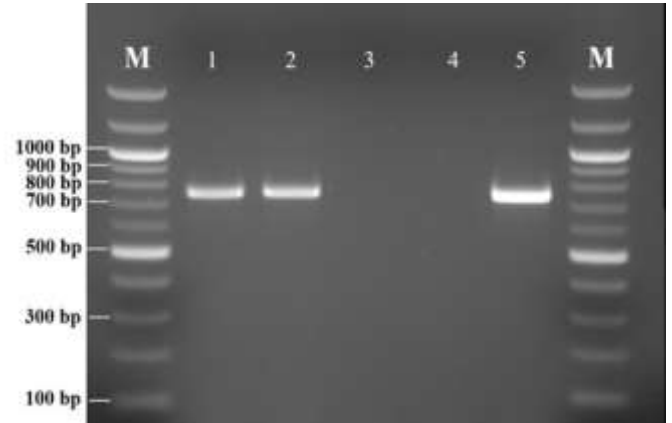
\* Çalışmada elde edilen izolatlar \*\* Dış grup olarak seçilen izolat

## BULGULAR ve TARTIŞMA

2016-2019 yılları arasında Burdur İli merkez, Ağlasun ve Bucak ilçelerinden toplam 47 adet sert çekirdekli meyve yaprak örneği toplanmıştır. Yapılan makroskopik ve serolojik çalışmalar neticesinde

toplamda 2 adet şeftali örneğinin (Brd424 ve Brd425) PPV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Sert çekirdekli meyve virüsleri ile yapılan çalışmalarda serolojik testler yaygın olarak kullanılan test yöntemleri arasında yer almaktadır (Gümüş ve ark., 2007; Ulubaş-Serçe ve ark., 2009; Öztürk ve Çevik, 2015; Çelik ve Ertunç, 2019; Çelik ve Ertunç, 2020). Bu çalışmada da ilk olarak serolojik yöntemle pozitif olduğu belirlenen örnekler daha sonra hassas bir analiz yöntemi olan RT-PCR tekniği ile doğrulanmıştır. PPV'nin tüm ırklarının kılıf protein gen bölgesini tanımlama özelliğine sahip olması amacıyla tasarlanan dejenere primer çifti ile yapılan RT-PCR çalışmaları sonucunda, Burdur ilinden elde edilen iki adet şeftali örneği ve pozitif kontrol amacıyla kullanılan PPV ile enfekteli (PPV-D) bir adet şeftali örneği agaroz jel üzerinde 767 bp büyüklüğünde bantlar oluşturmuştur (Şekil 3).

1



Şekil 3. Dejenere primer çiftleri kullanılarak yapılan RT-PCR amplifikasyonuna ait agaroz jel görüntüsü. (M: 100 bp DNA Markör, 1-2; Burdur PPV izolatları, 3; Negatif Kontrol, 4; Su Kontrol, 5; Pozitif Kontrol).

Figure 3. Agarose gel image of RT-PCR amplification using degenerate primer pairs (M: 100 bp DNA marker, 1-2 Burdur PPV isolates, 3: Negative control, 4: Water control, 5: Positive control)

Elde edilen ampliconlar sekans analizi sonrasında BlastN analizine tabi tutulmuştur. Konsensus dizileri oluşturulan iki adet izolat MN877409 (Brd424) ve MN901052 (Brd425) erişim numaraları ile NCBI'a kaydedilmiştir. BlastN analizi sonucunda Burdur PPV izolatları, Çizelge 2'de yer alan ve NCBI'da kayıtlı PPV-M izolatları ile nükleotid düzeyinde %98.49 ile %99.86 arasında benzerlik göstermiştir. Bu yüksek benzerlik oranının, Çizelge 2'de verilmeyen ve Blast analizinde elde edilen ilk 100 PPV-M izolatında da devam ettiği görülmüştür. Bu bulgular doğrultusunda Brd424 ve Brd425 izolatlarının PPV-M ırkı olduğu kesinleşmiştir.

Çizelge 2. Kısmi CP gen bölgesi için Brd424 ve Brd425 izolatlarının GenBank veritabanında yer alan PPV izolatları ile nükleotid düzeyinde göstermiş oldukları benzerlik oranları

Table 2. Similarity ratios of Brd424 and Brd425 isolates at nucleotide level with PPV isolates in the GenBank database for the partial CP gene region

İzolat ve Ülke	İrk	GenBank No	Benzerlik (%)	İzolat ve Ülke	İrk	GenBank No	Benzerlik (%)
			Brd424				Brd425
BrPc53 (Türkiye)	M	KX423931	99.86	BrPc11 (Türkiye)	M	KX423905	99.59
BrPc51 (Türkiye)	M	KX423930	99.86	BrPc10 (Türkiye)	M	KX423904	99.59
BrPc48 (Türkiye)	M	KX423928	99.86	BrPc23 (Türkiye)	M	KX423910	98.90
BrPc44 (Türkiye)	M	KX423925	99.86	EdMrPc284 (Türkiye)	M	MG686898	98.62
BrPc31 (Türkiye)	M	KX423914	99.86	BrPc108 (Türkiye)	M	KX423955	98.62
BrPc49 (Türkiye)	M	KX423929	99.72	BrPc74 (Türkiye)	M	KX423944	98.62
BrPc2d (Türkiye)	M	KX423897	99.72	CY2 (Kıbrıs)	M	EF626558	98.62
BrPc30 (Türkiye)	M	KX423913	99.59	RS4 (Sırbistan)	M	EF626546	98.62
BrPc2f (Türkiye)	M	KX423898	99.59	EdTaAp316 (Türkiye)	M	MG686913	98.49
BrPc43 (Türkiye)	M	KX423924	99.45	EdMrPc283 (Türkiye)	M	MG686897	98.49

PPV'nin tespitine yönelik ilk defa çalışmada kullanılan PPV-2F/2R dejenere primerlerinin oldukça başarılı olduğu görülmüştür. Türkiye'nin PPV havuzunda dominant ırk durumunda olan PPV-T'nin serolojik olarak tespitini mümkün kılacak bir monoklonal antibadi henüz geliştirilmemiştir. Bu nedenle dizileme olmaksızın PPV-T ırkının ayırımı yapmak mümkün değildir (Gürcan ve Ceylan, 2016). PPV'nin ırk ayırımı hali hazırda virüsün tam genom dizisi, kılıf protein bölgesi ve P3-6K1 bölgesinin dizi bilgilerinin elde edilmesi ile sağlanmaktadır (Gürcan ve Ceylan, 2016; Gürcan, 2017). Bu bağlamda PPV-2F/R primer çiftinin, çalışma kapsamında verilmeyen ancak Türkiye'de varlığı belirlenen PPV'nin dört ırkı (PPV-M, D, T ve Rec) için güvenilir olarak çalıştığı laboratuvar çalışmalarında kanıtlanmış ve farklı literatürlerde PPV'nin tespiti için kullanılan primer çiftlerine ilave olarak kullanılabilmesi görülmüştür. Dünyada PPV'nin karantina kapsamında rutin analizlerinde ISPM 27 (International Standards for Phytosanitary Measures) teşhis protokollünde yer alan metotlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Söz konusu protokolde en yaygın olarak universal P1/P2 primer çifti (Wetzel ve ark., 1991) kullanılarak teşhis çalışmaları yapılmaktadır. Universal P1/P2 primer çifti PPV'nin kılıf protein bölgesinde 243 nükleotid'lik küçük bir alanı çoğaltmaktadır. P1/P2 primerlerinin teşhis için spesifikliğı yüksek ancak küçük bir bölgeyi

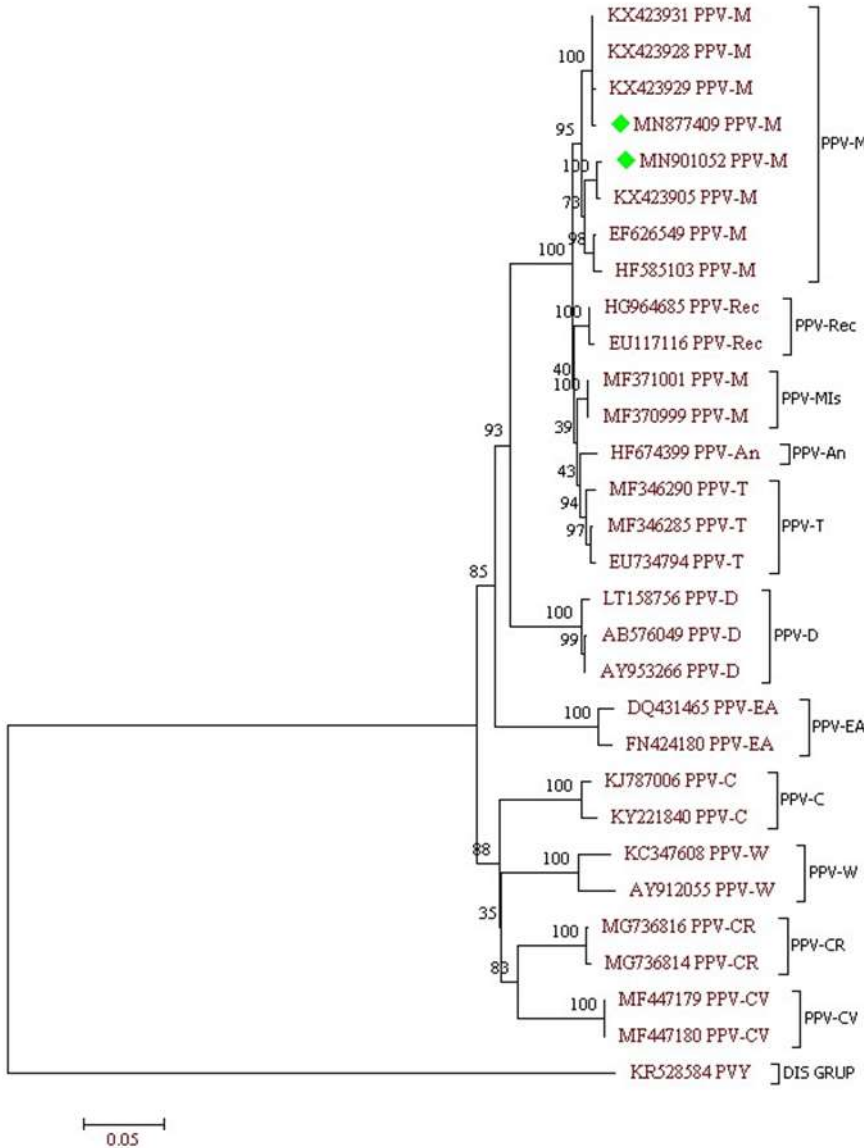
amplifiye etmesi nedeniyle moleküler karakterizasyon çalışmaları açısından uygun olmadığı bilinmektedir (Gürcan ve ark., 2019). Universal primer çifti ile yapılan filogenetik ağaçların dendogramlarında bootstrap değerlerinin düşük çıktığı (Kutsenko ve ark., 2019) ve güvenilirliğin azaldığı farklı çalışmalarda da görülmektedir. Bu sebeple çalışma için tasarlanmış olan 767 nükleotid uzunluğundaki dejenere primerler ile genetik çeşitliliğı daha iyi temsil edildiğı ve filogenetik analizlerde PPV ırklarının daha iyi ayrıldığı görülmüştür.

Çizelge 1'de verilen 10 farklı PPV izolatı ile Burdur izolatları arasında filogenetik ilişkiler incelenmiş ve elde edilen filogenetik ağaçta 11 farklı grubun yer aldığı görülmüştür (Şekil 4). Oluşan bu farklı grupların filogenetik ağaç üzerinde farklı uzunluklarda ve farklı bootstrap değerlerine sahip dallar ile belirgin biçimde ayrıştığı belirlenmiştir. PPV'nin ırklarından olmayan ancak filogenetik ağaçta MIs olarak belirtilen grubun Gürcan ve Ceylan (2016) tarafından rapor edilen, Avrupa PPV-M grubundan genetik olarak farklı olduğu bildirilen İstanbul (Türkiye) izolatlarından oluştuğı görülmüştür. MIs izolatlarının farklı çalışmalarda olduğu gibi (Teber ve Gürcan 2016, Gürcan, 2017) bu çalışmada da diğer PPV-M izolatlarından ayrı bir grup olduğu doğrulanmıştır. Çalışmada kullanılan Brd424/Brd425 izolatlarının BlastN analizi sonucu NCBI'da görülen



PPV-M izolatları ile olan benzerlik durumunun filogenetik ağaçta da devam ettiği ve beklenildiği gibi

PPV-M grubu izolatlar ile kümelendiği görülmüştür.



Şekil 4. Brd424 (MN877409) ve Brd425 (MN901052) izolatlarının kısmi kılıf protein gen bölgesine ait nükleotid dizilerinin GenBank'da kayıtlı bazı PPV ırkları ile filogenetik ilişkisi.

Figure 4. Phylogenetic relationship of nucleotide sequences of the partial coat protein gene region of Brd424 and Brd425 isolates with some PPV strains registered in GenBank.

Yukarıda bahsedilen BlastN sonuçlarında Burdur PPV-M izolatlarının Bursa PPV-M izolatları ile yüksek derecede benzerlik gösterdiği görülmektedir. Özellikle Bursa ilindeki şeftali fidan yetiştiriciliği ve farklı bölgelere olan fidan nakli, Burdur şeftali fidanlarının Bursa kaynaklı olabileceği ihtimalini güçlendirmektedir. Nitekim Gürcan (2016) tarafından yayınlanan raporda PPV-M ırkının ülkenin çeşitli bölgelerine yayılmasında Bursa ilinden gerçekleşen fidan trafiğinin önemli role sahip olduğunu bildirmiştir. Benzer olarak Aydın, Çanakkale, Isparta ve Denizli illerinde özellikle genç bahçelerde artan PPV-M enfeksiyonuna, fidanlıkların kaynak oluşturduğu ihtimali bulunmaktadır (Gürcan, 2016).

PPV-M'nin şeftali enfeksiyonunun Avrupa'da ve özellikle Yunanistan'da yaygın olduğu rapor edilmiştir (Myrta ve Boscia, 2001; Wang ve ark., 2006). Türkiye içinde PPV-M'nin, ülke geneline yayılma eğiliminde olmaya devam ettiği farklı çalışmalarda bildirilmiştir. Irk düzeyinde yapılan bu çalışmalarda Adana, Mersin (Koç ve Baloğlu, 2006), Antalya (Çelik ve Kütük, 2013), Aydın, Çanakkale, Denizli, İstanbul, Isparta, İstanbul, Kayseri ve Tekirdağ (Gürcan ve Ceylan, 2016; Gürcan ve ark., 2019) illerinde PPV-M'nin varlığı bildirilmiştir. Görüldüğü üzere Akdeniz Bölgesi'nde yer alan Burdur iline yakın bölgelerde çeşitli tarihlerde PPV'nin varlığı bildirilmiştir.



## SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma ile Akdeniz Bölgesi'nin PPV açısından ari ili konumunda olan Burdur ilinde Şarka Hastalığı ilk kez rapor edilmektedir. PPV, EPPO-A2 listesinde yer alan bir karantina organizmasıdır. EPPO bölgesinde yaygın olarak ya da sınırlı olarak bulunan PPV birçok ülkede kayısı, erik ve şeftalide büyük risk taşıyan önemli bir etmenidir. Türkiye'de önemli bir karantina organizması olarak kabul edilen PPV, karantina listesinde EK2-B (Türkiye'de sınırlı olarak bulunan karantinaya tabi zararlı organizmalar) kapsamında değerlendirilmekte ve Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından belirlenen katı bir eradikasyon programına sahiptir. Bu çalışma sonucunda, PPV'nin tespit edildiği lokasyondaki bitkiler imha edilerek, 1 km çapındaki alanda tampon bölge oluşturulmuştur. Ayrıca tampon bölge içerisinde 3 yıl boyunca PPV'nin doğal konukçusu durumunda olan *Prunus* türlerinin yetiştiriciliği yasaklanmış ve virüsün taranması amacıyla survey çalışmalarına devam edilmesine karar verilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Survey çalışmalarında emeği geçen Tarım ve Orman Bakanlığı Burdur İl Tarım ve Orman Müdürlüğü personelleri ile Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü-Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

## Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## KAYNAKLAR

Akbaş B, Değirmenci K, Ciftci O, Kaya A, Yurtmen M, Uzunogullari N, Çelik N, Türkölmez Ş 2011. Update on Plum pox virus distribution in Turkey. *Phytopathologia Mediterranea* 50(1): 75-83.

Anonim 2017. Şarka virüsü Plum pox potyvirus-PPV Survey Talimatı. <https://www.tarimorman.gov.tr/Konu/943/Survey> (Alınma tarihi: 09.07.2020).

Atanassov D 1932. Plum pox. A new virus disease. *Annals of the University of Sofia Faculty of Agriculture and Silviculture* 11: 49-69.

Candresse T, Cambra M, Dallot S, Lanneau M, Asensio M, Gorris MT, Revers F, Macquaire G, Olmos A, Boscia D, Quiot J, Dunez J 1998. Comparison of monoclonal antibodies and polymerase chain reaction assays for the typing of isolates belonging to the D and M serotypes of plum pox potyvirus. *Phytopathology* 88(3): 198-204.

Candresse T, Svanella-Dumas L, Gentit P, Caglayan K, Çevik B 2007. First report of the presence of Plum pox virus Rec strain in Turkey. *Plant Disease* 91(3): 331-331.

Chare ER, Holmes EC 2006. A phylogenetic survey of recombination frequency in plant RNA viruses. *Archives of Virology* 151: 933-946.

Chirkov S, Ivanov P, Sheveleva A, Zakubanskiy A, Osipov G 2017. New highly divergent Plum pox virus isolates infecting sour cherry in Russia. *Virology* 502: 56-62.

Chung BYW, Miller WA, Atkin JF, Firth AE 2008. An overlapping essential gene in the Potyviridae. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(15): 5897-5902.

Clark MF, Adams AN 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of general virology* 34(3): 475-483.

Çelik N, Kütük T 2013. Antalya ilinde şarka virüs hastalığının belirlenmesi. *Derim* 30(2): 1-10.

Çelik A, Ertunç F 2019. First report of prunus necrotic ringspot virus infecting apple in Turkey. *Journal of Plant Pathology* 101(4): 1227-1227.

Çelik A, Ertunç F 2020. Bursa ve Bilecik İlleri Şeftali Yetiştiriciliği Yapılan Alanlarda Prune dwarf virus (PDV) Yaygınlığı ve Genetik Çeşitliliği. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi* 6(1): 66-74.

Çıtır A, İlbağı H 2006. Serological identification of some important viruses on fruit trees and bushes in Tekirdağ province of Turkey. *Acta Horticulture* 781: 103-106.

Deligöz İ, Değirmenci K, Sökmen M 2015. Samsun ilinde sert çekirdekli meyve türlerinde Şarka hastalığı etmeninin (Plum pox virus) belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi* 30(3): 227-235.

Elibüyük İÖ 2003. Natural spread of Plum pox virus in Ankara, Turkey. *Journal of Phytopathology* 151(11-12): 617-619.

Elibüyük İÖ 2004. Current situation of sharka disease in Ankara, Turkey. *Phytoparasitica* 32(4): 417-420.

García-Arenal F, Fraile A, Malpica JM 2001. Variability and genetic structure of plant virus populations. *Annual Review of Phytopathology* 39: 157-186.

García JA, Cambra M 2007. Plum pox virus and sharka disease. *Plant Viruses* 1(1): 69-79.

García JA, Glasa M, Cambra M, Candresse T 2014. Plum pox virus and sharka: a model potyvirus and a major disease. *Molecular plant pathology* 15(3): 226-241.

Gildow F, Damsteegt V, Stone A, Schneider W, Luster D, Levy L 2004. Plum pox in North America: identification of aphid vectors and a potential role for fruit in virus spread. *Phytopathology* 94(8): 868-874.

Glasa M, Palkovics L, Kominek P, Labonne G,

- Pittnerová S, Kudela O, Candresse T, Šubr Z 2004. Geographically and temporally distant natural recombinant isolates of Plum pox virus (PPV) are genetically very similar and form a unique PPV subgroup. *Journal of General Virology* 85(9): 2671-2681.
- Glasa M, Prikhodko Y, Predajňa L, Nagyová A, Shneyder Y, Zhivaeva T, Subr Z, Cambra M, Candresse T 2013. Characterization of sour cherry isolates of Plum pox virus from the Volga basin in Russia reveals a new cherry strain of the virus. *Phytopathology* 103(9): 972-979.
- Gümüş M, Paylan IC, Matic S, Myrta A, Sipahioglu HM, Erkan S 2007. Occurrence and distribution of stone fruit viruses and viroids in commercial plantings of *Prunus* species in western Anatolia Turkey. *Journal of Plant Pathology* 89(2): 265-268.
- Gürcan K, Teber S, Candresse T 2020. Genetic analysis suggests a long and largely isolated evolutionary history of plum pox virus strain D in Turkey. *Plant Pathology* 69(2): 370-378.
- Gürcan K, Teber S, Çağlayan K 2019. Further investigation of a genetically divergent group of Plum pox virus-M strain in Turkey. *Journal of Plant Pathology* 101(2): 385-391.
- Gürcan K 2017. Bursa'da plum pox virus (Şarka)'ün yaygınlığının ve genetik çeşitliliğinin belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi* 32(1): 1-15.
- Gürcan K, Ceylan A 2016. Strain identification and sequence variability of plum pox virus in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 40(5): 746-760.
- Gürcan K 2016. Trakya Bölgesi'nde Şarka hastalığının DASI-ELISA ve RT-PCR yöntemleri ile belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni* 56(3): 309-326.
- İlbağı H, Çıtır A 2014. Detection and partial molecular characterization of Plum pox virus on almond trees in Turkey. *Phytoparasitica* 42(4): 485-491.
- James D, Thompson D 2006. Hosts and symptoms of Plum pox virus: ornamental and wild *Prunus* species. *EPPO Bulletin* 36(2): 222-224.
- James D, Varga A 2005. Nucleotide sequence analysis of Plum pox virus isolate W3174: evidence of a new strain. *Virus Research* 110(1-2): 143-150.
- James D, Sanderson D, Varga A, Sheveleva A, Chirkov S. 2016. Genome sequence analysis of new isolates of the Winona strain of Plum pox virus and the first definitive evidence of intrastrain recombination events. *Phytopathology* 106(4): 407-416.
- Kerlan C 1979. Différenciation biologique et sérologique de souches du virus de la sharka. *Annales de Phytopathologie* 11(2): 241-250.
- Koç G, Baloğlu S 2006. Disease Note First Report of Sharka in The Çukurova Region of Turkey. *Journal of Plant Pathology* 88(3): 65-70.
- Korboukh VK, Lee CA, Acevedo A, Vignizzi M, Xiao Y, Arnold JJ, Hemperly S, Graci JD, August A, Andino R, Cameron CE 2014. RNA virus population diversity, an optimum for maximal fitness and virulence. *Journal of Biological Chemistry* 289: 29531-29544.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874.
- Kutsenko OV, Budzanivska IG, Shevchenko OV 2019. Genetic diversity of Plum pox virus in Ukraine. *Viruses and Cell* 35(6): 476-485.
- Labonne G, Yvon M, Quio, JB, Avinent L, Llacer G 1994. Aphids as potential vectors of plum pox virus: comparison of methods of testing and epidemiological consequences. *Acta Horticulture* 386:207-218.
- López-Moya JJ, Fernández-Fernández MR, Cambra M, Garcia JA 2000. Biotechnological aspects of plum pox virus. *Journal of Biotechnology* 76(2-3): 121-136.
- Myrta A, Boscia D 2001. Plum pox virus: a risk for the Mediterranean fruit tree industry. *Options Méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches* (35): 37-42.
- Nemchinov L, Hadidi A 1996. Characterization of the sour cherry strain of plum pox virus. *Phytopathology* 86(6): 575-580.
- Nemeth M 1986. Plum pox (sharka). (The virus, mycoplasma and rickettsia diseases of fruit trees. Springer Netherlands) 463-479.
- Ohshima K, Tomitaka Y, Wood JT, Minematsu Y, Kajiyama H, Tomimura K, Gibbs AJ 2007. Patterns of recombination in Turnip mosaic virus genomic sequences indicate hotspots of recombination. *Journal of General Virology* 88: 298-315.
- Öztürk Y, Çevik B 2015. Genetic diversity in the coat protein genes of prune dwarf virus isolates from sweet cherry growing in Turkey. *The Plant Pathology Journal* 31(1): 41-49.
- Palmisano F, Boscia D, Minafra A, Myrta A, Candresse T 2012. An atypical Albanian isolate of Plum pox virus could be the progenitor of the Marcus strain. In 22nd International Conference on Virus and Other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops, June 3-8 Rome.
- Revers F, García JA 2015. Molecular biology of potyviruses. *Advances in virus research* 92: 101-199.
- Rochon D, Theilmann J, James D, Reade R, Yang L, Upton C 2003. Partial molecular characterization of plum pox virus isolates occurring in Canada. *Canadian journal of plant pathology* 25(2): 198-208.
- Sahtiyanci S 1969. Virus de la sharka chez le prunier. *Bulletin Phytosanitaire FAO* 17:69.
- Saitou N, Nei M 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Scholthof KBG, Adkins S, Czosnek H, Palukaitis P, Jacquot E, Hohn T, Hohn B, Saunders K, Candresse

- T, Ahlquist P, Hemenway C, Foster GD 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology* 12(9): 938-954.
- Serçe ÇU, Candresse T, Svanella-Dumas L, Krizbai L, Gazel M, Çağlayan K 2009. Further characterization of a new recombinant group of Plum pox virus isolates, PPV-T, found in orchards in the Ankara province of Turkey. *Virus Research* 142(1-2): 121-126.
- Sertkaya G, Ulubaş Ç, Çağlayan K 2003. Detection and Characterization of Plum Pox Potyvirus (PPV) by DAS-ELISA and RT-PCR/RFLP Analysis in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 27: 213-220.
- Sihelská N, Glasa M, Šubr ZW 2017. Host preference of the major strains of Plum pox virus—Opinions based on regional and world-wide sequence data. *Journal of integrative agriculture* 16(3): 510-515.
- Sochor J, Babula P, Adam V, Krska B, Kizek R 2012. Sharka: the past, the present and the future. *Viruses* 4(11): 2853-2901.
- Teber S, Ceylan A, Gürcan K, Candresse T, Ulubaş Serçe Ç, Akbulut M, Kaymak S, Akbaş B 2019. Genetic diversity and molecular epidemiology of the T strain of Plum pox virus. *Plant Pathology* 68(4): 755-763.
- Teber S, Gürcan, K 2016. Recombination analysis of 51 Plum pox virus (PPV) isolates, including 10 genomes of PPV-M Istanbul. In III International Symposium on Plum Pox Virus 9-13 May 2016, Antalya.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-80.
- Ulubaş-Serçe C, Ertunç F, Öztürk A 2009. Identification and genomic variability of Prune dwarf virus variants infecting stone fruit trees in Turkey. *Journal of Phytopathology* 157: 298-305.
- Wang A, Sanfacon H, Stobbs LW, James D, Thompson D, Svircev AM, Brown DCW 2006. Plum pox virus in Canada: progress in research and future prospects for disease control. *Canadian Journal of Plant Pathology* 28: 182-196.
- Wetzel T, Candresse T, Ravelonandro M, Delbos RP, Mazyad H, Aboul-Ata AE, Dunez J 1991. Nucleotide sequence of the 3'-terminal region of the RNA of the E1 Amar strain of plum pox potyvirus. *Journal of General Virology* 72(7): 1741-1746.

## *Albatrellopsis flettii*, A New Genus for Turkish *Albatrellaceae*

Deniz ALTUNTAŞ<sup>1</sup>, Ergin ŞAHİN<sup>2</sup>, Şanlı KABAKTPE<sup>3</sup>, Hakan ALLI<sup>4</sup>, İlğaz AKATA<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Ankara University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ankara, Turkey, <sup>2,5</sup>Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey, <sup>3</sup>Malatya Turgut Ozal University, Battalgazi Vocat Sch., Battalgazi, Malatya, Turkey, <sup>4</sup>Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Science, Department of Biology, Muğla, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-0142-6188>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-1711-738X>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0001-8286-9225>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0001-8781-7089>, <sup>5</sup><https://orcid.org/0000-0002-1731-1302>

✉: akata@science.ankara.edu.tr

### ABSTRACT

Fungal samples were collected from Kazdağı National Park (Balıkesir/Turkey) on October 25, 2014, and they were identified by implementing both traditional methods and ITS rDNA-based molecular phylogenetic analysis. By taking into account the high sequence similarity between the collected samples (ANK DNZ 023) and *Albatrellopsis flettii* (Morse ex Pouzar) Audet, the collected specimen was regarded as *A. flettii*, which was also verified by the morphological data. As a result, *A. flettii* was reported for the first time from Turkey at the genus and species level. A short description of the newly reported species was provided together with its macro-photography, illustrations of spores and hyphae, and spore images taken by a scanning electron microscope (SEM).

### Research Article

#### Article History

Received : 23.09.2020

Accepted : 23.11.2020

#### Keywords

*Albatrellopsis flettii*

*Albatrellaceae*

New record

Turkey

## *Albatrellopsis flettii*, Türkiye Albatrellaceae'leri İçin Yeni Bir Cins

### ÖZET

Mantar örnekleri 25 Ekim 2014 tarihinde Kazdağı Milli Parkı'ndan (Balıkesir / Türkiye) toplandı ve hem geleneksel yöntemler hem de ITS rDNA tabanlı moleküler filogenetik analiz uygulanarak tanımlandı. Toplanan örnekler (ANK DNZ 023) ve *Albatrellopsis flettii* (Morse ex Pouzar) Audet arasındaki yüksek sekans benzerliği dikkate alınarak toplanan örnek *A. flettii* olarak kabul edildi ve morfolojik veriler de bu bulguyu pekiştirdi. Sonuç olarak, *A. flettii* Türkiye'den ilk kez cins ve tür seviyesinde rapor edilmiştir. Yeni rapor edilen türlerin kısa açıklaması, makro fotoğrafları, spor ve hifsel yapılarının çizimleri ve tarama elektron mikroskopu (SEM) ile alınan spor görüntüleri ile birlikte verilmiştir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 23.09.2020

Kabul Tarihi : 23.11.2020

#### Anahtar Kelimeler

*Albatrellopsis flettii*

*Albatrellaceae*

Yeni kayıt

Türkiye

**To Cite :** Altuntaş D, Şahin E, Kabaktepe Ş, Allı H, Akata I 2021. *Albatrellopsis flettii*, A New Genus for Turkish *Albatrellaceae*. KSU J. Agric Nat 24 (4): 815-819. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.799215.

### INTRODUCTION

*Albatrellaceae* is a family of order *Russulales* belonging to the division *Basidiomycota* (Kirk et al., 2008) and it includes sixty-three confirmed species within the nine genera (*Albatrellopsis* Teixeira, *Albatrellus* Gray, *Jahnoporus* Nuss, *Laeticutis* Audet, *Leucogaster* R. Hesse, *Leucophlebs* Harkn., *Mycolevis* A.H. Sm., *Polyporoletus* Snell and *Scutigera* Paulet), according to index fungorum ([www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org); accessed 25 July 2020.).

*Albatrellopsis* is a monotypic genus of the family, which includes *A. flettii* (Morse ex Pouzar) Audet, which is characterized by convex to plane and bluish-green to variously colored pileus, incurved to lobed or wavy margin, circular or irregular, with eccentric to lateral stipe, circular to angular, apricot or salmon colored pores, thick and firm flesh, white spore print,

monomitic hyphal system, elliptic to ovoid and smooth and weakly amyloid spores. Formerly classified under the genus *Albatrellus*, *A. flettii* was transferred to the newly established genus *Albatrellopsis* due to its distinct molecular phylogenetic status (Audet, 2010).

According to Turkish literature (Doğan et al., 2005; Sesli and Denchev, 2008), seven species within the three genera (*Albatrellus confluens* (Alb. & Schwein.) Kotl. & Pouzar, *A. subrubescens* (Murrill) Pouzar, *Laeticutis cristata* (Schaeff.) Audet, *Leucogaster liosporus* R. Hesse, *L. luteomaculatus* Zeller & C.W. Dodge, *L. nudus* (Hazsl.) Hollós, *Scutigera pes-caprae* (Pers.) Bondartsev & Singer) have so far been reported for Turkish *Albatrellaceae* but there is not any record related to *Albatrellopsis flettii* in Turkey. The purpose of this paper was to make some contributions to Turkish *Albatrellaceae*.



## MATERIAL and METHOD

*Albatrellopsis* specimens were collected from Kazdağı National Park (Balıkesir-Turkey) on October 25, 2014. Macroscopic and ecological characteristics of the specimens were recorded at the collection site. In the fungarium, microscopic structures were scrutinized using both simple light microscope and scanning electron microscope (SEM). For light microscopy, approximately 50 measurements were taken under a light microscope (Euromex Oxion Trinocular microscope). 100X magnification rates were utilized for each microscopic structure and the compiled data were statistically processed. We also benefited from some chemicals including Melzer's reagent, 5% KOH, and congo red. For SEM analysis, pieces of hymenium were buried in a carbon paste, coated with gold particles, and visualized with an EVO 40XVP (LEO Ltd., Cambridge, UK) scanning electron microscope by using an accelerating voltage of 15 kV. Herbarium materials were prepared from the identified samples (ANK DNZ 023) and deposited into Ankara University Herbarium (ANK).

### Determination of the ITS rDNA Sequences

For the genomic DNA extraction from ANK DNZ 023, the CTAB method was employed as previously described (Rogers and Bendich, 1994). The extracted genomic DNA was spectrophotometrically (Nanodrop Lite Thermo Scientific) analyzed for the quality and quantity measurements and then it was utilized in a polymerase chain reaction as the template in order to amplify the Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA regions. PCR amplification of the ITS rDNA regions was implemented by using the ITS1 forward and ITS4 reverse universal oligonucleotides as previously represented (Stielow et al., 2015). The presence of amplicons was electrophoretically confirmed as single and clear bands on an agarose gel and later they were purified with Expin Gel, PCR, and CleanUp SV Kit (GeneAll) and sequenced with Sanger dideoxy sequencing method. Same ITS1 and ITS4 oligonucleotides were employed for the sequencing PCR conducted using the BigDye™ Direct Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific) and the fragment analyses were carried out using ABI Prism 3130 Genetic Analyzer. Agarose gel electrophoresis and the Sanger sequencing were performed as described elsewhere (Chen et al., 2014).

### Molecular Phylogeny Study

For the molecular phylogeny, the sanger reads obtained from ITS1 and ITS4 primers were assembled using DNAMAN Version 10 sequence assembly software (Lynnon Corporation) and BLASTn search was implemented with the assembled sequence for the similarity index analysis. Based on this BLAST search,

the in-group and the out-group members were retrieved from NCBI GenBank for the phylogenetic analysis. The assembled sequence and the nucleotide sequences of the retrieved in-group and out-group members were aligned using the ClustalW algorithm of MEGAX software (Kumar et al., 2018). The phylogenetic tree demonstrating the evolutionary history of ANK DNZ 023 was inferred using the Maximum Likelihood method and K2 nucleotide substitution model with gamma distribution (Kimura, 1980). The bootstrap method was utilized for the accuracy estimation using 1000 bootstrap replicates (Felsenstein, 1985).

## RESULTS

*Albatrellaceae* Nuss

*Albatrellopsis* Teixeira

*A. flettii* (Morse ex Pouzar) Audet (2010), (Figure 1).

**Syn.:** *Albatrellus flettii* Morse ex Pouzar (1972), *Polypilus flettii* (Morse ex Pouzar) Teixeira (1992), *Polyporus flettii* Morse, Mycologia (1941).

### Macroscopic and microscopic features

**Pileus** 120-160 mm broad, convex and inrolled at first, then enlarged and becoming plane, centrally depressed finally. **Margin** lobed or wavy and paler. **Surface** blue or blue-green at first, later dingy ochraceous, rusty stains in age, salmon to brick red when dry. **Pores** 1-4 per mm, circular to angular. **Pore surface** white at first, becoming apricot or salmon when mature, brick red when dry. **Flesh** white, thick, and firm. **Odor and taste** not distinctive. **Stipe** 50-100 mm long, centric or eccentric, circular or irregular, smooth, solid, firm, whitish when young, salmon to brick red when mature or dry. **Spore print** white. **Hyphal system** up to 10 µm broad, clamped, strongly inflated in the flesh of the cap and stem. **Cystidia** not seen. **Basida** 15-18 × 5-6 µm, four spored, clavate with basal clamp. **Basidiospores** 3.5-4 × 2.5-3 µm, ellipsoid to subglobose, smooth, hyaline, and weakly amyloid.

**Distribution:** North America and East Asia (Zheng and Liu, 2008).

**Material examined:** TURKEY—Balıkesir: Kazdağı National Park, under pine, 1470 m, 39° 42' N - 26° 53' E, 25.10.2014, ANK DNZ 023.

### Molecular Phylogeny of ANK DNZ 023

The ITS rDNA sequence of ANK DNZ 023 obtained from Sanger sequencing was deposited into NCBI GenBank with the accession number of MT253103.1. In a phylogenetic analysis of ANK DNZ 023, considering the BLAST search results of the specimen's nuclear ITS rDNA sequence, the genera *Albatrellopsis*, *Albatrellus*, *Leucogaster*, and

*Jahnoporus*, some of the well-defined genera of the family *Albatrellaceae*, were selected for ingroup sequences and the nuclear ITS rDNA sequences of

*Russula delica* and *Lactarius salmonicolor* were selected for the outgroup sequences.

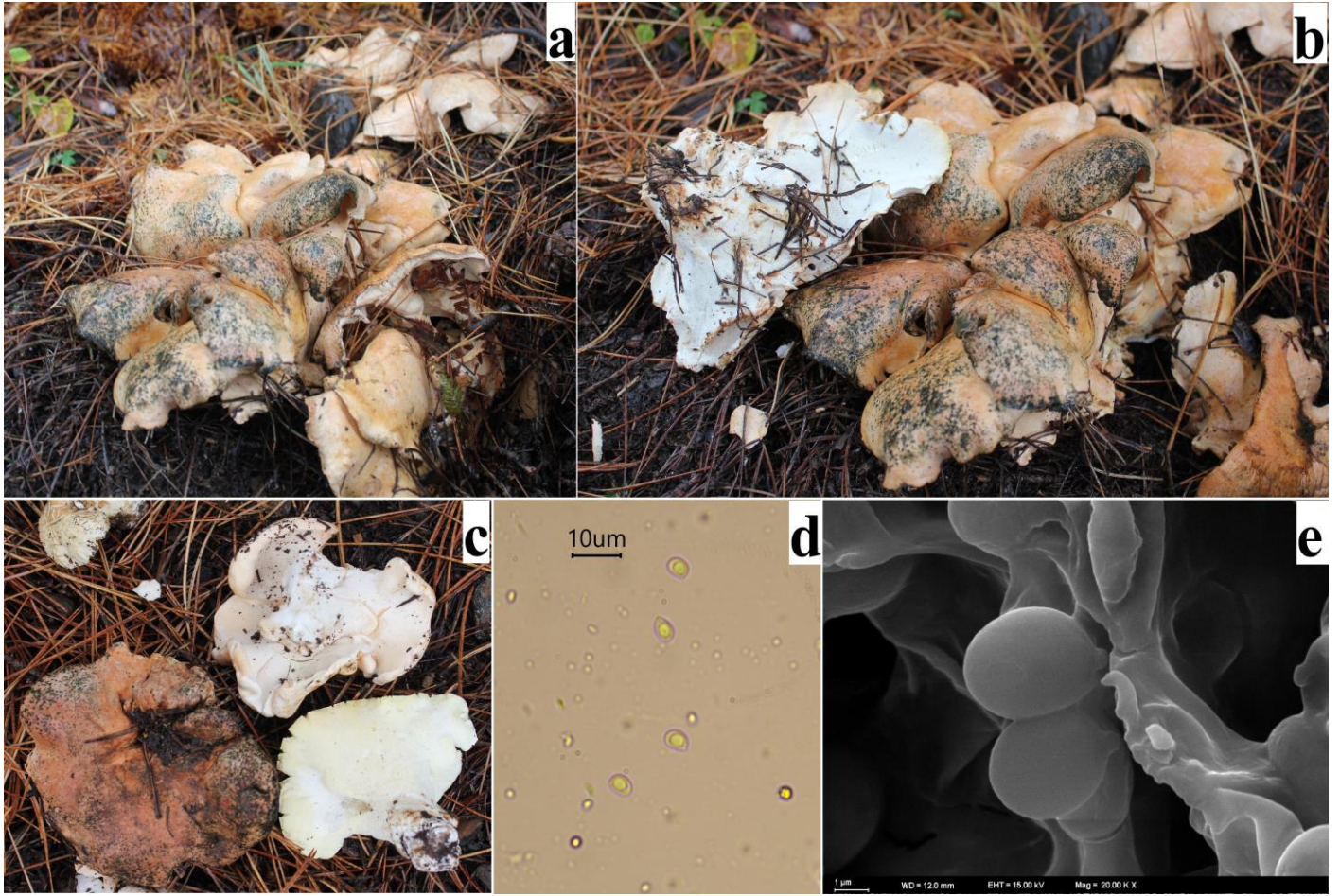


Figure 1. *Albatrellopsis flettii*: a-c fruit bodies, d. spores viewed under a light microscope (LM), e. spores viewed by a scanning electron microscope (SEM).

Şekil 1. *Albatrellopsis flettii*: a-c fruktifikasyon organları, d. sporların ışık mikroskobu (LM) altındaki görünümü, e. sporların taramalı elektron mikroskobundaki (SEM) görünümü.

As a result of the phylogenetic analysis, four apparent clades were come out along with an outgroup (Figure 2). While the clade 1 included different isolates of *Albatrellopsis flettii* and the specimen ANK DNZ 023, the Clades 2, 3, and 4 contained species from the genera *Albatrellus*, *Leucogaster*, and *Jahnoporus* respectively. On the other side, *Russula delica* and *Lactarius salmonicolor* fell into a distinct branch separate from the ingroup species and formed an outgroup as predicted. The BLAST analysis implemented with the nuclear ITS rDNA sequence of ANK DNZ 023 revealed identity rates as high as 99.3 % between the specimen and different isolates of *A. flettii*. The phylogenetic analyses performed herein, further strengthen the close identity relationship of this specimen with *A. flettii* with a high bootstrap value.

## DISCUSSION

The distinct characteristics of *A. flettii* are bluish-

green pileus developing dingy ochraceous, rusty stains in age, apricot or salmon-colored pores, clamped hyphae, small and weakly amyloid basidiospores. The species may be confused with *Albatrellus confluens* in terms of its morphology and ecology. Like the former species, the latter has up to 20 cm broad pileus, small and amyloid basidiospores and grow under conifers but the former can easily be separated from the latter by including blue tint on its pileus (Zeng et al., 2004; Zheng and Liu, 2008; Audet, 2010).

For the precise identification of fungal species, conventional methods that relied on morphological data may not be always sufficient. For this reason, conserved regions of genomic DNA including nrITS, nrSSU, and nrLSU as well as sequences of protein-coding genes are utilized for molecular taxonomic studies for the last few decades (Raja et al., 2017). Besides, ITS is the most generally used DNA barcoding marker for fungi and thus confers precious information for molecular phylogenetic studies. Therefore, we



employed nuclear ITS rDNA sequences for the molecular identification of ANK DNZ 023. Nuclear ITS rDNA-based molecular phylogeny exhibited almost

100% identity between *A. flettii* and the specimen (GenBank ID: MT253103.1) (Figure 2).

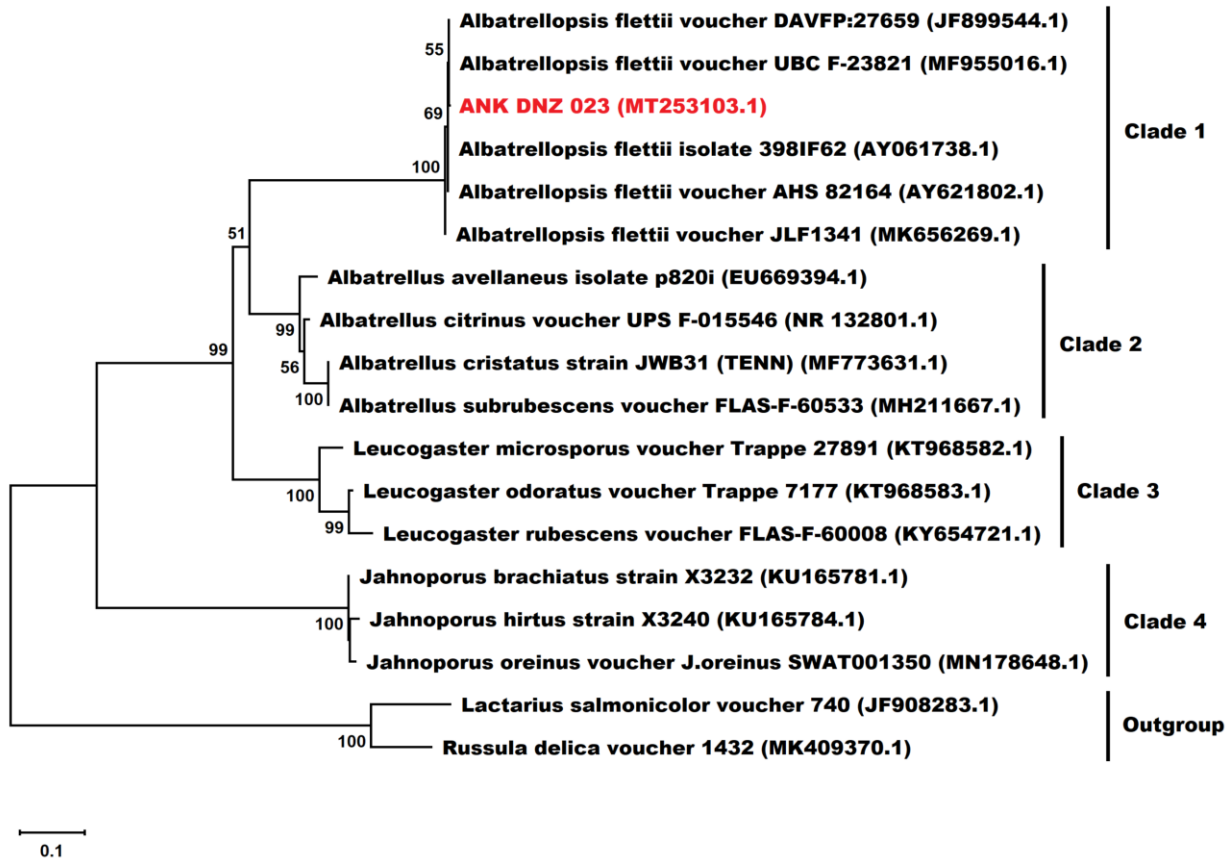


Figure 2. The Maximum Likelihood tree revealing the phylogenetic relationships of 18 fungi estimated from the nuclear ITS rDNA region. Percentage bootstrap values ( $\geq 50$ ) were indicated for each branch. All of the sequences included in the phylogenetic analysis were retrieved from GenBank except for ANK DNZ 023. *Russula delica* and *Lactarius salmonicolor* were included as the outgroup samples in the phylogenetic analysis. GenBank accession numbers are also given. The scale bar (lower left) represents a genetic distance of 0.11.

Şekil 2. Çekirdek ITS rDNA bölgelerine göre tahmin edilen, 18 mantarın filogenetik ilişkilerini ortaya koyan en olası ağaç. Her dal için, yüzde önyükleme değerleri ( $\geq 50$ ) belirtilmiştir. ANK DNZ 023 hariç filogenetik analize dahil edilen tüm diziler GenBank'tan alınmıştır. *Russula delica* ve *Lactarius salmonicolor* dış grup örnekleri olarak filogenetik analize dahil edilmiştir.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The current study was produced from the part of MSc Thesis of Deniz Altuntaş. The authors thank Muğla Sıtkı Koçman University Research Fund (project no:15/038) for its financial support.

#### Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

#### Contribution of the Authors as Summary

Authors declares the contribution of the authors is equal.

#### REFERENCES

- Audet S 2010. Essai de découpage systématique du genre *Scutiger* (Basidiomycota): *Albatrellopsis*, *Albatrellus*, *Polyporoletus*, *Scutiger* et description de six nouveaux genres. Mycotaxon 111(1): 431-464.
- Chen L, Cai Y, Zhou G, Shi X, Su J, Chen G, Lin K 2014. Rapid Sanger sequencing of the 16S rRNA gene for identification of some common pathogens. PloS one 9(2).
- Doğan HH, Öztürk C, Kaşık G, Aktaş S 2005. A Checklist of Aphyllophorales of Turkey. Pakistan Journal of Botany 37(2): 459-485.
- Felsenstein J 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution 39:783-

791.  
Index fungorum: [www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org); accessed 25 July 2020.
- Kimura M 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111-120.
- Kirk PF, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA 2008. *Dictionary of the fungi*, 10th ed. CAB International. Wallingford, UK, 771p.
- 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.
- 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.
- Rogers SO, Bendich, AJ 1994. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. In *Plant molecular biology manual*, Springer, Dordrecht, 183-190.
- Sesli E, Denchev CM 2008. Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey. *Mycotaxon* 106: 65-67.
- Stielow JB, Lévesque CA, Seifert KA, Meyer W, Irinyi L, Smits D, Renfurm R, Verkley GJM, Groenewald M, Chaduli D, Lomascolo A, Welti S, Lesage-Meessen L, Favel A, Al-Hatmi AMS, Damm U, Yilmaz N, Houbraken J, Lombard L, Quaedvlieg W, Binder M, Vaas LAI, Vu1 D, Yurkov A, Begerow D, Roehl O, Guerreiro M, Fonseca A, Samerpitak K, van Diepeningen AD, Dolatabadi S, Moreno LF, Casaregola S, Mallet S, Jacques N, Roscini L, Egidi E, Bizet C, Garcia-Hermoso D, Martín MP, Deng S, Groenewald JZ, Boekhout T, de Beer ZW, Barnes I, Duong TA, Wingfield MJ, de Hoog GS, Crous PW, Lewis CT, Hambleton S, Moussa TAA, Al-Zahrani HS, Almaghrabi OA, Louis-Seize G, Assabgui R, McCormick W, Omer G, Dukik K, Cardinali G, Eberhardt U, de Vries M, Robert V 2015. One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 35: 242-263.
- Zheng HD, Liu PG 2008. Additions to our knowledge of the genus *Albatrellus* (Basidiomycota) in China. *Fungal Diversity* 32: 157-170.
- Zheng HD, Liu PG, Wang XH, Yu FQ. 2004. Four new records in the genus *Albatrellus* (*Aphylophorales*, *Albatrellaceae*) from China. *Mycotaxon* 90(2): 291-299.





## A New Myxomycetes record (Myxogastria) from Turkey: *Didymium listeri* Masee

Hayri BABA<sup>1\*</sup>, Mustafa SEVİNDİK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Science and Art, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey, <sup>2</sup>Department of Food Processing, Bahçe Vocational School, Osmaniye Korkut Ata University, Osmaniye, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-1837-4321>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-7223-2220>

✉: hayribaba@mku.edu.tr

### ABSTRACT

Myxomycetes called Plasmodial slime moulds, or true slime molds are eukaryotic microorganisms. They live in a variety of ecosystems. Genus *Didymium* Schrad. (family Didymiaceae) is a myxomycete taxon containing calcareous peridia (order Physarida) and non-calcareous capillitium. *Didymium listeri* Masee were recorded in this study for the first time from Turkey. *D. listeri* sporocarp was found in the laboratory by moist chamber culture. In addition, the description, distribution, photograph and identification key of the taxon were presented.

### Research Article

#### Article History

Received : 13.10.2020  
Accepted : 24.11.2020

#### Keywords

Biodiversity  
Didymium  
Myxogastria  
New record  
Turkey

## Türkiye'den Yeni Bir Myxomycetes Kaydı (Myxogastria): *Didymium listeri* Masee

### ÖZET

Plasmodial cıvık mantarlar veya gerçek cıvık mantarlar olarak adlandırılan miksomisetler ökaryotik mikroorganizmalardır. Çeşitli ekosistemlerde yaşarlar. *Didymium* Schrad cinsi (Didymiaceae familyası), kalkerli peridia (Physarida takımı) ve kireçsiz kapillitium içeren bir miksomiset taksonudur. *Didymium listeri* Masee Türkiye'den ilk kez bu çalışmada kaydedilmiştir. *D. listeri* sporokarpı nemli oda kültürü ile laboratuvarda elde edildi. Ayrıca bu çalışmada taksonun tanımı, dağılımı, fotoğrafı ve teşhis anahtarı sunulmuştur.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 13.10.2020  
Kabul Tarihi : 24.11.2020

#### Anahtar Kelimeler

Biyçeşitlilik  
Didymium  
Myxogastria  
Yeni kayıt  
Türkiye

**To Cite :** Baba H, Sevindik M 2021. A new Myxomycetes record (Myxogastria) from Turkey: *Didymium listeri* Masee. KSU J. Agric Nat 24 (4): 820-823. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.809864.

### INTRODUCTION

Overall, 93 species belonging to the *Didymium* genus species in the world (Lado 2020) including 25 species in Turkey were reported (Baba and Sevindik 2019; Baba and Sevindik 2020a; Baba et al., 2021a). This calcareous material, traditionally designated lime, varies somewhat in composition in the order Physarida, but is calcium carbonate in the Didymiaceae. Crystalline lime (as opposed to the granular lime seen in *Diderma* Pers. and *Physarina* Höhn.) is found in *Didymium* Schrad., *Mucilago* P. Micheli ex Adans. and *Lepidoderma* de Bary. This lime is scattered on the peridium or forms a crust (*Didymium* and *Mucilago*), or is united into distinct scales (*Lepidoderma*). *Didymium* (sporangial or plasmodiocarpic), is separated from *Mucilago* (aethalial) on the basis of sporocarp form (Clark and Haskins 2018). The peridium is the outer layer of the sporotheca. It is usually covered with stellate lime crystals, either in a loose powder or a compact smooth (eggshell) crust. There are also three basic subtypes of

peridia; areolate, non-areolate, and cartilaginous with only the cartilaginous subtype correlating directly with the hypothallus and stalk subtypes (Matsumoto 1999). The capillitial threads are thin. Hyaline is to brownish and run from the peridial basal plate (columella) to the upper peridial surface. Sporadic expansions and inclusions can occur in the capillitial threads. However, there are only regular and distinct variations such as vesicles in the *Didymium serpula* Fr. These features have taxonomic importance. The spores are globose (rarely ovoid), brownish, and ornamented. There are the variations in size, color and ornamentation within a species varying more than is generally stated (Martin and Alexopoulos 1969; Clark and Haskins 2018). The species of *Didymium* are often widely distributed. Generally, form sporocarps on leafy or woody litter in temperate and tropical forest. They are probably living in the soil and litter interface and feeding on the microorganisms in this habitat. Some species appear to have more restricted habitats, such as the bark of living trees, animal dung, desert plant

litter, or the litter and plants of the snow melt zones of snow packs (Ing 1994). *Didymium* genus has a rich variety of species, the most common, most cosmopolitan. It is one of the species with the greatest distribution in the world and Turkey.

## MATERIAL and METHOD

Myxomycete specimen was collected Hatay-Kırıkhan at 2019 (Figure 1). Field surveys for myxomycetes were conducted at various localities. Specimens of myxomycetes that had fruiting bodies in the field under nature conditions were collected. In addition, samples of dead plant material (forest floor litter, aerial litter, wood and bark from living trees) were obtained at a number of localities. All samples were used to prepare moist chamber cultures. Moist chamber cultures consisted of disposable plastic Petri dishes lined with filter paper. The sample material in each dish was moistened with distilled water. After a period of approximately 24 hours, excess water in each dish was removed. Cultures were kept at room temperature (24°C) in diffuse daylight (Baba et al., 2021b). Examined with a stereomicroscope on a regular basis for a period of up to two months in order to detect plasmodia or fruiting bodies. When necessary, a small amount of water was added to each culture to maintain moist conditions. Myxomycete plasmodia or fruiting bodies were noted and recorded. Each time the cultures were checked. All fruiting bodies were removed. Air-dried and glued in small pasteboard boxes for permanent storage. The samples were photographed and identified. Identification of Myxogastria was conducted with a light microscope and a stereomicroscope. In light microscopy, the capillitium, spore, shape, color, size, ornamentation, branching shape, features was observed. In stereomicroscope observation, fructification type, structure, shape, color, macroscopic measurements, lime color, and shape could be examined (Baba and Sevindik 2020b). Myxomycetes were identified using online resources, color atlases, and reference books (Martin and Alexopoulos 1969; Farr 1976; Thin 1977; Farr 1981; Martin et al 1983; Alexopoulos et al 1996; Lado and Pando 1997; Ing 1994; Neubert et al 1995; Ergül et al 2005a; Ergül et al 2005b; Ergül and Akgül 2011; Ergül et al 2016; Lado and Eliasson 2017; Baba et al 2018; Baba et al 2020a). Samples were arranged as fungarium material and kept in the Biology Department's laboratory of Mustafa Kemal University Hatay-Turkey.

## RESULTS

The taxon is listed below together with descriptions, habitats, localities, collection dates, distribution at world and comments (eumycetozoa.com).



Figure 1. Map of the study area  
Şekil 1. Çalışma alanının haritası

**Domain:** Eukarya

**Kingdom:** Protozoa

**Phylum:** Amoebozoa

**Subphylum:** Mycetozoa

1. Spores borne externally; fruiting bodies erect, simple or branched, white, sometimes pink or pale yellow columns; spores attached individually by thread-like stalks 1. **Classis: Protostelia**

1. Spores borne internally .....2  
2. Sporophore development is myxogastroid; can be stalked or sessile, can have capillitium and columella; there are calcareous nodes or calcareous internodes consisting of simple, branched, tubular strings; crystalline or granular lime deposits are mostly seen in sporophore or capillium .....

**2. Classis: Myxogastria**

**2.1.** Lime present in some part of the fruiting bodies; stalk, columella, capillitium or peridium; plasmodium type is Phaneroplasmodium; spores violaceous-brown, deep purplish brown to black ..... **Order Physarida**

1. Capillitium not have calcareous deposits, capillitial threads are black or dark; calcareous deposits, when present, affecting the peridium only and there are stellate lime crystals, or sometimes on the stipe ..... **Didymiaceae**

**A.** Peridium contains stellate or angular lime crystals, fructification mostly sporangiate, capillitium not calcareous; lime present as stellate or angular crystals over the peridium ..... **Didymium**

**a.** Fruiting bodies sessile, sporangium or plasmodiocarps; columella represented by a thickened

calcareous base to the myxocarp; peridium shell-like and fragile outer peridium and membranous inner peridium; capillitial threads is more rigid and profuse, longer and wider with transverse connections between two neighboring threads; spores completely warted-reticulate, paler, dingy lilac, violet-brown

*Didymium listeri*

*Didymium listeri* Massee

**Description:** Fruiting bodies sporangium or plasmodiocarps. Plasmodiocarp broad and flattened, sessile, pulvinate, compressed, in large, irregular, scattered patches 0.3-0.5 mm high, thick, 2-10 mm up to 15 mm long, white. Hypothallus inconspicuous or

obsolete. Peridium double, the outer layer white, with a thick powdery layer of stellate crystals, rather fragile, breaking away in irregular patches, eggshell-like, the inner layer a delicate membranous, colorless, adhering closely to the outer peridium. Columella represented by a thickened calcareous base to the myxocarp (sometimes absent). Capillitium abundant, of rigid, dark brown threads connected by transverse bars, often forming acute-angled dichotomies and connected by transverse bars, joined by pale tips to the peridium without free ends. Spore-mass blackish-brown. Spores globose dingy lilac, violet-brown, 8-11 µm diam., minutely roughened. Plasmodium watery white, 3-7 mm (Figure 2).

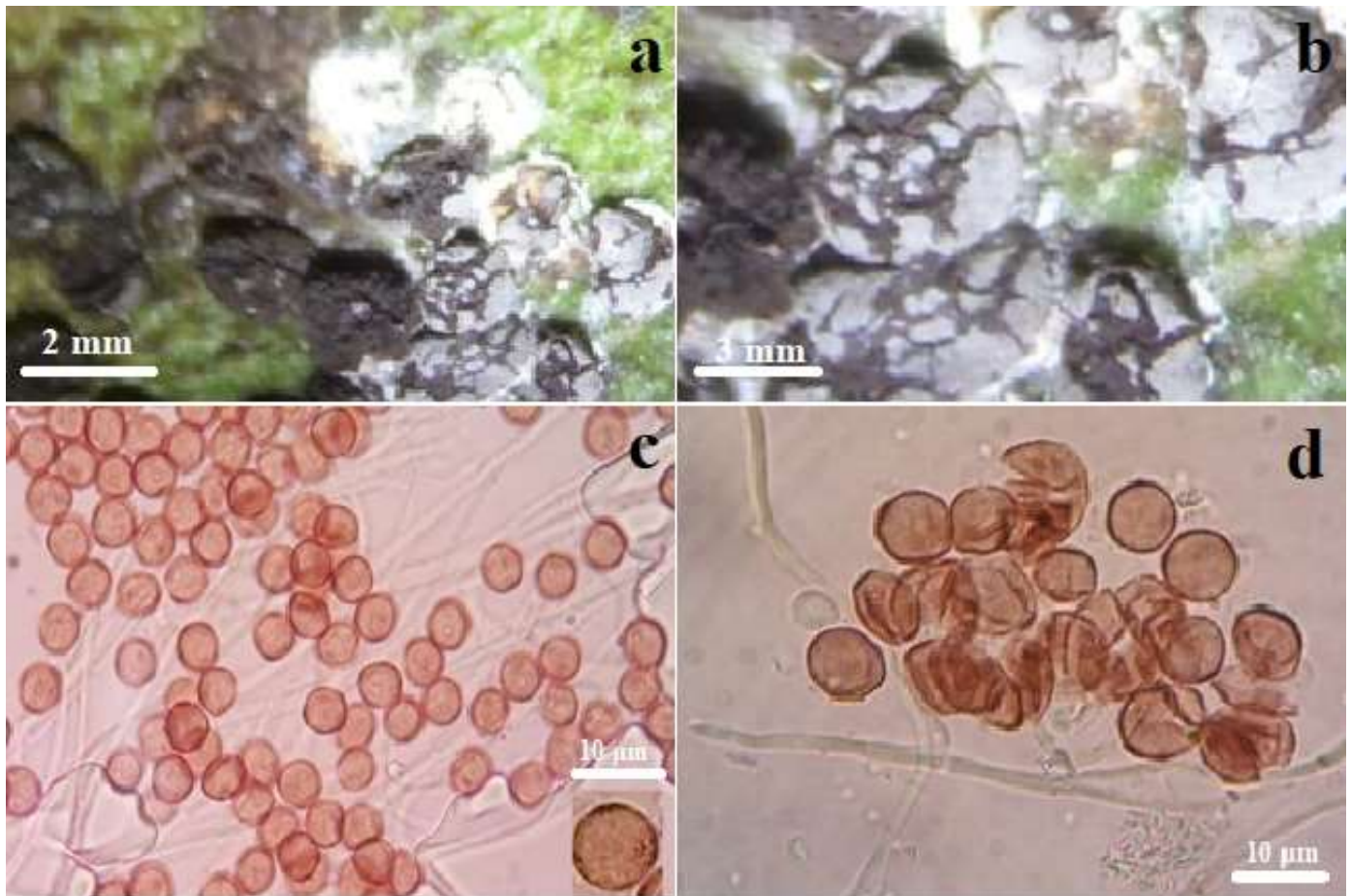


Figure 2. *Didymium listeri*; a,b: fruiting bodies; c,d: spores, lime crystals and capillitium  
Şekil 2. *Didymium listeri*; a,b: fruktifikasyon; c,d: sporlar, kireç kristalleri ve kapillitium

**Specimen examined:** Hatay, Kırıkhan Eşmişek plateau, rotting green leaves, 36° 55' 92" N; 36° 38' 06" E, 850 m, 15.01.2019, Baba 24.

**Distribution:** Austria, Costa Rica, England, Germany, India, Mexico, Pakistan, Switzerland and USA.

**Comments:** This species is characterized by its shell-like and fragile outer peridium. Columella consists of a thickened calcareous base. Capillitium more rigid and profuse, longer and wider with transverse connections between two neighboring threads. Spores are smaller, the surface is completely warted-

reticulate.

**DISCUSSION**

With this study a new Myxomycetes record was added to Turkey Myxobiota and previously known 287 Mycetozoa number (Baba and Sevindik, 2019; Baba et al., 2020b) now increased to 288.

*D. listeri* resembles to *D. dubium* Rostaf., but quite distinct in the copiously anastomosing threads of the capillitium which are entirely destitute of free, curved, spinelike branches, distinguished by its lack of



capillitial elasticity, the presence of a firm peridium composed of closely aggregated crystals and smaller paler and less warty spores (Masse, 1892).

*D. listeri* and *D. difforme* (Pers.) Gray have some features in common; sessile, shell-like and fragile outer peridium and membranous inner peridium. However, they have some differences. In *D. listeri* capillitial threads is more rigid and profuse, longer and wider with transverse connections between two neighboring threads, while the capillitial threads of *D. difforme* are usually very short, slender, usually dichotomously branched, sparse and scattered in spore mass, sometimes nearly lacking. Spores of *D. listeri* are smaller, the surface is completely warted-reticulate in contrast to the warted to subreticulate spore surface markings of *D. difforme*. (Liu and Chen, 1998).

### Statement of Conflict of Interest

Author have declared no conflict of interest.

### Author's Contributions

The contribution of the authors are equal.

### REFERENCES

- Alexopoulos CJ, Mims CW, Blackwell M 1996. Introductory Mycology, 4.th Edition, John Wiley and Sons Inc., New York.
- Baba H, Gelen M, Sevindik M 2018. Taxonomic investigation of myxomycetes in Altınözü, Turkey. Mycopath 16(1): 23-31.
- Baba H, Sevindik M 2019. Mycetozoa of Turkey (checklist). Mycopath 17(1): 1-14.
- Baba H, Sevindik M 2020a. Myxomycetes of Eşmişek Plateau (Kırıkhan-Hatay). KSU J. Agric Nat 23(4): 917-923.
- Baba H, Sevindik M 2020b. Mycetozoa of Turkey, 1.th edition, Nobel publication, Ankara Turkey
- Baba H, Sevindik M, Dogan M, Akgül H 2020a. Antioxidant, antimicrobial activities and heavy metal contents of some Myxomycetes. Fresenius Environmental Bulletin 29 (09): 7840-7846
- Baba H, Er A, Sevindik M 2020b. Myxomycetes diversity of Belen region of Hatay province (Turkey). KSU J. Agric Nat 20(2): 86-96.
- Baba H, Gündoğdu F, Sevindik M 2021a. Myxomycetes biodiversity in Gaziantep Province (Turkey) with four new records. Phytotaxa 478(1): 105-118.
- Baba H, Altaş B, Sevindik M, 2021b. Myxomycetes Diversity of Batman Province and Hasankeyf District. KSU J. Agric Nat 24 (2): 435-441.
- Clark J, Haskins EF 2018. A taxonomic guide to the species of *Didymium* (Didymiaceae, Physarales, Myxomycetes) I. The stipitate species. Asian Journal of Mycology 1(1): 22-62.
- Ergül CC, Akgül H 2011. Myxomycete diversity of Uludağ national park, Turkey. Mycotaxon 116(479): 1-16.
- Ergül CC, Akgül H, Oran RB 2016. New records of Mycetozoa taxa from Turkey. Oxidation Communications 39(2): 1615-1623.
- Ergül CC, Dulger B, Akgül H 2005a. Myxomycetes of Mezit stream valley of Turkey. Mycotaxon 92: 239-242.
- Ergül CC, Dulger B, Oran RB, Akgül H 2005b. Myxomycetes of the western Black Sea region of Turkey. Mycotaxon 93: 269-272.
- Farr ML 1976. Flora Neotropica. Monograph No:16. N.Y. Bot. garden, USA.
- Farr ML 1981. True Slime Molds. Wm. C. Brown Comp., Dubuque Iowa.
- Ing B 1994. Tansley review No. 62. The phytosociology of Myxomycetes. New Phytology 126: 175-201.
- Lado C 2020. An on line nomenclatural information system of Eumycetozoa. Real Jardín Botánico, CSIC. Madrid, Spain. Last updated September 25, 2020. <http://www.nomen.eumycetozoa.com>.
- Lado C, Eliasson UH 2017. Taxonomy and Systematics: Current knowledge and approaches on the taxonomic treatment of Myxomycetes. Myxomycetes: Biology, Systematics, Biogeography, and Ecology. Royal Botanic Garden (CSIC), Madrid, Spain.
- Lado C, Pando F 1997. Flora Mycologica Iberica, Vol. 2. CSIC, Madrid, Spain.
- Liu CH, Chen, YF 1998. Myxomycetes of Taiwan X. Three new records of *Didymium*. Taiwania 43: 177-184.
- Martin GW, Alexopoulos CJ 1969. The Myxomycetes. University of Iowa press, Iowa City, USA.
- Martin GW, Alexopoulos CJ, Farr ML 1983. The Genera of Myxomycetes. Univ. of Iowa Pres., Iowa City, USA.
- Masse G 1892. A Monograph of the Myxogastres. 244 Bury Street London.
- Matsumoto J 1999. Taxonomic studies of the genus *Didymium* (Physarales, Myxomycetes). Ph.D. Dissertation, Hiroshima University, Hiroshima.
- Neubert H, Nowotny W, Baumann K 1995. Die Myxomyceten Deutschlands und des angrenzenden Alpenraumes unter besonderer Berücksichtigung Österreichs. Band 2: Physarales. Gomaringen.
- Thind KS 1977. The Myxomycetes of India. I.C.A.R., New Delhi, India.



## Diversification of Sexual Size Dimorphism in *Cyclops vicinus*

Ahmet BOZKURT<sup>1\*</sup>, Mehmet Fatih CAN<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Iskenderun Technical University, Marine Sciences and Technology Faculty, 31200, Iskenderun, Hatay, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-6673-550X>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-3866-2419>

✉: ahmet.bozkurt@iste.edu.tr

### ABSTRACT

The aim of this study was to qualify the sexual size dimorphism at the both inter and intra-population levels of a copepod species, *Cyclops vicinus*, populations living in a small-scale geographical range. Sexual size dimorphism is evaluated by the ratio of female to male total length. But, to deep insight into sexual size dimorphism we assumed that the more difference between same measurements on the body from different sexes lead to more sexual dimorphism rate. The samples were taken from four water sources locating east and south-east part of Turkey. The significant inter and intra population differences were detected. The thorax width related measurements (mostly) and abdomen length had the most effective ones with changing order in the different populations on the sexual size dimorphism. Pearson correlation coefficients ( $r$ ) showed that there were strong positive relationships between sexual dimorphism rate and predator presence ( $r = 0.88$ ) and water volume of lake ( $r=0.72$ ), while a moderate negative relationship both with water depth ( $r= -0.50$ ) and with lake area ( $r= -0.45$ ).

### Research Article

#### Article History

Received : 13.11.2020

Accepted : 29.12.2020

#### Keywords

Dimorphism

Copepod

*Cyclops vicinus*

## *Cyclops vicinus*'ta Cinsel Büyüklük Farklılaşması

### ÖZET

Bu çalışmanın amacı, bir kopepod türü olan *Cyclops vicinus*'un, küçük ölçekli bir coğrafi aralıkta yaşayan popülasyonların hem popülasyon içi hem de popülasyonlar arası düzeylerinde eşeyssel boyut dimorfizmini nitelendirmektir. Cinsel büyüklük dimorfizmi, dişi / erkek toplam uzunluğunun oranı ile değerlendirilir. Ancak, cinsel boyut dimorfizmi hakkında derinlemesine bir kavrayışa sahip olmak için, farklı cinsiyetlerden vücutta aynı ölçümler arasındaki daha fazla farkın daha fazla cinsel dimorfizm oranına yol açtığını varsaydık. Örnekler, Türkiye'nin doğu ve güneydoğusundaki dört su kaynağından alınmıştır. Popülasyon içi ve popülasyonlar arası önemli farklılıklar tespit edildi. Göğüs genişliği ile ilgili ölçümler (çoğunlukla) ve karın uzunluğu, cinsel boyut dimorfizminde farklı popülasyonlarda değişen sıra ile en etkili olanlara sahipti. Pearson korelasyon katsayıları ( $r$ ), eşeyssel dimorfizm oranı ile avcı varlığı ( $r = 0.88$ ) ve gölün su hacmi ( $r = 0.72$ ) arasında güçlü pozitif ilişkiler olduğunu gösterirken, hem su derinliği ( $r = -0.50$ ) hem de göl alanıyla ( $r = -0.45$ ) orta derecede negatif bir ilişki olduğunu göstermiştir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 13.11.2020

Kabul Tarihi : 2.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

Dimorphism

Copepod

*Cyclops vicinus*

**To Cite :** Bozkurt A, Can MF 2021. Diversification of Sexual Size Dimorphism in *Cyclops vicinus*. KSU J. Agric Nat 24 (4): 824-833. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.825506.

### INTRODUCTION

Sexual size dimorphism (SSD) is a widespread phenomenon among animal groups (Fairbairn 1997; Blanckenhorn 2005) including the Copepoda, which are the most abundant metazoans on Earth (Humes 1994), and play an important role in aquatic food webs. Planktonic copepods show sexually dimorphic traits, in that their males are generally smaller than females

(Gilbert and Williamson 1983; Ohtsuka and Huys 2001; van Someren Gréve et al. 2017).

The higher relative size of female copepods may reflect their greater role in reproduction and posterity, especially in species that carry eggs during their development (Gilbert and Williamson 1983). Large females are more fertile (Corkett and McLaren 1969; Maly 1983), but may mature more slowly than small

females or males (Gilbert and Williamson 1983; Nishikawa and Maly 1996). Some females stock most of the energy for breeding during their development, so the adult female final size represents the maximum potential resource base that can be invested in reproduction (Gilbert and Williamson 1983). Mate location and recognition are essentially asymmetrical processes in the reproductive biology of copepods. The male is the active partner during these phases and its primary role is to locate and catch a largely passive female partner. Consequently, males are adapted for its locating role and its success can be enhanced through signals provided by the female. This behavioural asymmetry may have led to the evolution of sexual dimorphism in copepods. Sexually dimorphic appendages and structures are engaged in (1) mate recognition by males; (2) capture of the female by the male; (3) transfer and attachment of a spermatophore to the female by the male; (4) removal of discharged spermatophore(s) by the female; and (5) fertilization and release of the eggs by the female (Blades 1977; Blades and Youngbluth 1979; Jacoby and Youngbluth 1983; Vaupel Klein 1998).

Some authors have found that low food availability can reduce the length of males, which may enhance food availability for females (Maly 1978; Gilbert and Williamson 1983). The strongest dimorphism is found in species that occur exclusively in temporary waters, in which harsh environmental conditions limit species richness and thus interspecific competition (Bayly 1978). In such conditions, prominent sexual dimorphism may improve resource use by allowing access to an exceptionally wide range of particle sizes (Garcia et al. 2013).

Table 1. Some features of studied locations

Çizelge 1. Çalışılan lokasyonların bazı özellikleri

Features	Keban Dam Lake	Dam	Tahtaköprü Dam Lake	Mehmetli Dam Lake	Yalıntaş Dam Lake
Altitude	822 m		398 m	186 m	1079 m
Water depth	160 m		35 m	40 m	13 m
Surface Area	675 km <sup>2</sup>		23.40 km <sup>2</sup>	2.75 km <sup>2</sup>	0.80 km <sup>2</sup>
Volume	31 000 hm <sup>3</sup>		200,00 hm <sup>3</sup>	53 hm <sup>3</sup>	10 hm <sup>3</sup>
Temperature (mean ± Sd, in Celsius)	15.9 ±4.77		18.08 ±4.25	18.8± 4.47	15.25 ±4.27

#### Assumption on sexual size dimorphism rate

Generally, level of sexual dimorphism is evaluated by the ratio of female to male length (Anufriieva and Shadrin 2014). But in this study, instead of ratio, we used difference between female and male for both each measurements and overall body size. Therefore, mathematically we can assume that the more difference between male and female measurements lead to more sexual dimorphism rate.

#### Morphological measurements

Fifteen measurements or distances on Copepod body

This research was mainly focused to qualify the different measurements taken from the body on the sexual size dimorphism at the both inter and intra-population levels of a copepod species, *Cyclops vicinus*, populations living in a small scale geographical range. Eventually, this approach would be highlighted the major distance/distances on the body that contribute the diversification of sexual size dimorphism of that species. Also, we wanted to evaluate the relationships of some properties of water resources and overall sexual size dimorphisms.

#### MATERIALS AND METHODS:

##### Sampling

*C. vicinus* specimens were sampled from four water sources located in the east and south-east part of Turkey: Keban Dam Lake (38° 49' 44.63" N – 39° 17' 24.22" E), Mehmetli Dam Lake (37° 30' 28.25" N-36° 01' 12.57" E), Tahtaköprü Dam Lake (36° 52' 03.51" N – 36° 41' 16.84" E), and Yalıntaş Dam Lake (38° 40' 21.83" N 34° 20' 07.03" E) with horizontal and vertical draws by using 60 µm mesh sized plankton net, during the 12 months of 2005 and 2006.

All specimens were placed into glass jars, fixed with 4% formaldehyde, then transferred into ethanol. Sampled specimens were examined, counted and measured using an Olympus CH40 microscope and a micrometric ocular. Borutski (1963), Scourfield and Harding (1966), Dussart (1969), and Kiefer and Fryer (1978) were used to identify the zooplankton specimens. Temperature (°C) was measured in the field with a thermometer and a YSI 52 model oxygen meter. Some features of sampling locations were given in Table 1.

were taken using a binocular microscope to the nearest 0.01 mm at a magnification of 10x and 40x according to the Böttger-Schnack (1989) (Figure 1: Table 2). For each location 20 female and 10 male specimen were considered to measure.

#### Data Analysis

Before starting main data analysis, every measurement was checked for outliers and missing values by simply plotting the data as xy pairs. To reduce size effects in morphological analyses, the model proposed by Elliott et al. (1995) was used to

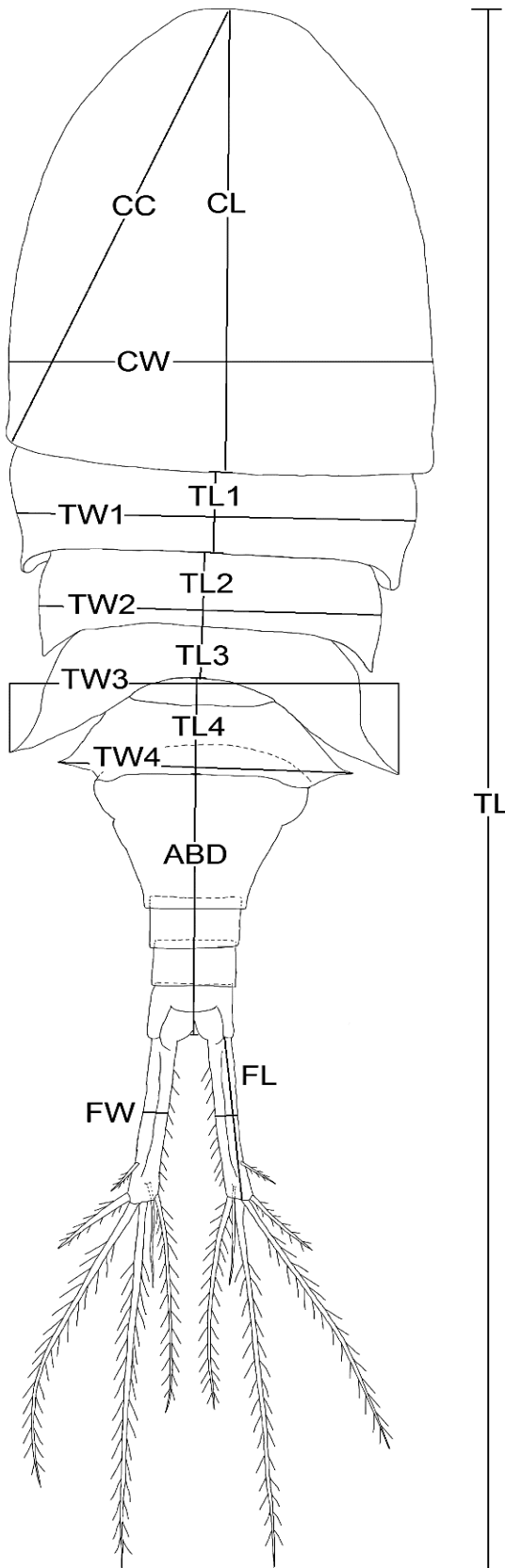


Figure 1. Measurement applications on the body of *Cyclops vicinus*

Şekil 1. *Cyclops vicinus*'un gövdesindeki ölçüm uygulamaları

Table 2. Measured distances (measurements) on the body with their corresponding abbreviations.

Çizelge 2. Vücut üzerinde ölçülen mesafelere (ölçümler) karşılık gelen kısaltmalarıyla birlikte.

Measured Distance (measurement)	Abbreviation
Cephalozom Length	CL
Cephalozom-Cross	CC
Cephalozom- Width	CW
Thorax-1- Width	TW1
Thorax-1- Length	TL1
Thorax-2- Width	TW2
Thorax-2- Length	TL2
Thorax-3- Width	TW3
Thorax-3- Length	TL3
Thorax-4- Width	TW4
Thorax-4- Length	TL4
Abdomen	ABD
Furca- Width	FW
Furca- Length	FL
Total Length	TL

removes the size component from the shape measurements (allometry). Due to sexual dimorphism, standardization was applied for both sexes separately. The model is defined by the following equation:

$$Ms = Mo \left[ \frac{Ls}{Lo} \right]^b$$

Where Ms = standardized measurement, Mo = measured character length (mm), Ls = overall (arithmetic) mean standard length (mm) for all individuals from all populations of each sex, Lo = standard length (mm) of specimen, and "b" was estimated for each character from the observed data using the non-linear equation,  $M = a L^b$ .

Forest plot, t-test, hierarchical clustering routine, correlation analysis and SIMPER (Similarity Percentage) analysis were used to evaluate the inter and intra-population diversity in the sexual size dimorphisms of both each measurements and overall size. Forest plots and Student t-test were used to display and to compare the differences of each measurements and overall size of sexes in every populations, respectively.

Pearson correlation coefficient (r) was used to assess relationships between sexual dimorphism versus other factors such as altitude, depth, volume, surface area, mean temperature, and predator presence of each locations. Cosine similarity distance indices was used for assessing similarity/dissimilarity among the populations (Clarke 1993).

All calculations and statistical analysis were conducting using MS Excel and PAST software (PAleontologicalSTatistics, Version 3.20) (Hammer et al. 2001).

## RESULTS

The mean ( $\pm$ SD) of the standardized measurements to total length of *C. vicinus* specimen by sexes from different sampling locations and the differences in

mean standardized measurement between sexes (female-male) with their significance level (based on t-test for 5 % significance level) were given in Figure 2 and Table 3.

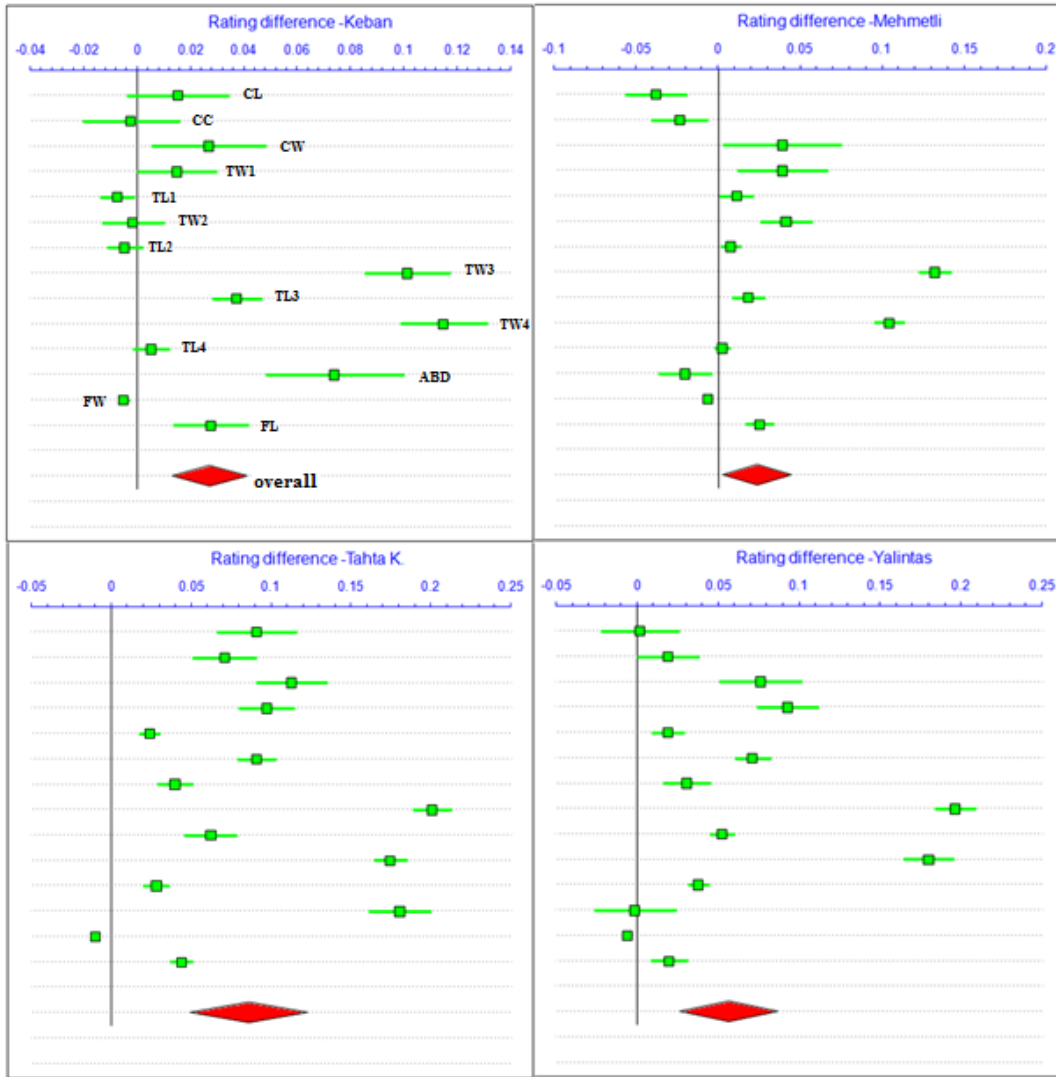


Figure 2. Difference in mean standardized measurement between sexes (female-male) for each measurements from sampling locations. Squares with horizontal bars show mean difference and their confident limits for each measurements, respectively (Top one shows CL, and bottom one shows FL measurement in accordance with Table 2). Diamonds show overall differences with confident limits between female and male. Zero point on the top horizontal axes shows testing of Null hypothesis against the  $\mu = 0$  at 5 % significance level.

Şekil 2. Örnekleme yerlerinden alınan her ölçüm için cinsiyetler (dişi-erkek) arasındaki ortalama standartlaştırılmış ölçümdeki fark. Yatay çubuklu kareler, sırasıyla her ölçüm için ortalama farkı ve bunların sırdışlık limitlerini gösterir (Üstteki CL'yi ve alttaki Tablo 2'ye göre FL ölçümünü gösterir). Elmaslar, dişi ve erkek arasındaki sırdışlık sınırlarıyla genel farklılıkları gösterir. En üst yatay eksen üzerindeki sıfır noktası, %5 anlamlılık düzeyinde  $\mu = 0$ 'a karşı Sıfır hipotezinin test edildiğini gösterir.

Intra-population level: In Keban Dam Lake population, 6 out of 14 measurements (in descending order: TW4>TW3>ABD> and so on) were represented very strong significant (\*\*\*,  $p < 0.05$ ) sexual dimorphism on behalf of female specimen. Three (CW>TW1>TL1) were suggestive significance (\*), and

five (CL, CC, TW2 and so on) were non-significant ( $p > 0.05$ ). In Mehmetli Dam Lake population, 7 measurements (TW3>TW4>TW2 and so on) were very strong (\*\*\*), 2 (CC>TW1) were moderate (\*\*), 4 (CW>TL1>TL2>ABD> and so on) were suggestive (\*), and one (TL4) was non-significance ( $p < 0.05$ ).



Table 3. The mean ( $\pm$ SD) of the standardized measurements to total length of *C. vicinus* specimen by sexes from different sampling locations and the differences in mean standardized measurement between sexes (female-male) with their significance level (based on t-test for 5 % significance level).

*Çizelge 3. Farklı örnekleme yerlerinden cinsiyetlere göre C. vicinus numunesinin toplam uzunluğuna standartlaştırılmış ölçümlerin ortalaması ( $\pm$  SD) ve cinsiyetler (dişi-erkek) arasındaki ortalama standartlaştırılmış ölçümdeki farklılıklar (t- % 5 anlamlılık düzeyi için test).*

	KEBAN DAM LAKE			MEHMETLI DAM LAKE			TAHTAKÖPRÜ DAM LAKE			YALINTAS DAM LAKE		
	Female (mean $\pm$ SD)	Male (mean $\pm$ SD)	Sig.	Female (mean $\pm$ SD)	Male (mean $\pm$ SD)	Sig.	Female (mean $\pm$ SD)	Male (mean $\pm$ SD)	Sig.	Female (mean $\pm$ SD)	Male (mean $\pm$ SD)	Sig.
CL	0.747 $\pm$ 0.027	0.732 $\pm$ 0.015	ns	0.718 $\pm$ 0.027	0.756 $\pm$ 0.011	***	0.766 $\pm$ 0.030	0.675 $\pm$ 0.032	***	0.739 $\pm$ 0.027	0.737 $\pm$ 0.036	ns
CC	0.769 $\pm$ 0.026	0.771 $\pm$ 0.010	ns	0.747 $\pm$ 0.025	0.771 $\pm$ 0.011	**	0.786 $\pm$ 0.025	0.715 $\pm$ 0.025	***	0.782 $\pm$ 0.024	0.763 $\pm$ 0.025	ns
CW	0.564 $\pm$ 0.028	0.537 $\pm$ 0.023	*	0.539 $\pm$ 0.047	0.500 $\pm$ 0.040	*	0.589 $\pm$ 0.025	0.476 $\pm$ 0.032	***	0.615 $\pm$ 0.030	0.539 $\pm$ 0.036	***
TW1	0.507 $\pm$ 0.021	0.492 $\pm$ 0.009	*	0.511 $\pm$ 0.034	0.472 $\pm$ 0.037	**	0.554 $\pm$ 0.022	0.457 $\pm$ 0.021	***	0.583 $\pm$ 0.026	0.490 $\pm$ 0.016	***
TL1	0.145 $\pm$ 0.008	0.153 $\pm$ 0.008	*	0.175 $\pm$ 0.015	0.164 $\pm$ 0.007	*	0.182 $\pm$ 0.009	0.158 $\pm$ 0.005	***	0.190 $\pm$ 0.014	0.171 $\pm$ 0.009	***
TW2	0.422 $\pm$ 0.017	0.424 $\pm$ 0.008	ns	0.437 $\pm$ 0.016	0.395 $\pm$ 0.027	***	0.465 $\pm$ 0.014	0.374 $\pm$ 0.015	***	0.496 $\pm$ 0.014	0.424 $\pm$ 0.012	***
TL2	0.151 $\pm$ 0.008	0.156 $\pm$ 0.006	ns	0.163 $\pm$ 0.007	0.155 $\pm$ 0.009	*	0.189 $\pm$ 0.012	0.149 $\pm$ 0.015	***	0.208 $\pm$ 0.022	0.177 $\pm$ 0.005	***
TW3	0.432 $\pm$ 0.017	0.331 $\pm$ 0.025	***	0.450 $\pm$ 0.012	0.318 $\pm$ 0.013	***	0.502 $\pm$ 0.015	0.301 $\pm$ 0.013	***	0.522 $\pm$ 0.018	0.325 $\pm$ 0.011	***
TL3	0.195 $\pm$ 0.011	0.157 $\pm$ 0.013	***	0.186 $\pm$ 0.012	0.168 $\pm$ 0.013	***	0.219 $\pm$ 0.024	0.157 $\pm$ 0.011	***	0.235 $\pm$ 0.009	0.182 $\pm$ 0.009	***
TW4	0.361 $\pm$ 0.023	0.246 $\pm$ 0.011	***	0.338 $\pm$ 0.011	0.234 $\pm$ 0.012	***	0.409 $\pm$ 0.015	0.235 $\pm$ 0.007	***	0.443 $\pm$ 0.023	0.263 $\pm$ 0.008	***
TL4	0.095 $\pm$ 0.005	0.089 $\pm$ 0.013	ns	0.090 $\pm$ 0.006	0.087 $\pm$ 0.006	ns	0.109 $\pm$ 0.011	0.081 $\pm$ 0.009	***	0.118 $\pm$ 0.007	0.080 $\pm$ 0.010	***
ABD	0.754 $\pm$ 0.037	0.680 $\pm$ 0.021	***	0.712 $\pm$ 0.021	0.733 $\pm$ 0.019	*	0.723 $\pm$ 0.027	0.543 $\pm$ 0.016	***	0.715 $\pm$ 0.031	0.716 $\pm$ 0.034	ns
FW	0.034 $\pm$ 0.002	0.039 $\pm$ 0.002	***	0.038 $\pm$ 0.002	0.044 $\pm$ 0.001	***	0.037 $\pm$ 0.002	0.047 $\pm$ 0.001	***	0.037 $\pm$ 0.002	0.043 $\pm$ 0.002	***
FL	0.278 $\pm$ 0.019	0.250 $\pm$ 0.014	***	0.280 $\pm$ 0.012	0.255 $\pm$ 0.007	***	0.283 $\pm$ 0.009	0.239 $\pm$ 0.007	***	0.285 $\pm$ 0.012	0.265 $\pm$ 0.018	**
Overall:	0.027 (CL: 0.013-0.041) ***			0.023 (CL: 0.003-0.045) *			0.086 (CL: 0.049-0.122) ***			0.056 (CL: 0.026-0.086) ***		

ns: non-significant, \*: suggestive significant, \*\*: moderate sig., \*\*\*: very-strong sig., CL: Confidant limits at 5 % sig. level

In Tahtaköprü Dam Lake population all measurements were very strong significance (\*\*\*) , but the most ones were TW3>ABD>TW4. In Yalintas Dam Lake, 10 measurements (TW4>TW3>TW1> and so on) were very strong significance (\*\*\*) , one (FL) was moderate (\*\*), and 3 were non significance (CL, CC, ABD) (Table 3). The intra-population variability on sexual size dimorphism of populations in descending order was Tahtaköprü>Yalintas>Mehmetli>Keban (Figure 3). Mostly thorax width related (TW4, TW3, TW1) measurements, and secondly Abdomen length (ABD) had the most effective measurements with changing order in the different populations on the sexual size dimorphism (Table 3).

**Inter-Population Level**

The mean sexual size dimorphism rate of populations in descending order was Tahtaköprü>Yalintas>>Keban> Mehmetli (Figure 3). The overall sexual dimorphism rate in Keban, Tahtaköprü and Yalintaş were very significant (\*\*\*) , p<0.05), whereas in Mehmetli was suggestive (\*,

p<0.05). In addition, considering the overall difference between the measurements of female and male among the populations; only Tahtaköprü Dam Lake population was significantly difference (p<0.05) both from Keban and Mehmetli populations. Whereas, there were not significant differences among other populations (p>0.05) (Figure 3, Figure 4). The similarity among the populations were Keban-Mehmetli: 0.73, Keban-Tahtaköprü: 0.78, Keban-Yalintas: 0.76, Mehmetli-Tahtaköprü: 0.89, and Mehmetli-Yalintas: 0.88. (Table 4).

**Sexual Size Dimorphism Versus Some Variables:**

The relationship of sexual size dimorphism with some variables (surface area, volume, depth, altitude, predator presence of lake) were evaluated. Pearson correlation coefficient showed that there were strong positive relationships between sexual dimorphism rate and predator presence (r = 0.88) and water volume of lake (r=0.72), and moderate negative relationship with water depth (r= -0.50) and with lake area (r= -0.45) (Figure 5).

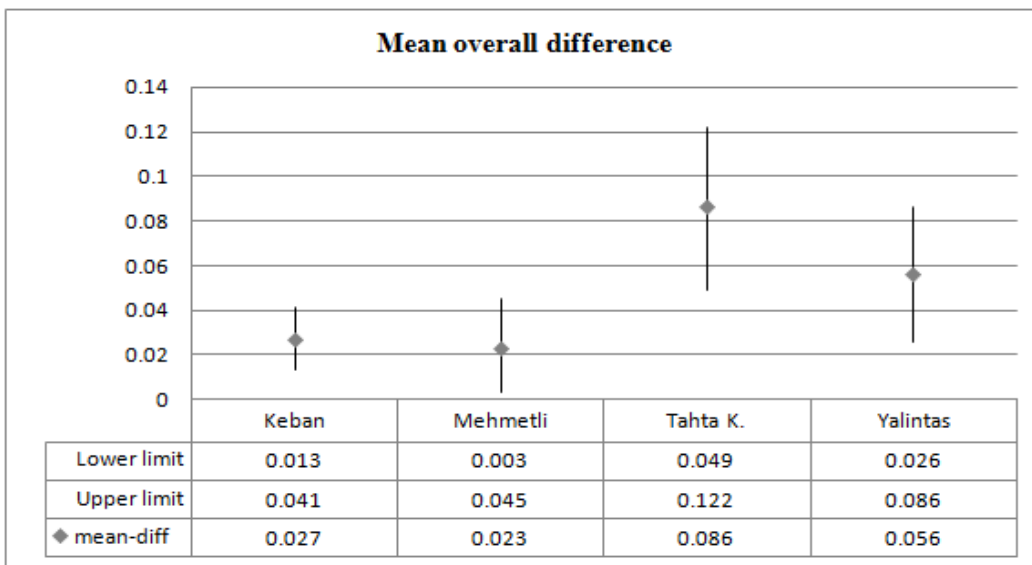


Figure 3. Mean overall difference between female and male specimen with their confidence limits by locations.  
 Şekil 3. Konumlara göre güven sınırları ile dişi ve erkek örnek arasındaki ortalama genel fark.

Table 4. The cosine similarity among the populations  
 Çizelge 4. Popülasyonlar arasındaki kosinüs benzerliği

Location	Keban Dam Lake	Mehmetli Dam Lake	Tahtaköprü Dam Lake	Yalintas Dam Lake
Keban Dam Lake	1.00	0.74	0.79	0.76
Mehmetli Dam Lake	0.74	1.00	0.89	0.79
Tahtaköprü Dam Lake	0.79	0.89	1.00	0.88
Yalintas Dam Lake	0.76	0.79	0.88	1.00

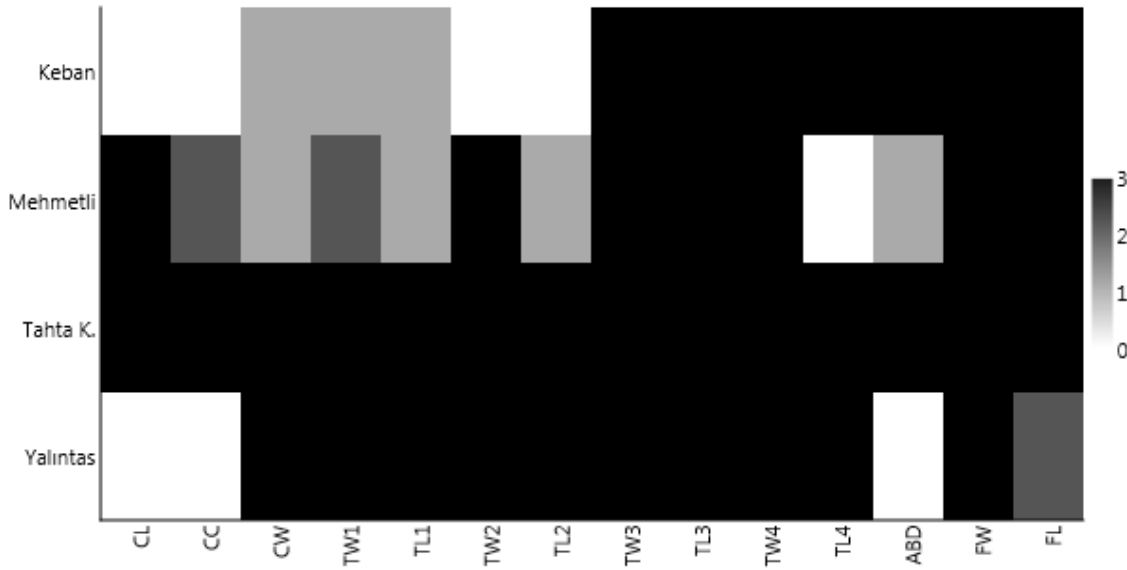


Figure 4. Significance level (3: very strong, 2: moderate, 1: suggestive, 0: non-significance, at  $\alpha=0.05$ ) for difference between each of the measurements of female and male by the populations.

Şekil 4. Popülasyonlar tarafından dişi ve erkek ölçümlerinin her biri arasındaki fark için anlamlılık seviyesi (3: çok güçlü, 2: orta, 1: anlamlı, 0: anlamlı olmayan,  $\alpha = 0,05$ ).

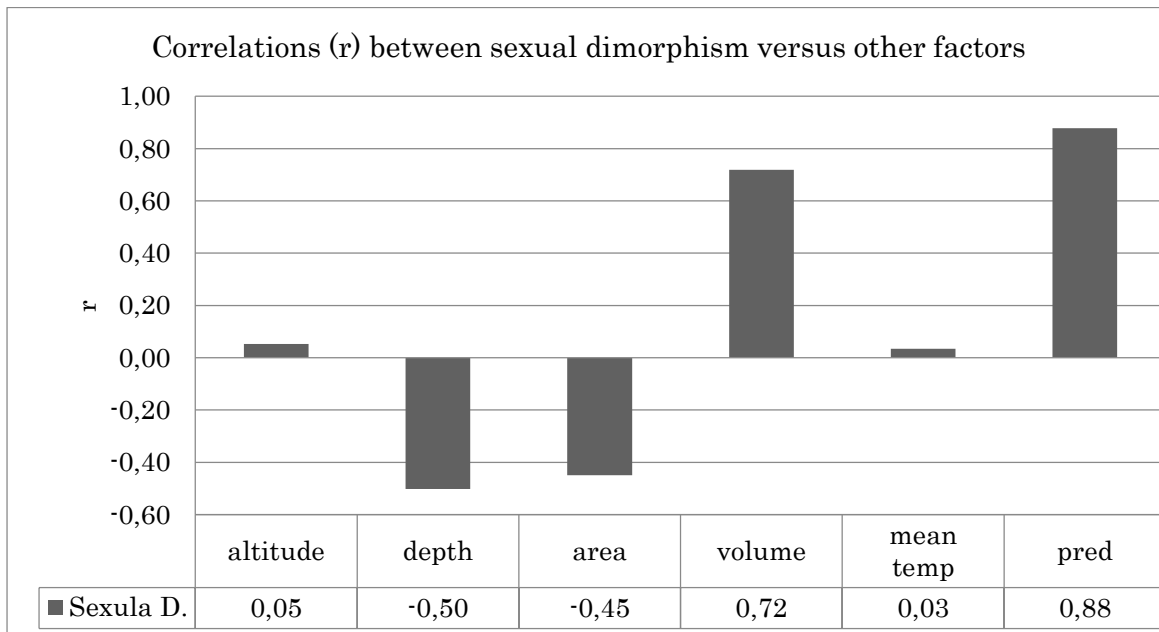


Figure 5. Correlations between sexual dimorphism versus altitude, mean water depth, surface area, volume, temperature, and presence of predator.

Şekil 5. Eşeyssel dimorfizm ile yükseklik, ortalama su derinliği, yüzey alanı, hacim, sıcaklık ve yırtıcı hayvan varlığı arasındaki ilişkiler.

## DISCUSSION

*Cyclops vicinus* is a common planktonic species in littoral regions in all kinds of water environments such as lakes, rivers, marshes, small water bodies and prefer hot water (Dussart 1969). It has huge body size (female: length 1.4-2.3 mm, male: Length 1.3-1.7 mm) (Chang 2013). Temperature and food quality seem are

the primary factors influencing *C. vicinus* body lengths (Riccardi and Mariotta 2000; McLaren 1963; Miller et al. 1977; and Klein Breteler and Gonzales 1982). Planktonic copepods have sexually dimorphic properties and males and females often differ in body size and motile behavior (Gilbert and Williamson 1983; Ohtsuka and Huys 2001; van Someren Gréve et al.

2017).

It was clearly observed that the thorax width related (TW4, TW3, TW1) had the most effective measurements with changing order in the different populations on the sexual size dimorphism. There were strong positive relationships between sexual dimorphism rate and predator presence ( $r = 0.88$ ) and of lake water volume ( $r=0.72$ ), and moderate negative relationship with water depth ( $r= -0.50$ ) and with lake area ( $r= -0.45$ ).

There are different opinions about the sexual dimorphism of copepods. These; nutrition and food sources, females carry eggs, males spend more energy on mating (Gilbert and Williamson 1983). However, there are not enough studies investigating the relationship between the water surface area, water volume, water depth and altitude and sexual dimorphism in the waters where copepods live. We think that detailed studies on this subject are very important for solving some problems.

It has been reported that there are 34 fish species in Keban Dam Lake which is quite large and deep (Celayir et al. 2006; Yıldırım et al. 2015) and most of the fish that have a wide feeding network have omnivorous feeding feature, followed by herbivore and carnivore feeding feature. In this regard, we think that excessive feeding pressure is applied to all food sources, especially on zooplankton. It is possible to say that fish species are not generally very selective in nutrition, which creates a general pressure on zooplankton groups. In this case, *Cyclops vicinus* is thought to have similar predator pressure on males and females.

Six fish species were reported from Tahtaköprü Dam Lake as *Atherina boyeri* Risso 1810 (Ekmekçi et al. 2013), *Barbus luteus* (Heckel, 1843), *Squalius kottelati* Turan, Yilmaz and Kaya, 2009, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (Sağat and Erdem, 1997), *Gambusia holbrooki* Girard, 1859 (Kurtul and Sari, 2019) and *Carassius gibelio* (Bloch, 1782). Among them, *B. luteus*, *Sq. kottelati*, *C. gibelio* and *C. carpio* are omnivorous and usually fed phytoplankton, zooplankton and benthic organisms (Maktoof 2013). But, mostly *A. boyeri* and *G. holbrooki*, secondly *C. gibelio* in general fed on zooplankton (Cladocera, Copepoda and Rotifera etc.). *G. holbrooki* mostly fed on zooplankton, snails, larval chironomids, molluscs, crustaceans, insects, and algae, floating terrestrial insects and certain benthic insects and a variety of zoobenthos in pond ecosystems (Hurlbert et al. 1972; Hurlbert and Mulla 1981; Sokolav and Chavaliova 1936; Balık et al. 2003). *A. boyeri* is reported to be fed with large-sized zooplanktonic organisms. It was reported that there was a significant decrease in the zooplankton structure of the Eğridir lake after *A. boyeri* formed a population in the lake. Ekmekçi et al. (2013) reported that *A. boyeri* may have negative effects on biodiversity and ecosystem if it competes with predation pressure on zooplankton, endemic

species living in the environment and fish species of economic importance. Therefore, it can be concluded that in Tahtaköprü Dam Lake, there was quite high predator pressure on the zooplankton. Male copepods typically exhibit mate-seeking behavior and swim more frequently and faster than females (Katona 1973; Ohtsuka and Huys 2001; Kiørboe et al. 2005; Bagøien and Kiørboe 2005). In that way, we were of the opinion that especially fish fed with zooplankton often eat moving forms more easily, thus creating greater predator pressure on mobile males.

Only the *Barbus rajanorum* (Heckel, 1843) has been reported in the Mehmetli Dam Lake, where there are a limited number of studies (Başusta and Erdem, 1994) and the feeding habit of this species is omnivorous (Erdogrul et al. 2004). It was detected that insect larvae, crustaceans, annelids, plants, molluscs, Chironomus, *Keratella* and *Polyarthra* were found from the digestive system of *B. rajanorum*.

It is thought that there is no predator pressure on the zooplankton due to the low variety of fish in the dam lake and in this case, there is a minimum size difference between the *Cyclops vicinus* males and females in the Mehmetli Dam Lake. *C. gibelio*, *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), *C. carpio*, *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758) were found in Yalıntaş Dam Lake and they were fed omnivore character (Yalçın Özdilek and Jones 2014; Specziáret al. 1997). Although they prefer different food groups at different stages of their lives, their food are mostly composed of algae, insects and macrophytes, mosquito larvae and chironomid larvae Gastropoda, Diptera, Cladocera, Copepoda, Ostracoda, Rotatoria, detritus, and benthic and planktonic invertebrates (Balık et al. 2003; Yalçın Özdilek and Jones 2014; Rogozin et al. 2011; Specziáret al. 1997).

## CONCLUSION

The major findings for this study were given in summary as following.

The intra-population variability on sexual size dimorphism of populations in descending order was Tahta>Yalıntaş>Mehmetli>Keban. The overall sexual dimorphism rate in Keban, Tahta K. and Yalıntaş were very significant (\*\*\*,  $p<0.05$ ), whereas in Mehmetli was suggestive (\*,  $p<0.05$ ). Mostly thorax width related (TW4, TW3, TW1) measurements, and secondly Abdomen (ABD) length had the most effective measurements with changing order in the different populations on the sexual size dimorphism. Pearson correlation coefficient showed that there were strong positive relationships between sexual dimorphism rate and predator presence ( $r = 0.88$ ) and water volume of lake ( $r=0.72$ ), and moderate negative relationship with water depth ( $r= -0.50$ ) and with lake area ( $r= -0.45$ )

The intra-population variability in sexual dimorphism



was occurred mostly in Tahtaköprü Dam Lake population followed by Yalintas Dam Lake>Mehmetli Dam Lake>Keban Dam Lake. In terms of inter-population variability, Tahtaköprü Dam Lake population was significantly difference ( $p<0.05$ ) both from Keban and Mehmetli and populations, except from Yalintas. Whereas, there were not significant differences in overall sexual dimorphism among Keban, Mehmetli and Yalintas populations ( $p>0.05$ ). According to the hierarchical clustering routine, a similarity pattern for the populations from the most close to the farthest was [(Yalintaş) ↔ (Keban↔Mehmetli)] ↔(TahtaKöprü). Among the considered factors that may effecting on sexual dimorphism (altitude, mean water depth, surface area, volume, temperature, and presence of predator), there was only a significantly positive relationship ( $r = 0.86$ ) between sexual dimorphism rate and predator presence.

### Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

### Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

### REFERENCES

- Anufriieva E, Shadrin N 2014. Resting stages of crustaceans in the Crimean hypersaline lakes (Ukraine) and their ecological role. *Acta Geologica Sinica*, 88: 46-49
- Bagøien E, Kiørboe T 2005. Blind dating-mate finding in planktonic copepods. I. Tracking the pheromone trail of *Centropages typicus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 300: 105-115.
- Balık İ, Karaşahin B, Özkök R, Çubuk H, Uysal R 2003. Diet of Silver Crucian Carp *Carassius gibelio* in Lake Eğirdir. *Turk. J. Fish. Aquat. Sc.* 3: 87-91.
- Başusta N, Erdem Ü 1994. Aslantas ve Mehmetli (Adana) Baraj Göllerinde Yaşayan *Barbus rajanorum* Heckel, 1843'un bazı biyolojik özelliklerinin incelenmesi. xii. Ulusal biyoloji kongresi 6-8 Temmuz 1994, Edirne.
- Bayly IAE 1978. Variation in sexual dimorphism in nonmarine Calanoid copepods and its ecological significance. *Limnology and Oceanography* 23: 1224-1228.
- Blades PI 1977. Mating behaviour of *Centropages typicus* (Copepoda: Calanoida). *Marine Biology* 40: 57-64
- Blades PI, Youngbluth MJ 1979. Mating behavior of *Labidocera aestiva* (Copepoda: Calanoida). *Marine Biology*, 51: 339-355.
- Blanckenhorn WU 2005. Behavioral causes and consequences of sexual size dimorphism. *Ethology*. 111: 977-1016.
- Borutski EV 1963. Fauna of USSR, Crustacea, Freshwater Cyclopoida. I.P.S.T. Jerusalem, Vol III, No: 4, 394 p.
- Celayir Y, Pala M, Yüksel F 2006. Keban Baraj Gölü balıkçılığı. DSİ IX. Bölge Müdürlüğü Su Ürünleri Şube Müdürlüğü 23700 Keban/ELAZIĞ.
- Chang CY 2013. A new species of *Cletocamptus* Copepoda (Harpacticoida, Canthocamptidae) from salt marshes in Korea. *Anim. Syst. Evol. Divers.* 29: 227-237.
- Clarke K 1993. Non-Parametric Multivariate Analyses of Changes in Community Structure. *Austral. Ecology*. 18: 117-143.
- Corkett CJ, McLaren IA 1969. Relationships between development rate of eggs and older stages of copepods. *J. mar. biol. Ass. UK* 50: 161-168.
- Dussart B 1969. Les Copépodes des eaux continentales d'Europe occidentale. II: Cyclopoïdes et biologie. Paris, France: Boubée (in French).
- Ekmekçi FG, Kirankaya ŞG, Gençoğlu L 2013. Türkiye içsularında yayılış alanine genişleten bir denizbalığı: *Atherina boyeri* Risso, 1810. *Biyolojik Çeşitlilik Sempozyumu* 22-23 Mayıs 2013, Marmaris-Muğla..
- Elliott NG, Haskard K, Koslow JA 1995. Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of southern Australia. *J. Fish Biol.* 46: 202-220.
- Erdogrul Ö, Covaci A, Schepens P 2004. Levels and distribution of organohalogenated contaminants in 5 fish species from Sır Dam Lake, Kahramanmaraş, Turkey. *Organohalogen Compounds*, 66: 1655-1660.
- Fairbairn, DJ 1997. Allometry for sexual size dimorphism: pattern and process in the coevolution of body size in males and females. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28: 659-687.
- Garcia RD, Garcia PE, Reissig M 2013. Sexual size dimorphism in calanoid copepods (Centropagidae) from Patagonia (Argentina), *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.* 47(4): 504-514
- Gilbert JJ, Williamson CE 1983. Sexual dimorphism in zooplankton (Copepoda, Cladocera, and Rotifera). *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 14: 1-33.
- Hammer O, Harper DAT, Ryan PD 2001. PAST: Paleontological Statistic software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4(1): 1-9.
- Humes AG 1994. How many copepods? Pp. 1-7 in F. D. Ferrari and B. P. Bradley, eds. *Ecology and Morphology of Copepods*. Proceedings of the Fifth International Conference on Copepoda. *Hydrobiologia* 292/293.
- Hurlbert SH, Mulla MS 1981. Impacts of mosquitofish (*Gambusia affinis*) predation on plankton communities. *Hydrobiologia* 83: 125-151.
- Hurlbert SH, Zedler J, Fairbanks D 1972. Ecosystem alteration by mosquitofish (*Gambusia affinis*) predation. *Science* 175: 639-641.

- Jacoby CA, Youngbluth MJ 1983. Mating behavior in three species of *Pseudodiaptomus* (Copepoda: Calanoida). Mar. Biol.76: 77-86.
- Katona SK 1973. Evidence for sex pheromones in planktonic copepods. Limnol. Oceanogr.18: 574-583.
- Kiefer F, Fryer G 1978. Das Zooplankton der Binnengewasser 2. Teil, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 380 pp.
- Kjørboe T, Bagøien E, Thygesen UH 2005. Blind dating- mate finding in planktonic copepods. II. The pheromone cloud of *Pseudocalanus elongatus*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 300: 117-128.
- Klein Breteler WCM, Gonzales SR 1982. Influence of temperature and food concentration on body length of Calanoid copepods. Mar. Biol.71: 157-161.
- Kurtul I, Sarı HM 2019. *Gambusia holbrooki* (Sivrisinekbalığı)'nin Türkiye'deki Dağılımına Katkıları. LimnoFish. 5(3): 170-180.
- Maktoof A 2013. Food habits of *Barbus luteus* in main outfall drain, Iraq. Natural Science, 5: 848-856.
- Maly EJ 1983. Some further observations on diaptomid body size and clutch size relationships. Limnol. Oceanogr. 28: 148-152.
- Maly EJ 1978. Some factors influencing size of *Diaptomus shoshone*. Limnol. Oceanogr. 23: 835-837.
- McLaren IA 1963. Effect of temperature on growth of zooplankton and the adaptive value of vertical migration. J. Fish. Res. Bd Can. 26: 199-220.
- Miller CB, Johnson JK, Heinle DR 1977. Growth rules in the marine copepod genus *Acartia*. Limnol. Oceanogr. 22: 326-335.
- Nishikawa TS, Maly EJ 1996. Factors influencing the degree of sexual size dimorphism within and among calanoid copepod species. Oecologia 107: 490-497.
- Ohtsuka S, Huys R 2001. Sexual dimorphism in calanoid copepods: morphology and function. Hydrobiologia 453/454: 441-466.
- Riccardi N, Mariotto L 2000. Seasonal variations in copepod body length a comparison between different species in the Lagoon of Venice. Aquatic Ecol.34: 243-252.
- Rogozin DY, Pulyayevskaya MV, Zuev IV, Makhutova ON, Degermendzhi AG 2011. Growth, diet and fatty acid composition of Gibel Carp *Carassius gibelio* in Lake Shira, a brackish water body in Southern Siberia. Journal Siberian Federal University Biology 4: 86-103.
- Sağat Y, Erdem Ü 1997. A study on some biological characteristics of *Barbus rajanorum* and *Capoeta barroisi* species in Menzelet Dam Lake (Kahramanmaraş). Eğitimnin 10.Yılında Su Ürünleri Fakültesi 12-14 Kasım 1991.
- Scourfield DJ, Harding JP 1966. A key to British species of freshwater Cladocera with notes on their ecology. 3rd ed. Fresh. Biol. Assoc. Scientific Publication 5.
- Sokolov NP, Chvaliova MA 1936. Nutrition of *Gambusia affinis* on the rice fields of Turkestan. J. Anim. Ecol. 5: 390-395.
- Specziar A, Tolg L, Biro P 1997. Feeding strategy and growth cyprinids in the littoral zone of Lake Balaton. Journal of Fish Biology, 51: 1109-1124.
- van Someren Gréve H, Almeda R, Lindegren M, Kjørboe T 2017. Gender-specific feeding rates in planktonic copepods with different feeding behavior. J. Plankton Res. 39: 631-644.
- Vaupel Klein JC von (1998) Cases of niche-partitioning and of habitat-segregation in pelagic marine calanoids of the genus *Euchirella* (Crustacea:Copepoda). Zool.Verh. 323: 383-400.
- Yalçın Özdilek Ş, Jones RI 2014. The Diet Composition and Trophic Position of Introduced Prussian Carp *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) and Native Fish Species in a Turkish River. Turk. J. Fish and Aquat. Sc.14: 769-776.
- Yıldırım T, Şen D, Eroğlu M, Çoban MZ, Demirel F, Gündüz F, Arca S, Demir T, Gürçay S, Uslu AA, Canpolat İ 2015. Keban Baraj Gölü Balık Faunası, Elazığ, Türkiye. FıratUnv. Journal of Science. 27(1): 57-69 (in Turkish).



## A Meta Analysis on The Heavy Metal Content of Two Shrimp Species, *Penaeus Semisulcatus* (De Hann, 1844) and *Metapenaeus Monoceros* (Fabricius, 1798) From İskenderun Bay

Mehmet Fatih CAN<sup>1</sup>, Yavuz MAZLUM<sup>2\*</sup>, Ayşe Bahar YILMAZ<sup>3</sup>, Abdullah ÖKSÜZ<sup>4</sup>

<sup>1,2,3</sup> İskenderun Technical University, Faculty of Marine Sciences and Technology, İskenderun, Hatay/TURKEY, <sup>4</sup>Konya Necmettin Erbakan University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Meram-Konya, TURKEY

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-3866-2419>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-9547-0966>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0001-7642-4385>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0001-8778-9320>,

✉: [yavuz.mazlum@iste.edu.tr](mailto:yavuz.mazlum@iste.edu.tr)

### ABSTRACT

Different studies even on same shrimp species and same heavy metals from same locations may be inconsistent with each other. Because of their importance on a food safety risk, a meta-analysis is required to evaluate the true risk level to human consumption for these aquatic organisms. In this study, commercially important two shrimp species, *Penaeus semisulcatus* (de Hann, 1844) and *Metapenaeus monoceros* (Fabricius, 1798), from İskenderun Bay were subjected to a meta-analysis for some heavy metal contents (Cadmium-Cd, Zinc-Zn, Lead-Pb, and Copper-Cu). Meta-analysis results (mean±Sd) were evaluated according to the reference values that are maximum permissible limit (dry-wet, mg kg<sup>-1</sup>) for shrimp as follow; Cd (1 mg kg<sup>-1</sup>), Zn (50 mg kg<sup>-1</sup>), Pb (2 mg kg<sup>-1</sup>) and Cu (20 mg kg<sup>-1</sup>). For Cd, *M. monoceros* (0.93±0.02 mg kg<sup>-1</sup>) was not exceeded the reference limit (P>0.05), while, *P. semisulcatus* (3.93±0.12 mg kg<sup>-1</sup>) was exceeded (P<0.05). For Zn, *M. monoceros* (58.69±7.25 mg kg<sup>-1</sup>) was exceeded the reference limit (P<0.05), but *P. semisulcatus* (50.28±8.00 mg kg<sup>-1</sup>) was not exceeded (P>0.05). For Pb, both *M. monoceros* (10.14±4.09 mg kg<sup>-1</sup>) and *P. semisulcatus* (6.30±2.02 mg kg<sup>-1</sup>) were exceeded the reference limit (P<0.05). For Cu, *M. monoceros* (23.25±4.34 mg kg<sup>-1</sup>) was not exceeded the reference limit (P>0.05), while *P. semisulcatus* (49.68±14.71 mg kg<sup>-1</sup>) was exceeded (P<0.05). Despite the meta-analysis results, the harmful effects of heavy metals on human health only occur when long-term consumption of contaminated crustaceans occurs, much more well-organized studies (with more samples, suitable sampling strategy, etc.) are needed to make an ultimate decision on whether the contents of these considered heavy metals in these two shrimp species.

### Research Article

#### Article History

Received : 16.10.2020

Accepted : 03.12.2020

#### Keywords

Meta-analysis

Heavy metal

*Penaeus semisulcatus*

*Metapenaeus monoceros*

İskenderun Bay

## İskenderun Körfezi'ndeki İki Karides Türünün, *Penaeus semisulcatus* (de Haan, 1844) ve *Metapenaeus monoceros*'un (Fabricius, 1798) Ağır Metal İçeriği Üzerine Bir Meta Analiz

### ÖZET

Aynı bölgeden alınmış ve aynı ağır metaller çalışılmış olsa bile aynı karides türlerinin ağır metal içerikleri farklı çalışmalarda birbirleri ile tutarsız olabilir. Gıda güvenliği riski açısından önemli olmaları nedeniyle, bu anlamda karideslerin insan tüketimine yönelik gerçek risk düzeyini değerlendirmek için bir meta-analiz gereklidir. Bu çalışmada, İskenderun Körfezi'nden ticari açıdan önemli iki karides türü olan *Penaeus semisulcatus* (de Hann, 1844) ve *Metapenaeus monoceros* (Fabricius, 1798)'un bazı kas dokularının ağır metal içerikleri (Kadmiyum-Cd, Çinko-Zn, Kurşun-Pb ve Bakır-Cu) bir meta-analiz çalışması ile dikkate alınmıştır. Meta-analiz sonuçları (ortalama±Sd) karides için izin verilen maksimum sınır (kuru-yaş ağırlık, mg / kg) olan referans değerlere göre aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir; Cd (1 mg kg<sup>-1</sup>), Zn (50 mg kg<sup>-1</sup>), Pb (2 mg kg<sup>-1</sup>) ve Cu (20 mg kg<sup>-1</sup>). Yapılan değerlendirme sonucunda, Cd için M.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 16.10.2020

Kabul Tarihi : 03.12.2020

#### Anahtar Kelimeler

Meta analiz

Ağır metal

*Penaeus semisulcatus*

*Metapenaeus monoceros*

İskenderun Körfezi

monoceros ( $0.93 \pm 0.02 \text{ mg kg}^{-1}$ ) referans sınır aşılmamışken ( $P > 0.05$ ), *P. semisulcatus* ( $3.93 \pm 0.12 \text{ mg kg}^{-1}$ ) için referans sınır aşmıştır ( $P < 0.05$ ). Zn için *M. monoceros* ( $58.69 \pm 7.25 \text{ mg kg}^{-1}$ ) türü için referans sınır ( $P < 0.05$ ) aşılmış, *P. semisulcatus* ( $50.28 \pm 8.00 \text{ mg kg}^{-1}$ ) için referans sınır aşılmamıştır ( $P > 0.05$ ). Pb için hem *M. monoceros* ( $10.14 \pm 4.09 \text{ mg kg}^{-1}$ ) hem de *P. semisulcatus* ( $6.30 \pm 2.02 \text{ mg kg}^{-1}$ ) referans sınır aşılmıştır ( $P < 0.05$ ). Cu için *M. monoceros* ( $23.25 \pm 4.34 \text{ mg kg}^{-1}$ ) türünde referans sınır ( $P > 0.05$ ) aşılmazken, *P. semisulcatus* ( $49.68 \pm 14.71 \text{ mg kg}^{-1}$ ) referans sınır aşılmıştır ( $P < 0.05$ ). Meta-analiz sonuçlarına rağmen, ağır metallerin insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri yalnızca kontamine kabukluların uzun süreli tüketimi gerçekleştiğinde ortaya çıktığı ve bununla birlikte iki karides türünün ağır metal içeriklerinin referans noktalarını aşip aşmadığı konusunda nihai olarak karar vermek için çok daha iyi organize edilmiş çalışmalara (daha fazla örnek, uygun örnekleme stratejisi vb.) ihtiyaç olduğu da dikkate alınmalıdır.

**To Cite :** Can MF, Mazlum Y, Yılmaz AB, Öksüz A 2021. A Meta Analysis on The Heavy Metal Content of Two Shrimp Species, *Penaeus Semisulcatus* (De Hann, 1844) And *Metapenaeus Monoceros* (Fabricius, 1798) From İskenderun Bay. *KSU J. Agric Nat* 24 (4): 834-849. DOI:10.18016/ksutarimdoge.vi.811212.

## INTRODUCTION

Pollution from metals is a vital problem affecting estuaries and coastal areas (Rushinadha et al., 2016). Among pollutants, metals are particularly important because of their potential toxic effects and their ability to bioaccumulate in aquatic environments (Censi et al., 2006).

Heavy metals contamination in shrimp has become a major problem worldwide not only because of the threat to shrimp but also because of the non-carcinogenic health risks associated with shrimp consumption. For example, kidney failure and liver damage may occur due to the presence of lead in food (Lee et al., 2011). Prolonged exposure to lead cause coma, mental rejuvenation and even death (Al-Busaid et al., 2011). Cadmium damages the kidneys and causes chronic toxicity symptoms such as impaired kidney function, infertility, hypertension, tumors, and liver dysfunction (Rahman et al., 2010). Also, Chromium can attack proteins and membrane lipids, thus disrupting cellular integrity and functions (Mattia et al., 2004; Brien et al., 2003). Therefore, the global attention is increasing to heavy metal contamination in shrimp.

İskenderun Bay is located in the eastern part of the Northeastern Mediterranean Sea and it is characterized having dense industrial establishments (iron steel factory, petrochemical industry, fertilizer industry, etc.), fishing, transportation, and urbanization. Due to its in and outer currents systems, pollutants resulting from above activities are spreading into the Bay and they lead it having a potential risk of pollution. (Can et al., 2019).

Trawling fishery for crustacean in İskenderun Bay is highly important due to the amount and the economic value of its landings and their fishery, particularly for penaeid shrimp, has been carried out in this region

using a specially designed bottom trawl called shrimp trawl (Can et al., 2004). Due to its importance, many studies have been conducted on heavy metal accumulation in shrimp from İskenderun Bay. Yılmaz et al. (2017) reported a review consisting of 86 articles and 4 theses on all heavy metal studies conducted on aquatic organisms in İskenderun Bay. However, in this review, they only tabulated previous published studies without any critical evaluation. After then, Can et al. (2019) conducted a meta-analysis with a geo-statistical approach on THQ (Target Hazard Quotients) values of Cu, Zn and Fe accumulation in some fish species in İskenderun Bay. They concluded that fish caught from İskenderun Bay could be consumed safely in terms of metals and also, they found there was spatial structure with consistently high THQ values along the İskenderun Bay.

Meta-analysis is a technique used in some cases such as quantitatively combining, synthesizing, and summarizing data and results from different studies. (i) When sources of heterogeneity are to be examined, (ii) When the relationship between environmental exposures and health effects is not clear, (iii) When refinement of the estimate of an effect is important, (iv) When there are questions about the generalizability of results, (v) When it is clear that there is a hazard exists, but no indication of its magnitude, and (vi) When information is needed beyond that provided by individual or narrative studies. Different studies even on same shrimp species and same heavy metals from same locations may be inconsistent with each other. Because of their important on a food safety risk, meta-analysis is required to evaluate the true risk level for these aquatic organisms. Hence, a meta-analysis that based on the previous publications from İskenderun Bay was conducted for the some heavy metal contents (Cadmium, Zinc, Lead, and Copper) of the



commercially important two shrimp species, *Penaeus semisulcatus* (de-Hann, 1844) and *Metapenaeus monoceros* (Fabricius, 1798).

## MATERIALS and METHODS

### Study area

Iskenderun Bay covers an area of approximately 2275 km<sup>2</sup>, 65 km long and approximately 35 km wide in the northeastern corner of the Mediterranean. The bay is known for its intense port activities, filling facilities, industrial facilities and establishments, especially the iron and steel industry, as well as fishing activities.

### Shrimp species

*Penaeus semisulcatus* (de Haan, 1844) is an exotic Indo-West Pacific species especially catching in the Bay of Iskenderun and is thought to have reached the Eastern Mediterranean coast via the Suez Canal and the Red Sea. As in many parts of the world, it has a great economic value in this region (Yılmaz et al., 2009).

*Metapenaeus monoceros* (Fabricius) is an Indo-Pacific species that is widely caught in Iskenderun Bay and is also distributed along the Eastern Mediterranean coasts. This species is originally a lessepsian that had migrated from the Red Sea to the Mediterranean Sea over the Suez Canal.

### Document indexing

Most of the existing literature on heavy metal accumulation for shrimps reported from Iskenderun Bay was taken from Yılmaz et al. (2017) that they reviewed and tabulated for 86 articles and 4 theses from Iskenderun Bay. To get more update literatures, although they were few, the searching was acquired using some key words as "İskenderun Bay, heavy metal, shrimp" from Google. The studies considered in this meta-analysis met the following criteria: (a) Zn, Pb, Cd and Cu accumulation in the two shrimp species, *P. semisulcatus*, *M. monoceros*, and (b) studies reported mean accumulation values (considered as ES-effect size), sample size (n) and any of dispersion and variability measures (standard deviation-Sd, standart error-SE, and Range).

### Expression of the results on dry weight base

To calculate some statistics and to make more, some measurements reported were converted or transformed as follows: (i) In these publications some results are given in wet weight basis (WWB) and some in dry weight basis (DWB). We preferred the expression of the results on DWB from shrimp muscle due to giving less bias. For this reason, the results given in WWB were converted to DWB multiplying by factor (Yılmaz, 2010). This conversion was made on the basis of by assuming 80% moisture content of

shrimp. (ii) We used standard deviation-SD as a measure of variability. Therefore, the results given in the previous study as standard error-SE and range (max-min) were converted to SD using  $SD = SE \cdot (n)^{0.5}$  and  $SD = (Range) / 4$ , respectively.

### Data Analysis

The ESCI (Exploratory Software for Confidence Intervals) was used for Meta-analysis (2011). One-tail tests were used to detect whether significant differences between mean heavy metal concentrations and maximum acceptable levels (in mg kg<sup>-1</sup>) for both shrimp species by metals. (Null hypothesis: mean concentration  $\mu_0 \leq$  referenced level, with 5% significance level). Referenced levels (maximum acceptable levels in mg kg<sup>-1</sup>) of heavy metals for shrimp species were chosen according to the Turkish Ministry of Agriculture and Forestry (2002) as follows: Cadmium-Cd: 1 mg kg<sup>-1</sup>, Pb: 2 mg kg<sup>-1</sup>, Cu: 20 mg kg<sup>-1</sup>, and Zn: 50 mg kg<sup>-1</sup>.

## RESULTS and DISCUSSION

Heavy metal accumulation in aquatic organisms has been a serious problem due to environmental pollution caused by anthropogenic activities (Yılmaz et al., 2017). Therefore, there is an increasing interest around the world in "food safety" and in keeping food quality at acceptable levels for human consumptions.

Crustaceans are generally considered as key species at the bottom of the food chain. They are benthic organisms that live on the bottom of oceans or seas. They are omnivores that consume foraminifera, polychaeta, crustaceans, algae, phytoplankton and other tiny, drifting aquatic organisms and detritus. They are highly exposed to aquatic pollutants and are also important food sources for human consumption (Mazlum et al., 2016). Heavy metals taken up by aquatic organisms can occur in multiple ways. These can be directly from the body surface or respiratory organs, or through food or a combination of these. Although the most important input of heavy metal intake is through dissolved metal in water and food (Ali et al., 2019) and eventually accumulates in target organs, it is still unclear which the most important factor is. Many studies have that revealed the effect of metals on human health. Since the edible part of shrimps is the part consumed by humans, it is studied more than other organs. In studies conducted in Iskenderun Bay, when the heavy metal values recommended by the Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO) and the European Union (EU) (Nabavi et al., 2011) were compared for shrimps, it was observed that some heavy metal levels detected in some tissues were higher. The Table 1 below shows the standard values of metals for crustaceans.

Table 1. Acceptable heavy metal concentration in fisheries products set by the Ministry of Agriculture and Forestry (Anonymous, 2002).

Çizelge 1. Tarım Orman Bakanlığı tarafından belirlenen su ürünlerinde kabul edilebilir ağır metal konsantrasyonu (Anonim, 2002).

Metals	Max. Level in Crustaceans (mg kg <sup>-1</sup> )
Cd	1.00
Pb	2.00
Cu	20.00
Zn	50.00

İskenderun Bay is an important ecosystem in terms of fish diversity. This ecosystem attracts attention with studies investigating the toxic mineral effects on aquatic organisms, especially in recent years, depending on the development of technology and industry (Bosch et al., 2016). Due to the increasing technology, the Bay has recently attracted attention with its intense port activities, filling facilities, thermal power plants, industrial facilities and businesses. Iskenderun Bay as a gateway to the Middle East, especially in the northern part of Iskenderun, the ports of various sizes and İSDEMİR (İskenderun Demir Çelik A.Ş.) have become important both in transportation and in the iron and steel sector. The Bay is also crucial for local fisherman for their fishing activities, and also for economic aspect having free zone and harbor. Therefore, the accumulation of heavy metals and their levels in fishery product are considered to be critical for both environmental and food safety aspect.

Among the most hazardous toxic metals, including Cd, Pb, Hg and arsenic are widely distributed in aquatic environment. However, arsenic in seafood is the form of organic arsenic and know to be no toxic effect on human health. Certain elements may

become toxic when the limit exceed.

Cadmium, one of the most toxic heavy metals, has extremely harmful effects for aquatic organisms even at low concentrations. It has been shown in many studies that cadmium accumulates in living creatures in environmentally polluted seas and creates toxic effects at different levels. Cadmium is considered a toxic metal with teratogenic and carcinogenic effects. Cadmium is found in the environment in the form of salts that differ in solubility. Currently, it is reported that the amount of cadmium released into the environment as a result of industrial activities is 10 times higher than that of natural origin. Cadmium found in water and sediments concentrates especially in plankton, vegetative macrophytes, shellfish and mollusks. Molluscs and crustaceans can concentrate cadmium 300-10,000 times (Ray et al., 1980). Cadmium has been defined as a wide spread source in agriculture and industry (Sireli et al., 2006). Fertilizers are important sources of Cd-based agricultural chemicals commonly used in intensive agriculture (Alloway, 1990). The presence of significant cadmium concentrations in the exoskeleton of some decapod crustaceans may be attributed to the role of this tissue in the excretion of these metals (Keenan and Alikhan, 1991). It has been determined that inhalation of cadmium metal causes lung diseases and high blood pressure, and intake with water and food causes many damages such as liver, kidney, brain, nerve diseases, sensitivity in bones and iron deficiency, and many of them can be fatal (Barone et al., 2018; Korkmaz et al., 2017).

Meta-analysis results for cadmium accumulation on *M. monoceros* (I-square = 0.000%) and *P. semiculatus* (I-square = 99.32%) were not consistent with each other (Table 2-3, Figure 1).

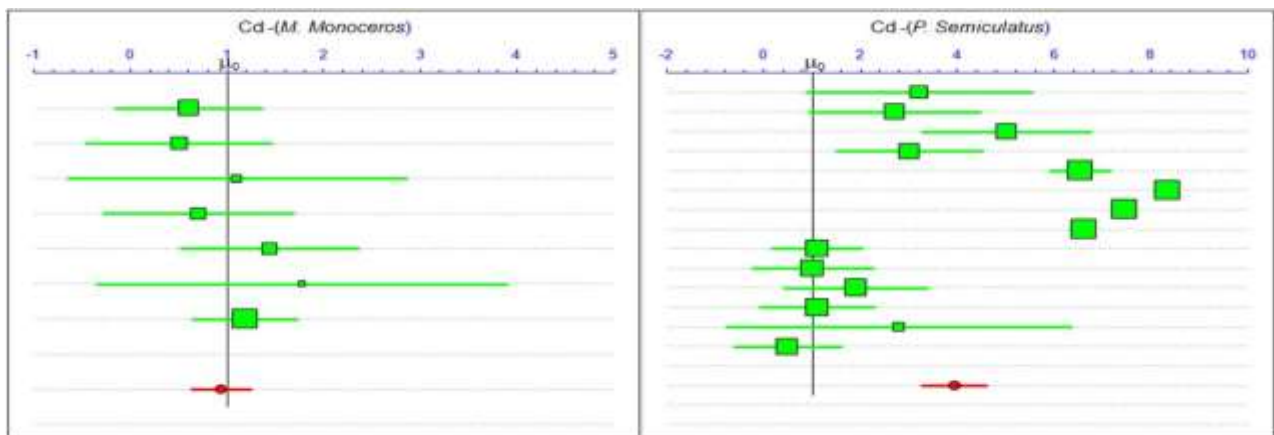


Figure 1. The squares on the horizontal bars show the mean and their confidence limit limits of Cd accumulation in *M. monoceros* and *P. semiculatus* according to Table 2 and Table 3, respectively. The circles at the bottom are the result of the meta-analysis. The  $\mu_0$  point on the horizontal axes above indicates that the Zero hypothesis was tested against the reference value at the 5% significance level ( $H_0: \mu_0 \leq 1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$ ).

Şekil 1. Yatay çubuklar üzerindeki kareler, sırasıyla Tablo 2 ve Tablo 3'e göre *M. monoceros* ve *P. semiculatus*'ta Cd birikiminin ortalama ve bunların güven sınır limitlerini göstermektedir. Alt kısımda bulunan daireler meta-analizin sonucudur. Üstte yatay eksen üzerindeki  $\mu_0$  noktası,%5 anlamlılık düzeyinde ( $H_0: \mu_0 \leq 1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$ ) referans değerine karşı sıfır hipotezinin test edildiğini gösterir.

Table 2. Mean and Standard deviation-Sd with their sample size (n) and confidant intervals (95 %) of the studies on Cd accumulation in *M. monoceros* and tested referenced value ( $\mu_0 \leq 1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$ ,  $\alpha = 0.05$ ) with their weighting (%) in meta-analysis.

Çizelge 2. *M. monoceros* için Cd birikiminin ortalama ve standart sapma, örnek büyüklüğü, güven aralığı, referans değerleri ( $(\mu_0) \leq 1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$ ,  $\alpha = 0.05$ ) ve ağırlık yüzdesi (%).

References	<i>P. Semiculcatus</i>			C. interval (95 %)		$(\mu_0) \leq 1 \text{ mg kg}^{-1}$	Weighting (%)
	Mean (Cd)	sd	n	Lower L.	Upper L.	Sig. ( $\alpha = 0.05$ )	
Çoğun et al. 2005	3.20	5.813	26	0.852	5.548	ns	4.664
Çoğun et al. 2005	2.70	4.436	26	0.908	4.492	ns	5.888
Çoğun et al. 2005	5.00	4.385	26	3.229	6.771	(> $\mu_0$ )***	5.937
Çoğun et al. 2005	3.00	3.773	26	1.476	4.524	(> $\mu_0$ )*	6.550
Aytekin et al. 2019	6.52	0.900	10	5.876	7.164	(> $\mu_0$ )***	8.745
Aytekin et al. 2019	8.33	0.130	10	8.237	8.423	(> $\mu_0$ )***	9.273
Aytekin et al. 2019	7.44	0.130	10	7.347	7.533	(> $\mu_0$ )***	9.273
Aytekin et al. 2019	6.59	0.100	10	6.518	6.662	(> $\mu_0$ )***	9.278
Kargın et al. 2001	1.10	1.328	10	0.150	2.050	ns	8.184
Kargın et al. 2001	1.00	1.771	10	-0.267	2.267	ns	7.493
Kargın et al. 2001	1.90	2.087	10	0.407	3.393	ns	6.970
Kargın et al. 2001	1.10	1.676	10	-0.099	2.299	ns	7.647
Kaymacı, 2011	2.78	18.810	108	-0.803	6.373	ns	2.655
Kaymacı, 2011	0.48	5.924	108	-0.650	1.610	ns	7.442
<b>Meta-Analysis</b>	3.93	0.122	400	3.253	4.621	(> $\mu_0$ )***	

Table 3. Cd content (mean±standard deviation Sd) of *P. semiculcatus* with their sample size (n) and confidant intervals (95 %) of the studies on Cd accumulation in tested referenced value ( $\mu_0 \leq 1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$ ,  $\alpha = 0.05$ ) with their weighting (%) in meta-analysis.

Çizelge 3. *P. semiculcatus* için Cd birikiminin ortalama ve standart sapma, örnek büyüklüğü, güven aralığı, referans değerleri ( $(\mu_0) \leq 1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$ ,  $\alpha = 0.05$ ) ve ağırlık yüzdesi (%).

References	<i>M. Monoceros</i>			C. interval (95 %)		$(\mu_0) \leq 1 \text{ mg kg}^{-1}$	Weighting (%)
	Mean (Cd)	Sd	n	Lower L.	Upper L.	Sig. ( $\alpha = 0.05$ )	
Kargın et al. 2001	0.60	1.075	10	-0.169	1.369	ns	22.172
Kargın et al. 2001	0.50	1.360	10	-0.473	1.473	ns	13.862
Kargın et al. 2001	1.10	2.467	10	-0.664	2.864	ns	4.213
Kargın et al. 2001	0.70	1.391	10	-0.295	1.695	ns	13.239
Kaymacı, 2011	1.44	4.839	106	0.508	2.372	ns	11.603
Kaymacı, 2011	1.77	11.068	106	-0.362	3.902	ns	2.218
Kaymacı, 2011	1.18	2.883	106	0.625	1.735	ns	32.693
<b>Meta-Analysis</b>	0.93	0.026	358	0.620	1.247	ns	22.172

Considering the *M. monoceros*, none of the studies including resulted meta-analysis were not statistically important ( $\mu_0 \leq 1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Table 2 and Figure 1). However, for *P. semiculcatus*, 6 out of 14 studies were statistically importance with changing significance degrees (Table 3 and Figure 1), and the resulted meta-analysis showed that it was also a significantly important at a very high level ( $\mu_0 > 1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$  \*\*\*).

These values were found above the limit (1.0 ppm) and (0.2 ppm) allowed for consumption in shrimp by WHO (2005) and FAO (2007), respectively. Moreover, similar studies in *P. martia*, *P. edwardsii* and *A. antennatus* (Olgunoglu et al., 2015) and *P. semisulcatus* (Heidarieh et al., 2013) did not exceed

the permissible limits. Therefore, these shrimp in this area of study did not pose any threat to humans upon their consumption. However, Cd was discovered in other shrimp species reported by different authors across the world.

Kaya and Türkoğlu (2017) stated that Cd levels are 0.008-0.026 mg kg. They found that all cadmium levels were below the maximum allowable cadmium levels by Turkish standards. 0.1 mg kg<sup>-1</sup> (Anonymous, 2008) and the allowable cadmium level of the EU commission is 0.05 mg kg<sup>-1</sup> (European Union, EU, 2001; European Union, (EU), 2008). Gökoğlu et al. (2008) Heavy metal results for Antalya Bay reported that the cadmium concentration in the shrimp muscle (*P. semisulcatus*) was 2.36 mg kg<sup>-1</sup> and the cadmium concentration in the *P. longirostris* muscle was 0.23

mg kg<sup>-1</sup> (Gokoglu et al., 2008). Pourang and Dennis (2005) reported that cadmium concentrations in *P. semisulcatus* muscle were between 0.001 and 1,210 mg kg<sup>-1</sup>, and Cd levels in the *Penaeus merguensis* muscle were between 0.01 and 0.18 mg kg<sup>-1</sup>. Pourang et al. (2005) in another study of *P. semisulcatus* in the muscle and exoskeleton, mean Cd concentrations in muscle were 0.103-0.790 µg g<sup>-1</sup>, and 0.557 and 1.016 µg g<sup>-1</sup> in the exoskeleton, respectively. In another study conducted off the coast of Tanzania, the lowest and highest levels of cadmium in the muscle of the grant tiger shrimp were found to be 0.01-0.03 mg kg<sup>-1</sup> (Rumisha et al., 2016). Olmedo et al. (2013) reported that the mean and range of cadmium concentrations in edible parts of Sole fish were 0.001 (0.000-0.067) mg kg<sup>-1</sup>, and the mean concentration and range in shrimp (*P. longirostris*) was 0.029 (0.014-0.063). Sivaperumal et al. (2007) reported that cadmium levels in the muscles of different shrimp species were n.d - 0.07 mg kg<sup>-1</sup> by wet weight (not detected). Therefore, in the present some differences obtained as a result of meta-analysis may actually be caused by a sample size, duration of study, poor evaluation of the results, and lack of analysis results. This situation emerges as a situation that should be examined well in terms of human health. We believe that it will be better to follow the annual monitoring data and technological developments in order to reach the right conclusion.

High heterogeneities among the studies on Zn accumulation in *P. semisulcatus* (I-square = 99.088 %) and *M. monoceros* (I-square = 90.387 %) were observed. Despite of that high heterogeneity, meta-analysis showed that zinc accumulation on *P. semisulcatus* was not significant ( $\mu_0 \leq 50$  mg kg<sup>-1</sup>). Half of the studies on *M. monoceros* were significant ( $\mu_0 > 50$  mg kg<sup>-1</sup> Zn\*\*\*), and meta-analysis yielded an moderate significant result on zinc accumulation in that species ( $\mu_0 > 50$  mg kg<sup>-1</sup> Zn \*\*) (Table 4-Table 5 and Figure 2).

Table 4. Mean and Standard deviation-Sd with their sample size (n) and confidant intervals (95 %) of the studies on Zn accumulation in *M. monoceros* and tested referenced value ( $\mu_0 \leq 50$  mg kg<sup>-1</sup> Zn,  $\alpha = 0.05$ ) with their weighting (%) in meta-analysis.

Çizelge 4. *M. monoceros* için Zn birikiminin ortalama ve standart sapma, örnek boyutu, güven aralığı, referans değerleri ( $\mu_0 \leq 50$  mg kg<sup>-1</sup> Zn,  $\alpha = 0.05$ ) ve ağırlık yüzdesi (%).

References	<i>M. Monoceros</i>			C. interval (95 %)		$(\mu_0) \leq 50$ mg kg <sup>-1</sup>	Weighting (%)
	Mean (Zn)	Sd	n	Lower L.	Upper L.	Sig. ( $\alpha = 0.05$ )	
Kargin et al. 2001	61.8	3.637	10	59.199	64.401	(> $\mu_0$ )***	20.192
Kargin et al. 2001	60.4	4.237	10	57.369	63.431	(> $\mu_0$ )***	19.930
Kargin et al. 2001	71.3	6.767	10	66.459	76.141	(> $\mu_0$ )***	18.513
Kargin et al. 2001	63.2	3.953	10	60.372	66.028	(> $\mu_0$ )***	20.058
Kaymacı, 2011	46.945	87.307	106	30.131	63.759	ns	6.809
Kaymacı, 2011	52.65	193.403	106	15.403	89.897	ns	1.872
Kaymacı, 2011	32.62	49.213	106	23.142	42.098	ns	12.625
<b>Meta-Analysis</b>	<b>58.69379</b>	<b>7.252</b>	<b>358</b>	<b>53.416</b>	<b>63.972</b>	<b>(&gt;<math>\mu_0</math>)**</b>	

The organic and inorganic compounds of lead are used as paint, accumulator, city water supply, ceramic, rubber production, printing, pesticide, various children's toys and gasoline additives. Lead is mixed with natural water from limestone and lead bed and accumulates in the bodies of fish and creatures that join the food chain of fish. Lead salts, which are poorly soluble in water, dissolve in the stomach with the effect of hydrochloric acid and pass into the blood. However, since the excretion of absorbed lead is very slow, there is a continuous accumulation. Lead is an element with multiple effects. The absorbed lead passes into the blood and is distributed to various organs (aorta, cartilage, kidney, pancreas, lung, spleen and muscles) through the blood circulation. The hematopoietic system, central nervous system, peripheral nerves and kidneys suffer the most from this distribution. Although most of lead is stored in bones, it can also pass into the brain, fetus in the womb and breast milk. The low rate of lead in infants and children increases with age and lead exposure. When it exceeds 40 mg l<sup>-1</sup> in the blood, blood pressure increasing effect occurs. On the other hand, it is reported that chronic lead intake limits sperm count and morphology. According to the classification of the World Health Organization (WHO, 2005), it has been reported that lead is in the class 2 carcinogenic group (Neda et al., 2017).

Ecologically, lead tends to collapse as a solid and does not form a complex except in special circumstances. Generally, lead released to nature forms hardly soluble compounds [Pb<sub>3</sub> (PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, Pb<sub>4</sub>O (PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, Pb<sub>5</sub> (PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>OH, (PbCO<sub>3</sub>) and (PbS)] Therefore lead intake from plants in the food chain is out of question. It has been reported that single-celled creatures and fish can tolerate water containing 0.04–0.198 mg l<sup>-1</sup> inorganic lead, but show acute poisoning when ingestion of lead through food in lower amounts (Neda et al., 2017).



Table 5. Mean and Standard deviation-Sd with their sample size (n) and confidant intervals (95 %) of the studies on Zn accumulation in *P. semiculcatus* and tested referenced value ( $\mu_0$ )  $\leq 50$  mg kg<sup>-1</sup> Zn,  $\alpha = 0.05$  with their weighting (%) in meta-analysis.

Çizelge 5. *P. semiculcatus* için Zn birikiminin ortalama ve standart sapma, örnek büyüklüğü, güven aralığı, referans değerleri ( $\mu_0$ )  $\leq 50$  mg kg<sup>-1</sup> Zn,  $\alpha = 0.05$  ve ağırlık yüzdesi (%).

References	<i>P. Semiculcatus</i>		n	C. interval (95 %)		( $\mu_0$ ) $\leq 50$ mg kg <sup>-1</sup> Sig. ( $\alpha = 0.05$ )	Weighting (%)
	Mean (Zn)	sd		Lower L.	Upper L.		
Çoğun et al. 2005	50.40	11.422	26	45.787	55.013	ns	5.557
Çoğun et al. 2005	51.50	9.127	26	47.813	55.187	ns	5.627
Çoğun et al. 2005	63.10	11.524	26	58.445	67.755	(> $\mu_0$ )***	5.553
Çoğun et al. 2005	50.10	9.892	26	46.104	54.096	ns	5.605
Aytekin et al. 2019	24.00	9.000	15	19.016	28.984	ns	5.542
Aytekin et al. 2019	21.50	11.000	15	15.408	27.592	ns	5.442
Aytekin et al. 2019	30.50	8.000	15	26.070	34.930	ns	5.586
Aytelkin et al. 2019	51.50	14.500	15	43.470	59.530	ns	5.232
Kargın et al. 2001	27.75	5.360	5	21.095	34.405	ns	5.529
Kargın et al. 2001	43.56	0.780	10	43.002	44.118	ns	5.753
Kargın et al. 2001	61.42	3.330	10	59.038	63.802	(> $\mu_0$ )***	5.711
Kargın et al. 2001	45.12	1.870	10	43.782	46.458	ns	5.742
Kaymacı, 2011	37.43	2.350	10	35.749	39.111	ns	5.733
Kaymacı, 2011	72.60	3.921	10	69.795	75.405	(> $\mu_0$ )***	5.693
<b>Meta-Analysis</b>	<b>50.28</b>	<b>8.00</b>	<b>465</b>	<b>44.723</b>	<b>55.851</b>	<b>ns</b>	

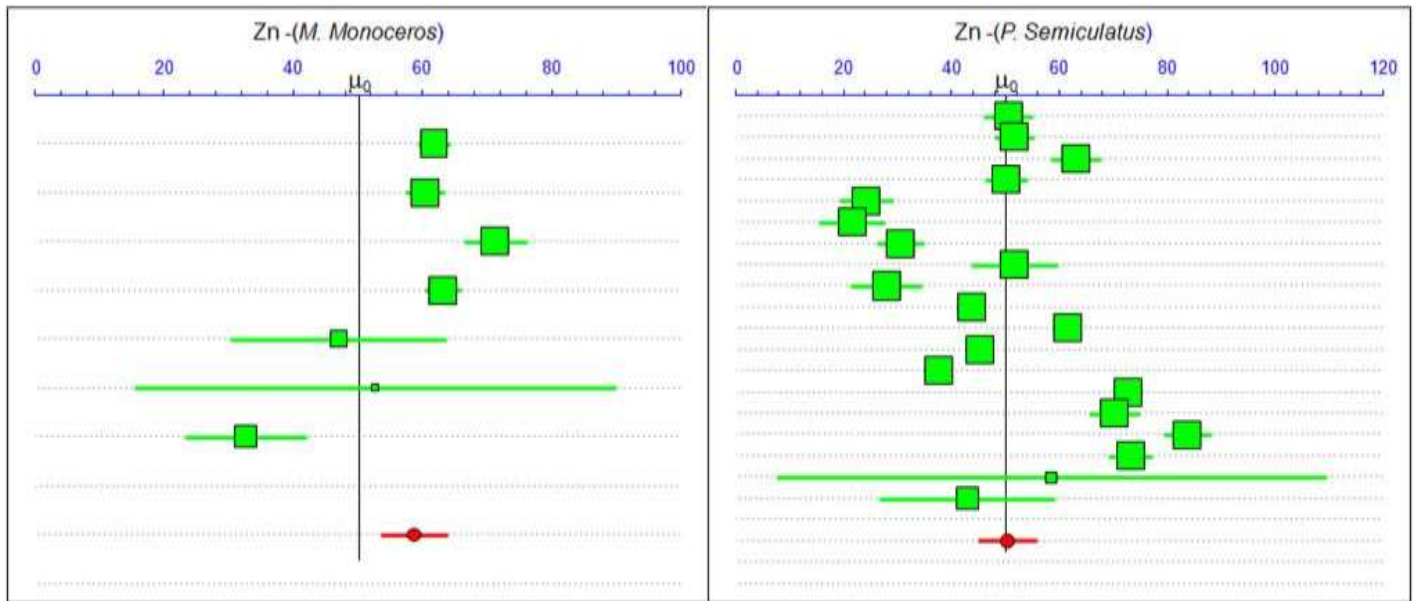


Figure 2. Squares with horizontal bars show mean and their confidant limits for each of studies on Zn accumulation in *M. monoceros* and *P. semiculcatus* in accordance with Table 4 and Table 5, respectively. Circles locate on the bottom show resulted from meta-analyses.  $\mu_0$  point on the top horizontal axes shows testing of Null hypothesis against the referenced value at 5% significance level ( $H_0: \mu_0 \leq 50$  mg kg<sup>-1</sup> Zn).

Şekil 2. Yatay çubuklar üzerindeki kareler, sırasıyla Tablo 4 ve Tablo 5'ye göre *M. monoceros* ve *P. semiculcatus*'ta Zn birikiminin ortalama ve bunların güven sınır limitlerini göstermektedir. Alt kısımda bulunan daireler meta-analizin sonucudur. Üstte yatay eksen üzerindeki  $\mu_0$  noktası, % 5 anlamlılık düzeyinde ( $H_0: \mu_0 \leq 50$  mg kg<sup>-1</sup> Zn) referans değerine karşı sıfır hipotezinin test edildiğini gösterir.

High concentrations of Pb in the marine environment have been reported to occur from various sources such as emissions from wastewater and industries, emissions from leaded gasoline powered vehicles, smoke and dust emissions from coal and gas-fired power plants, roofers and paints and rust inhibitors. Studies have demonstrated that lead contamination

of foodstuffs is caused by soldered seams of cans and soldered lids of condensed milk cans, metal lids of wine bottles and lead pipes used in drinking water systems (Badr et al., 2009; Frignani et al., 1997). Yılmaz et al. (2007) reported that seasonal lead concentrations in the muscles of shrimp (*P. semiculcatus*) caught from Iskenderun Bay were

between 0.2 and 0.6  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Turan et al. (2009) investigated the toxic metal concentrations in various fish species and reported that the average lead level was 0.426  $\mu\text{g g}^{-1}$  in *M. merlangus* muscle captured from the Mediterranean and 0.426  $\mu\text{g g}^{-1}$  in the *M. merlangus* muscle captured. They also reported that it was 0.502  $\mu\text{g g}^{-1}$  in the Black Sea. Sivaperumal et al. (2007) reported that the lead levels in the muscles of different shrimp species were 0.61  $\text{mg kg}^{-1}$  by wet weight.

In the present study, meta-analyses of lead accumulation in *P. semiculcatus* (a high heterogeneity among studies with I-square = 99.982%) and *M. monoceros* (I-square = 94.281%) yielded a very strong significant difference ( $\mu_0 > 2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Pb}^{***}$ ) (Table 6-Table 7 and Figure 3). These values were found to be above the acceptable limit (2.0 ppm) stipulated by WHO (2005) and (2  $\text{mg kg}^{-1}$ ) FAO (2007) for consumption in shrimp. In addition, the Pb concentration in the studied shrimp was above the risk international standards (median 2.0  $\mu\text{g g}^{-1}$  vs. 0.5-10.0 wet weight) given by the United Nations Food and Agriculture Organization Reference Dose (risk-based); United States Environmental Protection Agency (USEPA, 2015). This is confirmed by the study of Al Farraj et al (2013), who stated that this type of domestic transport causes a significant increase in the level of pollution. Lead concentrations in the edible parts of the body in invertebrate samples obtained different stations in the bay have been studied by many researchers. Lead levels of the *Penaeus semisulcatus* muscle have been reported by many researchers and the values obtained can be listed as follows; Kargin et al. (2001) (5.7±0.58-8.5±0.96 dw), Çoğun et al. (2005) (15.4±1.44-28.6±2.15 dw), Yılmaz and Yılmaz (2007) (0.2±0.1- 0.6±0.2 ww for female fish) and Kaymacı (2011) (n.d.-1.035±0.516 ww). *Sepia officinalis*, *Monodon taturbinata* and

*Spondylus spinosis*, Duysak et al. (2013) (1.74±0.36 ww for female fish), Duysak and Ersoy (2014) (1.44±0.32-90.8±2.61 dw) and Türkmen et al. (2006) (4.63-352 dw).

Mean Pb levels in *Litopenaeus vannamei* and *Panulirus homarus* were higher than the FAO/WHO guideline limit, but lower than the FAO/WHO guideline limit in *Metapenaeus affinis* and *Fenneropenaeus indicus* (FAO/WHO, 2004, 2006).

Average As levels in *Panulirus homarus* and *Penaeus semisulcatus* were found to be higher than the FAO/WHO guideline limit (FAO/WHO, 2004, 2006). The average Pb in *Aristaeo morphafoliacea* living in the Mediterranean and *Penaeus kerathurus* (Izmir Bay) was 0.43±0.01 (Olgunoğlu et al., 2015) and 0.37 - 0.86  $\text{mg kg}^{-1}$  dw. (Dokmeci et al., 2014); This was similar to our study, but Pb (0.51-2.12  $\text{mg kg}^{-1}$  dw) levels were found to be higher in *Parapenaeus longirostris* (Türkmen, 2012) living in Tekirdağ, on the Marmara Sea Coast, compared to the levels of our study. However, depending on the technological developments, some values in the water change depending on the time. For example, the development of heavy industry or the increase of factories.

Copper is an essential element in human metabolism, and it is estimated that adults need 2.0 mg of copper per day. In human blood, there is 0.8 mg Cu ++ ions per liter. It plays an important role in the release of tissue iron for erythrocyte formation, bone, central nervous system and connective tissue development. In case of excessive intake, inflammation of the mucosa, vascular diseases, liver and kidney diseases and central nervous system irritations with depression can be seen (Jenkins, 1989). Although copper is a widely used metal, when it is not removed from the body, it causes Wilson's disease, which is characterized by the accumulation of toxic levels of

Table 6. Mean and Standard deviation-Sd with their sample size (n) and confidant intervals (95%) of the studies on Pb accumulation in *M. monoceros* and tested referenced value ( $\mu_0 \leq 2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Pb}$ ,  $\alpha = 0.05$ ) with their weighting (%) in meta-analysis

Çizelge 6. *M. monoceros* için Pb birikiminin ortalama ve standart sapma, örnek büyüklüğü, güven aralığı, referans değerleri ( $\mu_0 \leq 2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Pb}$   $\alpha = 0.05$ ) ve ağırlık yüzdesi (%).

References	<i>M. Monoceros</i>		C. interval (95 %)		$(\mu_0 \leq 2 \text{ mg kg}^{-1})$		weighting (%)
	Mean (Pb)	Sd	n	Lower L.	Upper L.	Sig. ( $\alpha = 0.05$ )	
Kargin et al. 2001	11.300	2.720	10	9.355	13.245	(> $\mu_0$ )***	15.542
Kargin et al. 2001	10.300	2.973	10	8.174	12.426	(> $\mu_0$ )***	15.457
Kargin et al. 2001	21.600	3.542	10	19.066	24.134	(> $\mu_0$ )***	15.244
Kargin et al. 2001	12.100	2.909	10	10.019	14.181	(> $\mu_0$ )***	15.479
Kaymacı, 2011	3.785	26.099	106	-1.241	8.811	ns	12.780
Kaymacı, 2011	4.005	26.820	106	-1.160	9.170	ns	12.638
Kaymacı, 2011	4.970	25.688	106	0.023	9.917	ns	12.861
<b>Meta-Analysis</b>	<b>10.143</b>	<b>4.090</b>	<b>358</b>	<b>6.179</b>	<b>14.107</b>	<b>(&gt;<math>\mu_0</math>)***</b>	

Table 7. Mean and Standard deviation-Sd with their sample size (n) and confidant intervals (95 %) of the studies on Pb accumulation in *P. semiculcatus* and tested referenced value ( $\mu_0 \leq 2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Pb}$ ,  $\alpha = 0.05$ ) with their weighting (%) in meta-analysis.

Çizelge 7. *P. semiculcatus* için Pb birikiminin ortalama ve standart sapma, örnek boyutu, güven aralığı, referans değerleri ( $\mu_0 \leq 2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Pb}$ ,  $\alpha = 0.05$ ) ve ağırlık yüzdesi (%).

References	<i>P. Semiculcatus</i>		n	C. interval (95 %)		Sig. ( $\alpha = 0.05$ )	Weighting (%)
	Mean (Pb)	Sd		Lower L	Upper L		
Çoğun et al. 2006	15.400	7.343	26	12.434	18.366	(> $\mu_0$ )***	5.550
Çoğun et al. 2006	16.200	4.946	26	14.202	18.198	(> $\mu_0$ )***	5.561
Çoğun et al. 2006	28.600	10.963	26	24.172	33.028	(> $\mu_0$ )***	5.524
Çoğun et al. 2006	16.500	8.974	26	12.875	20.125	(> $\mu_0$ )***	5.539
Aytekin et al. 2019	1.000	0.500	15	0.723	1.277	ns	5.571
Aytekin et al. 2019	3.000	1.000	15	2.446	3.554	(> $\mu_0$ )**	5.570
Aytekin et al. 2019	2.000	1.000	15	1.446	2.554	ns	5.570
Aytekin et al. 2019	1.000	0.500	15	0.723	1.277	ns	5.571
Kargın et al. 2001	4.015	23.279	108	-0.426	8.456	ns	5.520
Kargın et al. 2001	5.175	26.812	108	0.060	10.290	ns	5.504
Kargın et al. 2001	25.030	1.850	10	23.707	26.353	(> $\mu_0$ )***	5.567
Kargın et al. 2001	62.750	0.580	10	62.335	63.165	(> $\mu_0$ )***	5.570
Kaymacı, 2011	49.780	4.400	10	46.632	52.928	(> $\mu_0$ )***	5.551
Kaymacı, 2011	22.180	0.620	10	21.736	22.624	(> $\mu_0$ )***	5.570
<b>Meta-Analysis</b>	<b>6.300</b>	<b>2.024</b>	<b>10</b>	<b>4.852</b>	<b>7.748</b>	<b>(&gt;<math>\mu_0</math>)***</b>	

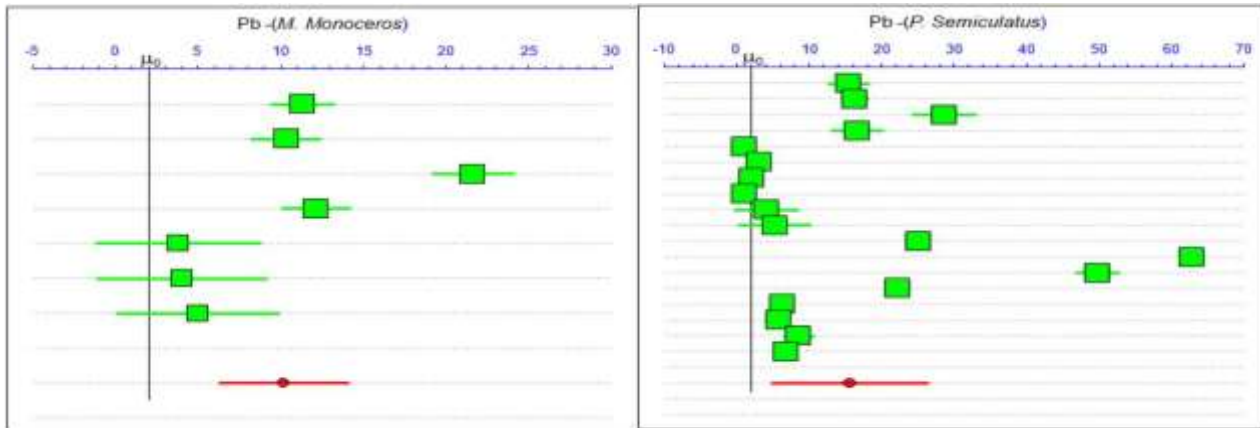


Figure 3. Squares with horizontal bars show mean and their confidant limits for each of studies on Pb accumulation in *M. monoceros* and *P. semiculcatus* in accordance with Table 6 and Table 7, respectively. Circles locate on the bottom show resulted from meta-analyses.  $\mu_0$  point on the top horizontal axes shows testing of Null hypothesis against the referenced value at 5% significance level ( $H_0: \mu_0 \leq 2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Pb}$ ).

Şekil 3. Yatay çubuklar üzerindeki kareler, sırasıyla Tablo 6 ve Tablo 7'ye göre *M. monoceros* ve *P. semiculcatus*'ta Pb birikiminin ortalama ve bunların güven sınır limitlerini göstermektedir. Alt kısımda bulunan daireler meta-analiz sonucudur. Üstte yatay eksen üzerindeki  $\mu_0$  noktası, %5 anlamlılık düzeyinde ( $H_0: \mu_0 \leq 2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Pb}$ ) referans değerine karşı sıfır hipotezinin test edildiğini gösterir.

copper in many organs, tissues, especially liver, brain and eyes. The initial steps of copper absorption and transport to the liver are normal, causing the absorbed copper not to enter the circulation in the form of ceruloplasmin, and its excretion into bile is markedly reduced. Copper in excess of certain concentrations is toxic to crustaceans because it affects several important physiological and biological functions at the molecular and cellular level. Copper

is known to cause toxic liver damage with its rapid accumulation in the liver. Copper damages cellular microanatomy and the ultrastructure of organelles, including mitochondria, endoplasmic reticulum, and the nuclear membrane (Frías-Espéricueta et al., 2003; Yang et al., 2008). Generally, in a patient who reaches the age of five, copper unrelated to ceruloplasmin spreads into the circulation and undergoes hemolysis and causes pathological changes

in areas such as the brain, cornea, kidneys, bone joints, and parathyroids. Meanwhile, the urine excretion of copper increases significantly. Wilson's disease manifests with mild or severe changes in the liver. These changes are mild or moderate fatty changes, acute hepatitis, chronic hepatitis and cirrhosis, respectively (Yang et al., 2008).

Copper (Cu) has been reported to be one of the heavy metals most frequently occurring in industrial wastewater (Pamukoğlu and Kargı, 2007). Copper enters aquatic ecosystems via wastes in ionic form or complexes organic and inorganic ligands and they can accumulate in tissues. Copper plays a biologically important role in the growth and life of most aquatic organisms. However, it can become toxic to marine organisms if it exceeds a certain threshold (Kennish, 1992). Copper's entry into the marine environment; It comes from different sources, including mining, smelting, domestic and industrial activities, and algaecides and antifouling paints on boat hulls (Fabrizio, 2012). Copper is highly toxic in aquatic environments and has effects on fish, invertebrates, and amphibians, and all three groups are equally sensitive to chronic toxicity (USEPA, 2015). Crustaceans such as shrimp, lobster and crab need Cu especially as it acts as oxygen carrier in their blood (Fredrick and Ravichandran, 2012). Everaarts and Nieuwenhuize (1995) found that because many crustaceans use Cu in a blood pigment, Cu concentrations in crustaceans can increase (60 and 140  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) compared to other groups (polykets and mollusks). In this study, the Cu level was above ( $\mu_0 \leq 20 \text{ mg kg}^{-1}$ ). These values were found above the allowable limit for shrimp set by FAO (1992) (20 ppm) and WHO (1998) and (10 ppm). The toxicity of copper at high concentrations is due to its coagulating effect on cellular proteins and interfering with respiratory processes; Copper in low concentrations causes

degenerative changes in certain tissues and inhibits the Glutathione balance.

In contrast to a high heterogeneity among the Cu accumulation studies on *M. monoceros* (I-square = 89.245%), meta-analyses showed a non-significance difference against the referenced level ( $\mu_0 \leq 20 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cu}$ ). However, meta-analyses of copper accumulation in *P. semiculcatus* showed both high heterogeneity among studies (I-square = 99.630%) and a very strong significant difference against the referenced level ( $\mu_0 \leq 20 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cu}^{***}$ ) (Table 8 and Table 9 and Figure 4). Other studies also showed accumulation of Cu was over standard limit values. Kaya and Türkoğlu (2017) observed that arsenic levels in shrimp were found to be above all the legal limit values. Yılmaz et al. (2018) indicated that domestic wastewater and industrial activities in the region need to be monitor in future perspective. Some differences between the results of the studies conducted in this region are thought to be due to many reasons such as sample size, duration of study, poor evaluation of the results, and lack of analysis results. This situation emerges as a situation that should be examined well in terms of human health. Since these shrimps are used in the human diets. Since the early 2000s, concentrations of heavy metals entering the Iskenderun Gulf have rapidly accumulated due to rapid local population and industrial development. This study indicates potential contamination of shrimp samples with metals in the different locations of Iskenderun bay which may indicate that the Cu effluents contributed to high levels of these metals in aquatic environments.

Zinc, an essential element, is found in human cells, tissues and organs. Although it is abundant as a mineral, it is present in air, soil, water and all foods. Usage areas of zinc; coating processes of iron and other metals, dry cell batteries, alloy manufacturing,

Table 8. Mean and Standard deviation-Sd with their sample size (n) and confidant intervals (95%) of the studies on Cu accumulation in *M. monoceros* and tested referenced value ( $\mu_0 \leq 20 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cu}$ ,  $\alpha = 0.05$ ) with their weighting (%) in meta-analysis.

Çizelge 8. *M. monoceros* için Cu birikiminin ortalama ve standart sapma, örnek büyüklüğü, güven aralığı, referans değerleri ( $\mu_0 \leq 20 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cu}^{***}$ ,  $\alpha = 0.05$ ) ve ağırlık yüzdesi (%).

References	<i>M. Monoceros</i>			C. interval (95 %)		$(\mu_0) \leq 20 \text{ mg kg}^{-1}$	Weighting (%)
	Mean (Cu)	Sd	n	Lower L.	Upper L.	Sig. ( $\alpha = 0.05$ )	
Kargın et al. 2001	22.100	3.637	10	19.499	24.701	ns	21.189
Kargın et al. 2001	20.600	3.289	10	18.247	22.953	ns	21.441
Kargın et al. 2001	30.700	3.605	10	28.121	33.279	(> $\mu_0$ )***	21.213
Kargın et al. 2001	22.500	3.320	10	20.125	24.875	(> $\mu_0$ )*	21.419
Kaymacı, 2011	40.155	150.316	106	11.206	69.104	ns	1.871
Kaymacı, 2011	34.610	264.598	106	-16.348	85.568	ns	0.640
Kaymacı, 2011	15.100	41.646	106	7.080	23.120	ns	12.227
<b>Meta-Analysis</b>	23.250	4.348	358	19.164	27.337	ns	



Table 9. Mean and Standard deviation-Sd with their sample size (n) and confidant intervals (95 %) of the studies on Cu accumulation in *P. semiculatus* and tested referenced value ( $\mu_0$ )  $\leq 20$  mg kg<sup>-1</sup> Cu,  $\alpha = 0.05$  with their weighting (%) in meta-analysis.

Çizelge 9. *P. semiculatus* için Cu birikiminin ortalama ve standart sapma, örnek büyüklüğü, güven aralığı, referans değerleri ( $\mu_0$ )  $\leq 20$  mg kg<sup>-1</sup> Cu,  $\alpha = 0.05$ ) ve ağırlık yüzdesi (%).

References	<i>P. Semiculcatus</i>			C. interval (95 %)		Sig. ( $\alpha = 0.05$ )	Weighting (%)
	Mean (Cu)	Sd	n	Lower L.	Upper L.		
Çoğun et al. 2006	27.90	10.912	26	23.493	32.307	(> $\mu_0$ )**	5.593
Çoğun et al. 2006	28.80	6.323	26	26.246	31.354	(> $\mu_0$ )***	5.658
Çoğun et al. 2006	41.90	13.410	26	36.483	47.317	(> $\mu_0$ )***	5.544
Çoğun et al. 2006	30.40	6.527	26	27.764	33.036	(> $\mu_0$ )***	5.656
Aytekin et al. 2019	87.50	8.000	15	83.070	91.930	(> $\mu_0$ )***	5.600
Aytekin et al. 2019	127	38.000	15	105.956	148.044	(> $\mu_0$ )***	4.148
Aytekin et al. 2019	74.5	3.500	15	72.562	76.438	(> $\mu_0$ )***	5.674
Aytekin et al. 2019	212	27.500	15	196.771	227.229	(> $\mu_0$ )***	4.763
Kargın et al. 2001	34.24	11.990	5	19.352	49.128	ns	5.122
Kargın et al. 2001	28.50	3.850	10	25.746	31.254	(> $\mu_0$ )***	5.659
Kargın et al. 2001	34.23	1.180	10	33.386	35.074	(> $\mu_0$ )***	5.689
Kargın et al. 2001	26.44	1.430	10	25.417	27.463	(> $\mu_0$ )***	5.687
Kaymacı, 2011	19.35	1.290	10	18.427	20.273	ns	5.688
Kaymacı, 2011	31.20	5.439	10	27.309	35.091	(> $\mu_0$ )***	5.628
<b>Meta-Analysis</b>	<b>49.689</b>	<b>14.719</b>	<b>421</b>	<b>27.204</b>	<b>32.996</b>	<b>(&gt;<math>\mu_0</math>)***</b>	

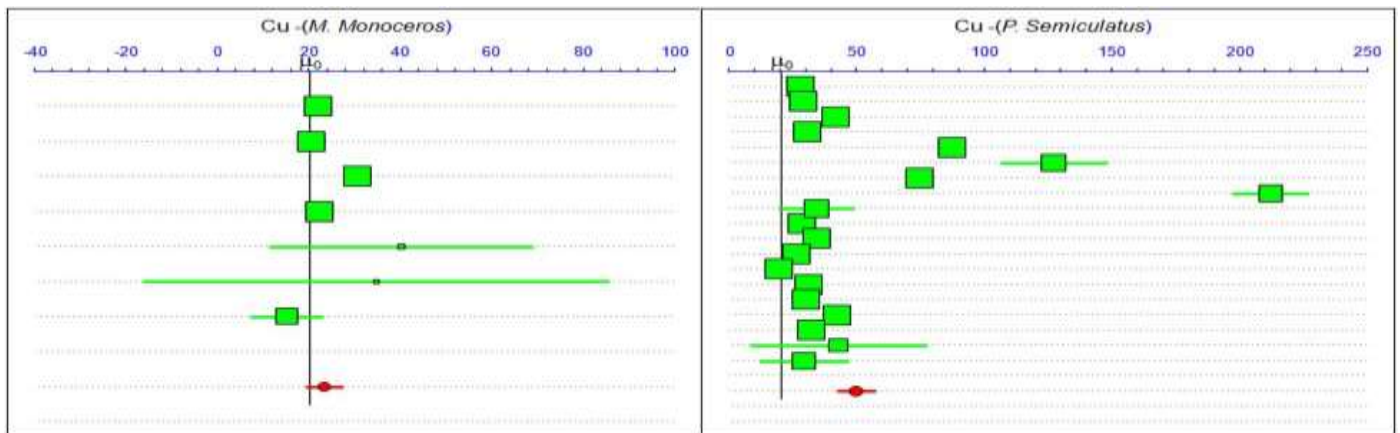


Figure 4. Squares with horizontal bars show mean and their confidant limits for each of studies on Cu accumulation in *M. monoceros* and *P. semiculcatus* in accordance with Table 8 and Table 9, respectively. Circles locate on the bottom show resulted from meta-analyses.  $\mu_0$  point on the top horizontal axes shows testing of Null hypothesis against the referenced value at 5 % significance level ( $H_0: \mu_0 \leq 20$  mg kg<sup>-1</sup> Cu).

Şekil 4. Yatay çubuklar üzerindeki kareler, sırasıyla Tablo 8 ve Tablo 9'a göre *M. monoceros* ve *P. semiculcatus*'ta Cu birikiminin ortalama ve bunların güven sınır limitlerini göstermektedir. Alt kısımda bulunan daireler meta-analizin sonucudur. Üstte yatay eksen üzerindeki  $\mu_0$  noktası, % 5 anlamlılık düzeyinde ( $H_0: \mu_0 \leq 20$  mg kg<sup>-1</sup> Cu) referans değerine karşı sıfır hipotezinin test edildiğini gösterir.

white paint production, ceramics, rubber industry, fertilizers, and some cosmetic and health fields (ATSDR, 2003). Approximately 90% of the zinc in the soil is used in plant growth. In addition, aquatic organisms also accumulate zinc. Zinc accumulates most in the prostate, kidney, muscle and liver.

Insufficient intake of zinc, which causes various damages in living things when taken at high levels, negatively affects more than 200 enzymes (ATSDR, 2003). Zinc is essential for various metabolic processes in the human body, such as development, skin integrity and function, egg maturation, immune

power, wound healing and carbohydrate, fat, protein, nucleic acid synthesis or degradation. It acts as a co-enzyme component for more than 70 metalloenzyme functions such as alcohol dehydrogenase, carbonic anhydrase and carboxypeptidase. It must be present in water and feed in small amounts (Roohani et al., 2012). Studies conducted in the aquatic environment revealed that zinc can be harmful not only in high concentrations but also in low concentrations if exposed for a long time. Zinc deficiency negatively affects growth in young people, weakens the immune system, and also prevents the development of babies in pregnant women. Approximately 90% of the zinc in the human body is found in bones and muscles. Problems such as excessive zinc intake in humans, decreased appetite and immune system activity, delayed healing of wounds, and increased cholesterol together with excessive skin sensitivity have been identified (ATSDR, 2003).

Zinc is a naturally abundant element found in agriculture, food waste, pesticide production, and antifouling paints as a common contaminant. Zinc plays an important role as an important trace element in all living systems (Merian, 1991). However, it is a USEPA (United States Environmental Protection Agency) priority pollutant (Keith and Telliard, 1979). High concentration of zinc in water is particularly toxic to many species of algae, crustaceans, and salmon (Leland and Kuwabara, 1985) and has strong effects on macro invertebrates such as molluscs, crustaceans, odonates, and ephemera (Gore and Bryant, 1986).

In the current study high heterogeneity among the studies on Zn accumulation in *P. semiculcatus* (I-square = 99.088 %) and *M. monoceros* (I-square = 90.387 %) were observed. Despite that high heterogeneity, meta-analysis showed that zinc accumulation on *P. semiculcatus* was not statistically important ( $\mu_0 \leq 50 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Half of the studies on *M. monoceros* were statistically important ( $\mu_0 > 50 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Zn}^{***}$ ), and meta-analysis yielded a moderate significant result on zinc accumulation in that species ( $\mu_0 > 50 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Zn}^{**}$ ). On the other hand, Sadiq et al. (1982) noted that the entire body Zn of the Persian Gulf was 148 ppm / dry shrimp. This value is significantly higher than the level achieved in the current study. In another study of the green tiger shrimp northwest of the Persian Gulf, Pourang et al. (2005) recorded the highest mean Zn concentration (43.39 ppm / fresh weight) in the hepatopancreas. They found that the Zn levels in the exoskeleton and muscle were 8.56 and 8.98 ppm / wet weight, respectively. However, for *M. monoceros* the Zn concentrations in these studies were above the risk international standards (40-100 with a median wet weight of 50) given by the United Nations Food and Agriculture Organization Reference Dose (risk-based);

United States Environmental Protection Agency (USEPA, 2015). Zn levels in this study are below the maximum limits for *P. semiculcatus* (FAO, 1992) and seafood (100 ppm) (WHO, 1998).

Aytekin et al. (2019) stated that metal concentrations are lower in muscles than gills, liver shows higher values. They also indicated that there were significant accumulation of Cd and Pb in edible tissues of *P. semiculcatus*. Other studies also showed accumulation of Cd and Cu was over standard limit values. Kaya and Türkoğlu (2017) observed that arsenic levels in shrimp were found to be above all the legal limit values. Yilmaz et al. (2017) indicated that domestic wastewater and industrial activities in the region need to be monitor in future perspective. Can et al. (2020) indicate that the Target Hazard Quotients (THQ) and Total Target Hazard Quotients (TTHQ) values based on muscle for Cr, Cu, Fe, Mn and Zn were not exceeded 1.00 for some fish species. Some differences between the results of the studies conducted in this region are thought to be due to many reasons such as sample size, duration of study, poor evaluation of the results, and lack of analysis results. This situation emerges as a situation that should be examined well in terms of human health. Since these shrimps are used in the human diets. Since the early 2000s, concentrations of heavy metals entering the Iskenderun Gulf have rapidly accumulated due to rapid local population and industrial development. This study indicates potential contamination of shrimp samples with metals in the different locations of Iskenderun bay which may indicate that the Cd, Pb and Cu effluents contributed to high levels of these metals in aquatic environments. Literature values indicated that almost 43% shellfish contained exceeding limit of Cd in the edible parts of shellfish and may cause potential health risk.

Although high concentrations of all metal ions pose a threat to human health, some metal ions are required at low concentrations in order to maintain metabolic activity in the body. Therefore, the levels of heavy metal ions in food and water consumed by humans are important. In all sampled, Cd, Zn, Pb and Cu levels were determined in the muscle tissue or other part of animal, which is the consumable part of the shrimp and these levels were determined at not acceptable levels for human consumption (Cd:  $0.050 \text{ mg kg}^{-1}$  according to the Turkish Food Codex, 2011). Cu:  $20.0 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Pb:  $0.30 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Zn:  $50.0 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Joint FAO/WHO, 2011). According to FAO (1992), these values are  $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$  for Cd and Pb; it is  $30.0 \text{ mg kg}^{-1}$  for Cu and Zn. The daily tolerable amount of heavy metals for an individual with a body weight of 60 kg was determined by the FAO/WHO as 60 mg for Zn, 3 mg for Cu, 214  $\mu\text{g}$  for Pb, and no value for Cd was reported (Joint FAO/WHO, 2011).

These results can be expected due to existing systems, industrialization and urbanization in the bay. The main marine industry structures of the Iskenderun Bay are ports and piers and filling facilities. These are BOTAS Petrol Terminal and Toros Fertilizer Terminal in Ceyhan; BOTAS Petroleum Terminal, TPAO Pier, Aygaz LPG Filling Facilities and Pier and Mobile Oil Filling Facilities and Pier in Dörtöyl; Gübretaş Fertilizer Pier and Ekinciler Iron and Steel Industry Pier in Sariseki Organized Industrial Zone (OİE); Iskenderun Highway Asphalt Facilities Pier, Petrol Ofisi Filling Facilities and Pier, Shell Liquid Cargo Filling Facilities. In addition, urbanization is mostly concentrated in Botaş and Iskenderun locations. Looking at the current system, two main types of circulation are seen in the Bay. During the summer months, the water coming from the Syrian coast enters the Gulf from close to Karataş, and two recesses are formed, one in the inside clockwise and the outside in anticlockwise direction. This surface circulation pattern is also visually observed from large collections of plastic materials at the centers of the gyres. Ceyhan river inputs are carried inland by the westerly winds that prevail in summer. The cellular circulatory system in the bay begins to deteriorate in autumn. In winter, open sea waters enter the bay near Akıncı Burnu and proceed along the south coast towards the innermost areas. The

waters eventually curl counterclockwise and leave the bay near the Karataş region.

## CONCLUSION

In this study heavy metal accumulations in two economically important shrimp species were evaluated in terms of health risk to human based on previous studies from Iskenderun Bay by a series of meta-analyses. Findings would be very important for mainly consumer, authorities, and fishing industry, etc., and a summary of the major findings were represented in Table 10. Cd, Pb and Cu metals for *P. semiculcatus* were detected above except Zinc was below the values recommended by FAO and WHO. Also, Pb and Zn metals for *M. monoceros* were observed above the values recommended by FAO and WHO. Although, the results do not seem to be good, but (i) detrimental impacts of heavy metals on human health become apparent only when long-term consumption of contaminated crustaceans occurs, (ii) much more well-organized studies (with more samples, suitable sampling strategy, etc.) are needed to make a ultimate decision on whether the contents of these considered heavy metals in the these two shrimp species were exceeded or not the reference points.

Table 10. Meta-analysis results showing the accumulation exceeding status (based on legal limits) of Cd, Pb, Cu and Zn on the edible part of two shrimp species.

Çizelge 10. İki karides türünün yenilebilir kısmında Cd, Pb, Cu ve Zn'nin birikme durumunu (yasal sınırlara göre) gösteren meta analiz sonuçları.

Metals (mg kg <sup>-1</sup> )	<i>Metapenaeus monoceros</i>	<i>Peneaus semiculcatus</i>
Cd	not exceed	exceed
Pb	exceed	exceed
Cu	not exceed	exceed
Zn	exceed	not exceed

## Statement of Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

## Ethical statement

All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed by the authors.

## Authorship Contribution Statement

The contribution of the authors is equal

## REFERENCES

Al-Farraj AS, Sewailem MAI, Aly A, Wabel M AI, Wabel MAI 2013. Assessment and heavy metal behaviors of industrial waste water: A case study of Riyadh city, Saudi Arabia Proceedings of the International Academy of Ecology and

Environmental Sciences, 3: 266-277.

Ali H, Khan E, Ilahi I 2019. Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. Hindawi Journal of Chemistry, 2019 :1-14.

Alloway BJ 1990. Heavy metals in soils. New York: Wiley.

Anonymous 2008. Regulation of setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Gazette, 17 May, Issue 26879.

ATSDR 2003. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Retrieved Jun 20, 2017, from <http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaq.html>.

Aytekin T, Kargin D, Çoğun HY, Temiz Ö, Varkal HS, Kargin F 2019. Accumulation and health risk assessment of heavy metals in tissues of the shrimp and fish species from the Yumurtalık coast of Iskenderun Gulf, Turkey. Heliyon, 5(8): pp.



- e02131.
- Barone G, Dambrosio A, Storelli A, Garofalo R, Busco V, Storelli M 2018. Estimated Dietary Intake of Trace Metals from Swordfish Consumption: A Human Health Problem. *Toxics*, 6(2):22.
- Badr N, El-Fiky A, Mostafa A, Al-Mur B, 2009. Metal pollution records in core sediments of some Red Sea coastal areas, Kingdom of Saudi Arabia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 155(4): 509-526.
- Bosch A O'Neill B, Sigge GO, Kerwath SE, Hoffman LC 2016. Heavy metals in marine fish meat and consumer health: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(1): 32-48.
- Brien TJO, Ceryak S, Patierno SR 2003. Complexities of chromium carcinogenesis: role of cellular response, repair and recovery mechanisms. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 533: 3-36.
- Busaidi MAI, Yesudhasan P, Mughairi SAJ, Rahbi WAJ, Harthy KAJ, Mazrooei NAJ, Habsi SAJ 2011. Toxic metals in commercial marine fish in Oman with reference to national and international standards. *Chemosphere*, 85: 67-73.
- Can MF, Mazlum Y, Demirci A, Aktaş M 2004. The Catch Composition and Catch per Unit of Swept Area (CPUE) of Penaeid Shrimps in the Bottom Trawls from İskenderun Bay, Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 4: 87-91.
- Can MF, Yılmaz AB, Mazlum Y 2019. A Meta-Analysis: Geo-statistical approach on the THQ values of Cu, Zn, and Fe accumulation in some fish species from İskenderun Bay, North-Eastern Mediterranean. V. International Congress on Natural and Health Sciences (ICNHS), 2019:69-89.
- Can MF, Yılmaz AB, Yanar A, Kılıç E 2020. Assessment of Accumulation and Potential Health Risk of Cr, Mn, Fe, Cu, and Zn in Fish from North-Eastern Mediterranean Sea. *Pollution*, 6(3): 597-610.
- Censi P, Spoto SE, Saiano F, Sprovieri M, Mazzola S, Nardone G, Di Geronimo SI, Punturo R, Ottonello D 2006. Heavy metals in coastal water systems. A case study from the northwestern Gulf of Thailand. *Chemosphere*, 64:1167-1176.
- Cogun HY, uzereroglu TA, Kargin YF, Fırat O 2005. Seasonal variation and tissue distribution of heavy metals in shrimp and fish species from the Yumurtalık coast of İskenderun gulf, Mediterranean, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75: 707-715.
- Çoğun HY, Yüzereroğlu TA, Fırat Ö, Gök G, Kargin F 2006. Metal concentrations in fish species from the northeast Mediterranean Sea. *Environmental Monitoring and Assessment*, 121(1-3):431-438.
- Duysak Ö, Ersoy B, Dural M 2013. Metal concentrations in different tissues of cuttlefish (*Sepia officinalis*) in İskenderun Bay, Northeastern Mediterranean. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(2):205-210.
- Duysak Ö, Ersoy B 2014. A Biomonitoring Study: Heavy Metals in *Monodonta turbinata* (Mollusca: Gastropoda) From İskenderun Bay, North-Eastern Mediterranean. *Pakistan Journal of Zoology*, 46(5): 1317-1322.
- Dokmeci AH, Yıldız T, Ongen A, Sivri N 2014. Heavy metal concentration in deepwater rose shrimp species (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) collected from the Marmara Sea Coast in Tekirdağ. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(4): 2449-2454.
- European Union, (EU) 2008. Commission Regulation (EC) No.629/2008. Setting maximum levels for certain contaminants in food stuffs. *Official Journal of the European Union L 173*.
- European Union, (EU) 2001. Commission Regulation as regards heavy metals, Directive, 2001/22/EC, No: 466.
- Everaarts JM Nieuwenhuize J 1995. Heavy metals in surface sediment and epibenthic macroinvertebrates from the coastal zone and Continental Slope of Kenya. *Marine Pollution Bulletin*, 31: 281- 290.
- Fabrizio F 2012. The Response of Benthic Foraminiferal Assemblages to Copper Exposure: A Pilot Mesocosm Investigation. *Journal of Environmental Protection*, 3(4): 342-352.
- FAO, 1992. FAO/WHO, Food standard programme. 2nd ed. Codex Alimentarius Commission, 1(1): 114-190.
- FAO 2005. Statistics division, food security statistics, food consumption. Rome, 2004. Available at <http://www.fao.org/es/ESS/faostat/foodsecurity/indexen.htm>.
- FAO 2007. Statistics division, food security statistics, food consumption. Rome/Italy, 2006. Available at [http://www.fao.org/es/ESS/faostat/foodsecurity/index\\_en.htm](http://www.fao.org/es/ESS/faostat/foodsecurity/index_en.htm).
- FAO/WHO 2006. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Provisional agenda, report of the 38th session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, Thirty-eight session, The Hague, The Nederland's 24-28 April 2006. Retrieved Jun 20, 2017, from <ftp://fao.org/codex/ccfac38/fa38-18e.pdf>.
- FAO/WHO 2004. Food and Agriculture Organization/World Health Organization, Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA 1956-2003), (First through sixty first meetings). (Washington D.C.: ILSI Press, International Life Sciences Institute).
- FAO/WHO, Joint FAO/WHO 2011. Food Standards Programme Codex Committee on Contaminants in Foods, Codex Alimentarius Commission, Hegue,



- Netherland.
- Fredrick WS, Ravichandran S 2012. Hemolymph proteins in marine crustaceans. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(6): 496–502.
- Frías-Espericueta MG, Voltolina D, Osuna-López JI 2003. Acute toxicity of copper, zinc, iron, and manganese and of the mixtures copper-zinc and iron-manganese to whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71(1): 68–74.
- Frignani M, Bellucci I, Langone I, Muntau H 1997. Metal fluxes to the sediments of the northern Venice lagoon. *Marine Chemistry*, 85(4): 275-292.
- Gokoglu N, Yerlikaya P, Gokoglu M 2008. Mini-review trace elements in edible tissues of three shrimp species (*Penaeus semisulcatus*, *Parapenaeus longirostris* and *Palaemon serratus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88:175–178.
- Gore JA, Bryant RM 1986. Changes in fish and benthic macro invertebrate assemblages along the impounded Arkansas River. *Journal Freshwater Ecology*, 3:333-338.
- Heidarieh M, Maragheh MG, Shamami MA, Behgar M, Ziaei F, Akbari Z 2013. Evaluate of heavy metal concentration in shrimp (*Penaeus semisulcatus*) and crab (*Portunus pelagicus*) with INAA method. *SpringerPlus*, 2(1): 1-5.
- Jenkins KJ 1989. Effect of copper loading of preruminant calves on intracellular distribution of hepatic copper, zinc iron and molybdenum. *Journal of Dairy Science*, 72: 2346-2350.
- Kargin F, Dönmez A, Cogun H 2001. Distribution of heavy metals in different tissues of the shrimp *Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monocerus* from the Iskenderun Gulf, Turkey: Seasonal variations. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 66:102–109.
- Kaya G, Turkoglu S 2017. Bioaccumulation of Heavy Metals in Various Tissues of Some Fish Species and Green Tiger Shrimp (*Penaeus semisulcatus*) from Iskenderun Bay, Turkey, and Risk Assessment for Human Health. *Biological Trace Element Research*, 180(2):314–326.
- Kaymacı S 2011. Heavy metal contents of shrimp species from Iskenderun Bay. MSc Dissertation, Institute of Natural Sciences, Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey.
- Keenan S, Alikhan MA 1991. Comparative study of cadmium and lead accumulations in *Cambarus bartoni* (Fab.) (Decapoda, Crustacea) from an acidic and neutral lake. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 47:91–96.
- Keith L, Telliard W 1979. 'ES&T special report: priority pollutants: Ia perspective view', *Environmental Science & Technology*, 13 (4): 416-23.
- Kennish L 1992. Toxicity of heavy metals: effects of Cr and Se on human's health. *Journal of Indian Public Health Education*, 2 (1):36-64.
- Korkmaz C, Ay Ö, Çolakfakioğlu C, Cıcık B, Erdem C 2017. Heavy Metal Levels in Muscle Tissues of Solea solea, Mullus barbatus, and Sardina pilchardus Marketed for Consumption in Mersin, Turkey. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(8): 315.
- Lee KG, Kweon H, Yeo JH, Woo S, Han S, Kim JH 2011. Characterization of tyrosine-rich Antheraea pernyi silk fibroin hydrolysate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48: 223–226.
- Leland HV, Kuwabara JS 1985. Trace Metals, p. 374-415 In G.M. Rand & S.R. Petrocelli (eds.). *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Hemisphere, New York, USA.
- Mattia GD, Bravi MC, Laurenti O, Luca OD, Palmeri A, Sabatucci A, Mendico G, Ghiselli A 2004. Impairment of cell and plasma redox state in subjects professionally exposed to chromium. *American Journal of Industrial Medicine*, 46:120-125.
- Mazlum Y, Yılmaz AB, Yanar A 2016. Uptake and distribution of different copper compound in tissues of crayfish (*Astacusteleostactylus*). *Fresenius Environ Bulletin*, 25(6):1858–66.
- Merian E 1991. Metals and their compound in the environment. Weinheim Verlag Chemie, Weinheim, 1438.
- Nabavi SF, Nabavi SM, Latifi AM, Eslami S, Ebrahimzadeh MA 2012. Determination of trace elements level of pikeperch collected from the Caspian Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88:401–405.
- Neda AN, Fahimeh S, Tahereh ZK, Leila F, Zahra N, Bahman C 2017. Lead level in umbilical cord blood and its effects on newborns anthropometry. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR* 11(6):1-4.
- Olgunoğlu MP, Olgunoğlu DA, Bayhan YK 2015. Heavy Metal Concentrations (Cd, Pb, Cu, Zn, Fe) in Giant Red Shrimp (*Aristaeomorpha foliacea* Risso 1827) from the Mediterranean Sea. *Polish Journal of Environmental Studies*, 24(2):631-635.
- Olmedo P, Pla A, Hernández AF, Barbier F, Ayouni L, Gil F 2013 Determination of toxic elements (mercury, cadmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk assessment for the consumers. *Environ International*, 59:63–72.
- Pamukoglu M Y, Kargi F 2007. Mathematical modeling of copper (II) ion inhibition on COD removal in an activated sludge unit. *Journal of Hazardous Materials*, 146(2): 372–377.
- Pourang N, Dennis JH 2005. Distribution of trace elements in tissues of two shrimp species from the Persian Gulf and roles of metallothionein in their redistribution. *Environment International* 31:325–341.
- Pourang N, Dennis JH, Ghourchian H 2005.

- Distribution of heavy metals in *Penaeus semisulcatus* from Persian Gulf and possible role of metallothionein in their redistribution during storage. *Environmental Monitoring and Assessment*, 100 (1):71–88.
- Rahman M, Molla A, Arafat S 2010. Status of pollution around Dhaka export processing zone and its impact on Bangshi River water, Bangladesh. *Journal of Nature Science and Sustainable Technology*, 4 (1): 91–110.
- Ray S, Mc Leese DW, Waiwood BA, Pezzack D 1980. The disposition of cadmium and zinc in *Panda& montagui*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 9 (1): 675-681.
- Roohani N, Hurrell R, Wegmueller R, Schulin R 2012. Zinc and phytic acid in major foods consumed by a rural and a suburban population in central Iran *Journal of Food Composition and Analysis* 28 (1):8–15.
- Rumisha C, Mdegela RH, Kochzius M, Leermakers M, Elskens M 2016. Trace metals in the giant tiger prawn *Penaeus monodon* and mangrove sediments of the Tanzania coast: is there a risk to marine fauna and public health? *Ecotox Environ Safe* 132:77–86.
- Rushinadha RK, Sreedhar U, Sreeramulu K 2016. Spatial variation of heavy metal accumulation in coastal sea water, east coast of Andhra Pradesh, India. *International Journal of Applied Research*, 2(12): 394-399.
- Sadiq M, Zaidi TH, Hoda A, Mian AA 1982. Heavy Metal Concentrations in Shrimp, Crab, and Sediment Obtained from AD-Dammam Sewage Outfall Area. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 29:313–319.
- Sireli UT, Goncuoglu M, Yıldırım Y, Gucukoglu A, Cakmak O 2006. Assessment of heavy metals (Cadmium and Lead) in vacuum packaged smoked fish species (Mackerel, *Salmo salar* and *Oncorhynchus mykiss*) marketed in Ankara Turkey. *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23: 353–356.
- Sivaperumal P, Sankar TV, Viswanathan Nair PG 2007. Heavy metal concentrations in fish, shellfish and fish products from internal markets of India visavis international standards. *Food Chemistry*, 102:612–620.
- Turan C, Dural M, Oksuz A, Ozturk B 2009. Levels of heavy metals in some commercial fish species captured from the Black Sea and Mediterranean Coast of Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82:601–604.
- Turkmen G 2012. Seasonal variation of heavy metals in shrimp *Penaeus kerathurus* (forskal, 1775) from Izmir bay, Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11: 2839-2844.
- Türkmen A, Türkmen M, Tepe Y, Mazlum Y, Oymael S 2006. Metal concentrations in blue crab (*Callinectes sapidus*) and mullet (*Mugil cephalus*) in Iskenderun Bay, Northern East Mediterranean, Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 77:186–193.
- Turkish Food Codex, (TFC) 2011. Official Gazette of Republic of Turkey. Turk Gıda Kodeksi, Ankara.
- United States Environmental Protection Agency, (USEPA) 2015. Risk-based concentration table. US Environmental Protection Agency, Washington, DC <http://semspub.epa.gov/work/03/2220569.pdf>
- World Health Organization, (WHO) 1998. Food additives series no.24. Food and Agriculture Organisation, World Health Organisation, Geneva, Switzerland.
- World Health Organization (WHO) 1998. Food additives series no.24. Food and Agriculture Organisation, World Health Organisation, Geneva, Switzerland
- Yang ZB, Zhao YL, Li N, Yang J, Hua XG 2008. Effect of waterborne copper on the Y-organ and content of 20-hydroxyecdysone in *Eriocheir sinensis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 54:69–74.
- Yılmaz AB 2010. Heavy Metal Pollution in Aquatic Environments. (In *Impact, Monitoring and Management of Environmental Pollution*, Nova Science Publishers Incorporated USA: Ed. Nemr AEI) 193–221.
- Yılmaz A, Yılmaz L 2007. Influences of sex and seasons on levels of heavy metals in tissues of green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus* de Hann, 1844). *Food Chemistry*, 101(4):1664–1669.
- Yılmaz AB, Yılmaz L 2007. Influences of sex and seasons on levels of heavy metals in tissues of green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus* de Hann, 1844). *Food Chemistry* 101:1664–1669.
- Yılmaz AB, Yanar A, Alkan EN 2018. Review of Heavy Metal Accumulation in Aquatic Environment of Northern East Mediterranean Sea Part II: Some Non-Essential Metals. *Pollution*, 4(1): 143-181.
- Yılmaz AB, Yanar A, Alkan EN 2017. Review of heavy metal accumulation on aquatic environment in Northern East Mediterranean Sea part I: some essential metals. *Review Environmental Health* 32(2):119–163.
- Yılmaz S, Özvarol AB, Özvarol Y 2009. Fisheries and shrimp economy, some biological properties of the shrimp *Metapenaeus monoceros* (Fabricius, 1789) in the Gulf of Antalya (Turkey). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(12): 2530- 2536.
- Yılmaz AB, Yanar A, Alkan EN 2017. Review of heavy metal accumulation on aquatic environment in Northern East Mediterranean Sea part I: some essential metals. *Reviews on Environmental Health* 32(2):119–163.

## Bazı Ekmeklik Buğday Genotiplerinde SSR (Mikrosatalit) Markörü Kullanılarak Kahverengi Pas Dayanıklılık Geni *Lr10*'un Belirlenmesi

Pakize Özlem KURT POLAT<sup>1</sup>, Köksal YAĞDI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Orhangazi Yeniköy Asil Çelik Meslek Yüksek Okulu, Bursa, <sup>2</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Bursa

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-1818-7243>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-1567-9397>

✉: ozlemkurt@uludag.edu.tr

### ÖZET

Çalışmada, Türkiye’de ekmeklik buğday tarımında sıklıkla tercih edilen çeşitler, CIMMYT-Meksika’dan temin edilen Thatcher hatlar ve bu genotipler arasında yapılan melezlemeler sonucu elde edilen F<sub>1</sub> melez genomlarında, SSR (Basit Dizi Tekrarları-Mikrosatelit) yöntemi kullanılarak, kahverengi pas hastalığına dayanıklılık genleri arasında önemli bir yere sahip olan *Lr10* geninin varlığını incelenmiştir. Araştırma yer alan genotipler, 2013-2017 yetiştirme dönemlerinde; deneme materyalinin çoğaltılması, genotipler arası melezlemelerin gerçekleştirilmesi ve kahverengi pas hastalığının arazi gözlemlerinin yapılması amacıyla Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi deneme alanında yetiştirilmiştir. Yapılan melezlemeler sonucu elde edilen 13 adet F<sub>1</sub> hattı, 22 adet ekmeklik (*Triticum aestivum* L.) buğday çeşidi ile 2 adet Thatcher hat (*Lr10*, *TcHassas*), Bursa Uludağ Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü Tohumluk Laboratuvarında SSR (mikrosatlit) yöntemi kullanılarak DNA analizlerine tabi tutulmuştur. Yapılan analizler sonucunda *Lr10* geni; Karatopak, Kaşifbey ve Gün-91 çeşitlerinde tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma; ekmeklik buğdayda SSR tekniğinin kahverengi pas dayanıklılık genlerini belirlemede kullanılabilir olduğunu saptamış ve ayrıca çalışmada yer alan Thatcher (yakın izogenik) hatlarının dar bir genetik yapıya sahip olmaları sebebiyle, taranan dayanıklılık genlerini belirlemede iyi bir belirteç genom olduğu sonucunda varılmıştır. Gelecekte yürütülecek ıslah programlarında dayanıklılık genleri içeren genotiplerin belirlenmesinde moleküler markörlerin kullanılmasının kısa sürede ve kesin sonuçlara ulaşmada etkili olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 15.05.2020

Kabul Tarihi : 27.10.2020

#### Anahtar Kelimeler

Ekmeklik buğday  
SSR (Mikrosatalit)  
Lr10  
Moleküler Markör

## Identifying Leaf Rust Resistance Gene *Lr10* in Some Bread Wheat Using Simple Sequence Repeat (SSR) Marker

### ABSTRACT

In this study, the existence of the *Lr10* gene, which has an important place among the leaf rust disease genes, was investigated by using the SSR (Simple Sequence Repeats-Microsatellite) method in frequently used F<sub>1</sub> hybrid genomes bread wheat that bred from Thatcher lines of CIMMYT Mexico. In order to reproduce the trial plant material, to perform cross-genotypes and to make field observations of leaf rust disease, 13 F<sub>1</sub> lines, 22 bread (*Triticum aestivum* L.) wheat varieties and 2 Thatcher lines (*Lr10*, *Tc* susceptible) a study was conducted at the experiment fields of Bursa Uludağ University Faculty of Agriculture, Agricultural Application and Research Center between 2013-2017. genotypes were subjected to DNA analysis using the SSR (microsatite) method in the Seed Laboratory of the Field Crops Department of the Bursa Uludağ University Faculty of Agriculture. The analysis results indicated the existence of the *Lr10* gene in Karatopak, Kaşifbey and Gün-91 varieties. In this study; The SSR technique was found to be useful for determining leaf rust resistance genes in bread wheat, and it was

### Research Article

#### Article History

Received : 15.05.2020

Accepted : 27.10.2020

#### Keywords

Bread wheat  
SSR (Microsatellite)  
Lr10  
Molecular Marker

also concluded that the Thatcher (close isogenic) lines in the study had a narrow genetic structure, so it was considered a good marker genome to determine the screened resistance genes. It has been concluded that the use of molecular markers in determining genotypes containing resistance genes in breeding programs will be effective in the future.

**Atf İçin:** Kurt Polat P Ö, Yağdı K 2021. Bazı Ekmeklik Buğday Genotiplerinde SSR (Mikrosatellit) Markörü Kullanılarak Kahverengi Pas Dayanıklılık Geni *Lr10*un Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (4): 850-858. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.738143.

**To Cite :** Kurt Polat P O, Yagdi K 2021. Identifying Leaf Rust Resistance Gene *Lr10* in Some Bread Wheat Using Simple Sequence Repeat (SSR) Marker. KSU J. Agric Nat. 24 (4): 850-858. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.738143.

## GİRİŞ

Buğday, dünyada ekiliş ve üretim bakımından ilk sırada yer alan, insan ve hayvan beslenmesi için önemli bir kültür bitkisidir (Yağdı 2002). Buğday bitkisi çok farklı çeşitleri ihtiva etmesi, geniş adaptasyon yeteneği ve kullanım alanlarının çokluğu sebebiyle ekvator dan kutuplara, alçak ovalardan yüksek yaylalara kadar geniş alanlara yayılabilmiştir. Yüksek nem, verimli toprak isteyen buğday çeşitlerinin yanında, verimliliği düşük topraklarda yetişebilen buğday çeşitleri de vardır. Dünya genelinde besinlerden alınan kalorienin %20'sini sağlayan ve nüfusun % 35'inin temel besini olan buğday, Türkiye için de stratejik ürünlerden birisidir (FAO 2018)

FAO 2018 yılı verilerine göre buğday, Dünya'da 214 milyon ha ekim alanına, 734 milyon ton üretime sahipken, Türkiye'de 7,2 milyon ha ekim alanına, 20 milyon ton üretime sahiptir (FAO 2018). Dünya'da buğday ekiliş alanı olarak Hindistan, üretim miktarı olarak ise Avrupa Birliği ilk sırayı almaktadır. Türkiye ise %3'lük üretim miktarı ile dünya genelinde 9. sırada yer almaktadır.

Türkiye için önemli bir kültür bitkisi olan buğdayın son yıllarda ekim alanlarında azalma gözlemlenmektedir (FAO 2019). Buna karşın nüfus her geçen gün artmakta ve buğdayın kullanım alanları, ihtiyaç miktarı da nüfus artışına paralel olarak artmaktadır. Ekim alanları azalırken talebin artışında ki ters orantının dengelenmesi için verimin artırılması tek çaredir. Sadece verim artışının günümüz buğday tüketim koşullarında yetersiz olduğu bilinmektedir. Verim artışının yanı sıra, biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklı, üstün kalite özelliklerine sahip çeşitlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bitkisel üretimde; gübreleme, sulama, zirai ilaç kullanımını ve bakım işlemleri önemli verim artışları sağlamış olmakla beraber bu denli yoğun tarımsal faaliyetler çevre üzerinde ve ekim alanlarında olumsuz etkiler yaratmıştır ve belirli bir noktadan sonra istenilen verim değerlerine ulaşamamıştır. Bu sebeple ıslah yöntemleri her geçen gün önem kazanmaktadır. Klasik ıslah yöntemleri ve mevcut

tarım alanları üzerinde kullanılan tarımsal tekniklerle önümüzdeki 20 yıl içerisinde artacak dünya nüfusuna yetecek gıda maddeleri üretimi mümkün görülmemektedir. Bu sebeple moleküler ıslah yöntemleri, hastalık ve zararlılara; kuraklık ve tuzluluk gibi çevre koşullarına dayanıklı, bitki besin maddeleri içeriği iyileştirilmiş yüksek kaliteli ve verimli yeni çeşitlerin geliştirilmesi için bitki ıslahçılarında büyük kolaylıklar sağlayacak yeni yöntemler olarak uygulamaya alınmıştır (Çetiner 2015).

Buğday üretimini önemli ölçüde sınırlandıran biyotik stres faktörlerinin başında tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de pas hastalıkları gelmektedir. Epidemiyollarında hassas çeşitler üzerinde meydana gelen erken enfeksiyonlar sonucu ürün kayıpları, % 90'lara kadar çıkabilmekte (Aktaş 2001) ve çeşitlerin tamamen üretimden kaldırılmasına neden olabilmektedir. Türkiye'de bugüne kadar buğday bitkisinde farklı pas türlerinin oluşturduğu ortalama kayıpların tane veriminde 53,1 kg/da (% 9,4), 1000 tane ağırlığında ise 4,3 g (% 9,3) olduğu belirlenmiştir (Arslan ve ark. 2002). Kahverengi pas genellikle yapraklarda oluşturduğu püstüller ile fotosentez alanını kısıtlamaktadır. Ürün kaybı, başaktaki tane sayısının azalmasına, tane boyutunun küçülmesine, 1000 tane ve hektolitreye ağırlığının azalması şeklinde olmakta, protein içeriğinin azalması ile de kalite kaybı oluşmaktadır (Arslan ve ark. 2002).

Zirai Mücadele Teknik Talimatların da hastalıkla mücadele yöntemleri açıkça belirtilmekle birlikte etkili yöntem dayanıklı buğday çeşitlerinin belirlenerek veya geliştirilerek kullanılmasıdır.

Buğdayda kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklı çeşitler geliştirmek için yapılan ıslah çalışmalarında, klasik ıslah yöntemleri kullanılarak farklı dayanıklılık genlerine sahip çeşitler melezlenip dayanıklılık genleri tek bir çeşitte toplanmaya çalışılmıştır. Son yıllarda ise DNA çalışmaları önemli hale gelmiştir ve moleküler markörlerin geliştirilerek markör destekli seleksiyon çalışmaları hız kazanmıştır bu sayede tahıllarda da verim, kalite ile hastalık ve zararlılara dayanıklılık gibi konularda yapılan çalışmalar artarak başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Markör destekli seleksiyon (MAS) ile ıslah



çalışmaları daha kısa sürede ve daha az işgücü ile tamamlanabilmekte ve bunların yanı sıra gereksinim duyulan popülasyon büyüklüğü de klasik ıslaha nazaran çok daha küçük olmaktadır (Gupta ve Varshney 2000, Babu ve ark. 2004).

Buğday genomunda bulunan çok sayıdaki hastalık ve zararlılara dayanıklılık özellikleri büyük genler tarafından kontrol edildiği, genomunun büyük ve kompleks bir yapıya sahip olması, ploidi düzeyi ve polimorfizm seviyesinin düşük olması sebebiyle yürütülen moleküler genetik çalışmaları diğer bitkilere kıyasla daha fazla zaman almaktadır (Hoisington ve ark. 1999). Markör destekli seleksiyon (MAS), bu sorunlara çözüm getirmek amacıyla geliştirilen bir yaklaşımdır (Francia ve ark. 2004). MAS yöntemi kullanılarak yabancı ve kültüre alınmış buğday çeşitlerinde kahverengi pas hastalığına dayanıklı gen tespit etme çalışmaları sonucunda günümüzde 80'e yakın kahverengi pasa dayanıklılık geni (Lr) tespit edilmiştir (Davoyan ve ark. 2014). Zaman içinde yapılan çalışmalar sonucunda görülmüştür ki, tek bir dayanıklılık (Lr) genine sahip çeşitlerin kahverengi pas hastalığına karşı gösterdiği dayanıklılık ilaçlamalar sonucu kazandırılan dayanıklılıktan daha fazla olmuştur (Watson ve Singh 1952, Messmer ve ark. 2000). Bu nedenlerle DNA markörleri ıslah çalışmalarında bitki materyallerinin seleksiyonu için en iyi araç olarak görülmektedir (Ovesna ve ark. 2002, Eserkaya 2010).

Kahverengi pas dayanıklılık genlerinin belirlenmesinde SSR ve diğer DNA markörleri başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. SSR markörleri haritalamada, çeşitlerin belirlenmesinde, germplazm muhafazasında, melezlerin belirlenmesinde, gen havuzu varyasyonu analizlerinde ve de ekonomik öneme sahip özellikler için belirleyici markörler olarak kullanılmaktadır. İşlevselliğinin yüksek olmasının yanı sıra, her bir gen tespiti için spesifik primerlere ihtiyaç duyulması, mikrosatelitleri ilk aşamadan itibaren belirlemenin ve geliştirmenin pahalı ve zaman alıcı olması SSR yönteminin zorlayıcı kısmını oluşturmaktadır (Jones ve ark. 1997).

Yürütülen bu çalışmada; yurdumuzda yoğun olarak tarımı yapılan ekmeklik buğday çeşitlerinde, kahverengi pas hastalığına dayanıklılık sağlayan *Lr10* geninin basit dizi tekrarları (SSRs) markörü ile incelemeye alınarak genotiplerdeki varlığı araştırılmıştır. Ayrıca dayanıklı-duyarlı genotipler arasında yapılan melezlemeler ile de dayanıklılık genlerinin aktarımı yönünden incelemeler de bulunulmuştur.

## **MATERYAL ve METOD**

### **Bitki Materyali**

Çalışmada Türkiyede bulunan farklı Tarımsal

Araştırma Enstitüleri ile Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden temin edilen 22 adet ekmeklik buğday çeşidi ve 2 adet kahverengi pas hastalığı geni bakımından genotipi bilinen CIMMYT-Meksika'dan sağlanan izogenik hatlar (Thatcher hat-Lr10, TcHassas) ve bu genotipler arasında gerçekleştirilen melezlemeler sonucunda elde edilen 13 adet F1 melezi ile beraber toplamda 37 genotip kullanılmıştır. Çalışmada yer alan genotipler ; Thatcher Line-Lr10 (Pozitif Kontrol), TcHassas, Bayraktar, Bezostaja, Cumhuriyet, Golia, Bandırma-97, Karatopak, Gönen-98, Köse 093/39, Pehlivan, Kaşifbey, Aldane, Gün91, Tahirova-2000, Flamura-85, Ceyhan-99, İkizce, İzmir-85, Atilla-12, Gerek79, Karacabey-97, Köksal2000, Guadalupe, KöksalxFlamura, KöksalxKaratopak, KöksalxLr19, AldanexKaratopak, İkizcexLr10, İzmirxKaratopak, TcHassasxKöksal, İzmirxLr19, FlamuraxLr10, FlamuraxKaratopak, FlamuraxLr19, BezostajaxKaratopak, AldanexKöksal F1 melezleridir.

Çalışmada bitki materyali olarak kullanılan çeşit ve hatların yetiştirilmesi ve melezleme çalışmaları 2013-2017 yıllarında Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Deneme alanında gerçekleştirilmiştir. Deneme alanı topraklarının mekanik analizi sonucunda elde edilen değerlerden toprakların genellikle ağır bünyeli, pH gruplandırılmasında yarısından fazlasının orta lkalın grubuna girdiği, tuzluluk gruplandırılmasında tamamının tuzluluk yönünden bir problemi olmadığı belirtilmiştir (Deveciler 2005). Bursa İlinde iklim ise Karadeniz ile Akdeniz iklimleri arasında bir geçiş niteliği göstermektedir. Yaz dönemlerinde kuraklığın görülmeyeceği ilde, kış ayları da çok sert geçmemektedir (Anonim 2010).

Çalışmada yer alan ve ıslahçıları tarafından arazi denemeleri sonucunda kahverengi pasa duyarlı, dayanıklı ve dayanıksız oldukları belirtilen ekmeklik buğday çeşitleri ve Thatcher hatlar 2013-2014 ve 2014-2015 üretim yıllarında tohum çoğaltmak amacıyla Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Araştırma ve Deneme Arazilerine ekilmiştir. 2014-2015 üretim yılında ise melez bahçeleri oluşturulmuş ve belirlenen genotipler arasında Nisan 2015 tarihinde 13 farklı kombinasyonda melezlemeler yapılmıştır. Elde edilen F1 tohumlarının tamamı ve çalışmada yer alan ekmeklik buğday çeşitleri ile Thatcher hatlar genomik çalışma yapılmak üzere Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Tohumluk laboratuvarında çimlendirilip DNA izolasyonları yapılmıştır ve -20 °C kaldırılmıştır.

### **Kahverengi Pas Hastalığının Arazi Koşullarında Tanımlanması**

Çalışmada yer alan çeşitlerin, kahverengi pas hastalığına dayanıklılıkları ıslahçıları tarafından

arazi ve seralarda yürütülen çalışmalar sonucunda gözleme dayalı olarak tespit edilmiş olup bu sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada yer alan çeşitlerin, ıslahçıları tarafından belirtilen kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık durumları

Table 1. The resistance of the cultivars in the study to brown rust disease stated by their breeders

Dayanıklı <i>Resistant</i>	Dayanıksız <i>Non-Resistant</i>	Bilinmiyor <i>Unknow</i>
Lr10	Gönen	Bezostaja
Flamura	Köksal 2000	Ceyhan
Aldane	TcHassas	Guadalupe
Karacabey	İkizce-96	Gün-91
Golia	İzmir-85	Gerek-79
Atilla-12		Köse
Karatopak		Pehlivan
Cumhuriyet		Kaşifbey
		Bayraktar
		Tairova
		Bandırma

Bazı çeşitlerin, kahverengi pas hastalığına dayanıklılık durumları ıslahçıları tarafından belirtilmediği için, başta bu çeşitler olmak üzere

Çizelge 2. Pas Hastalığına karşı gösterilen reaksiyon tipleri

Table 2. Reaction Types for Rust Disease

Konukçu Tepkisi <i>FungusResponse</i>	Enfeksiyon Tipi <i>Infection Type</i>	Hastalık Belirtisi <i>Leaf Rust symptom</i>
Dayanıklı	R	Nekrotik ve klorotik alanlar görülmekte, püstüller yok
Orta Dayanıklı	MR	Nekrotik ve klorotik alanlar görülmekte, püstüller çok küçük
Orta Duyarlı	MS	Küçükten orta büyüklüğe kadar püstüller görülmekte, nekrotik alan yok fakat belirgin klorotik alanlar bulunabilir
Duyarlı	S	Orta büyüklükte püstüller görülmekte, nekrotik alan yok, küçük klorotik alanlar görülebilir

R= 0,2; MR= 0,4; MS= 0,8; S= ise 1 değerlerini almaktadırlar.

Hastalık gruplandırması yapılırken; Enfeksiyon Katsayısı (E.K.) 0 (sıfır); reaksiyonu için immun, E.K. 1-5 reaksiyonu için; Dayanıklı, E.K. 6-20 reaksiyonu için; Orta Dayanıklı, E.K. 21-40 reaksiyonu için; Orta Hassas, E.K. 41-100 reaksiyonu için; Hassas yorumu yapılmıştır. Çalışmada yer alan her genotip için Enfeksiyon Katsayısı (EK) hesaplanmış olup Bulgular kısmında detaylı olarak açıklanmıştır.

### Genomik DNA İzolasyonu

Çalışmada yer alan tüm genotipler laboratuvar ortamında küçük plastik kapların her birinin içerisine 10'ar tohum ekilerek oda sıcaklığında çimlendirilmiştir. Genomik DNA izolasyonu için bitkiler 14 gün sonra yaklaşık olarak 13-15 cm arasında boya ulaştıklarında yani üç yapraklı döneme geldiklerinde kullanılmışlardır. DNA izolasyonu için Qiagen Dneasy Plant Mini Kit kullanılmıştır.

DNA analiz sonuçlarının doğru değerlendirilmesi için PCR reaksiyonlarında yer alan her örnekten eşit yoğunlukta DNA kullanılması gereklidir. Her örnekten PCR aşamasında kullanılacak DNA miktarının yoğunluğu eşit olması için 50 mg/µl olacak

çalışmada yer alan tüm genotiplerin kahverengi pas hastalığına dayanıklılık gözlemleri tüm üretim yılları boyunca Cobb skalasına göre gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar hem moleküler çalışma sonuçları ile hem de ıslahçıların kendi çeşitleri için belirttikleri dayanıklılık durumlarıyla beraber bulgular kısmında değerlendirilmiştir.

Yapılan çalışmalarda arazide enfeksiyon oranının belirlenmesinde, hastalık şiddeti ve konukçu reaksiyonu enfeksiyon katsayısı olarak isimlendirilen tek bir değerle ifade edilmektedir. Bu değer, bitkinin bayrak yaprağında gözlenen reaksiyon tipine ve hastalığın şiddetinin yüzde (%) cinsinden verilen 2 değer çarpılması sonucu bulunmaktadır.

Kahverengi pas hastalık şiddetinin belirlenmesinde, Roelfs ve ark. (1992) geliştirdiği Cobb skalası tekniği uygulanmıştır. Buna göre; arazide ki buğday bitkilerinde, bayrak yaprağının pas püstülleriyle kaplı olan alanının tüm yaprak alanına olan oranı (%) hesaplanarak belirlenmektedir. Cobb skalasında; İz (2), 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 kademeleri kullanılmaktadır.

Çalışmada yer alan genotiplerin kahverengi pas hastalığına karşı gösterdikleri reaksiyon tipleri Peterson ve ark. (1948) yaptıkları çalışma sonucu belirledikleri skala dikkate alınarak belirlenmiştir (Çizelge 2).

şekilde ayarlanmıştır. PCR koşullarının çalışılan laboratuvarında doğru sonuçlar verebilmesi için standardizasyonun ve her primer için en uygun bağlanma sıcaklığı (Tm) çok iyi ayarlanması gerekmektedir. Çalışmada kullanılan PCR reaksiyon hacmi ve PCR döngüsü sırasıyla Çizelge 3 ve Çizelge 4'te verilmiştir.

PCR işleminde *LR10* geni için 20 baz dizilimli SSR primeri kullanılmıştır (Lr 10 (F): GTGTAATGCATGCAGGTTCC, Lr10 (R): AGGTGTGAGTGAGTTATGTT) bu primerin 310 bp'de bant vermesi beklenmektedir (Schachermayr ve ark. 1994, Schachermayr ve ark. 1997).

Çizelge 3. PCR reaksiyon hacmi

Table3. PCR reaction Volume

Genomik DNA	1 µl
Primer (F)	0,5 µl
Primer (R)	0,5 µl
MgSO <sub>4</sub>	3 µl
dNTP	0,5 µl
Taq DNA	1 µl
10Xbuffer	5 µl
ddH <sub>2</sub> O	38,5 µl
Reaksiyon hacmi	50µl

Çizelge 4. PCR döngüsü

Table 4. PCR Cycle

İşlem	Sıcaklık	Süre	)
Ön Denatürasyon	94 C <sup>0</sup>	5 dk	
Denatürasyon	94 C <sup>0</sup>	1 dk	
Bağlanma	62 C <sup>0</sup>	1 dk	
		Döngü	40
Uzama	72 C <sup>0</sup>	1 dk	
Son Uzama	72 C <sup>0</sup>	10 dk	

PCR ürünleri Qiagen QIAxcel Advanced cihazında görüntülenmiştir. Ürünlerin bant ağırlıklarını belirlemek için 100 bp-10 kb'lık DNA yükleme markörü kullanılmıştır. PCR ürünlerinin Qiagen QIAxcel Advanced cihazına yüklenmesinin ardından çalışmada yer alan tüm genotiplerde *LR10* geni taranmıştır. Çalışmaların sonucunda ise literatürlerde belirtildiği gibi; *Lr10* geni için 310 bp' de, bant oluşumları elde edilmiştir.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

PCR ürünlerinde *LR10* geninin varlığının taranması için Qiaxcell Screengel 1.4 yazılımı kullanılmıştır. Kullanılan cihazda bantların hizalama işlemleri alignment marker (hizalama markör) ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 1 incelendiğinde, 1. sıradaki kuyucuğa *Lr10* genini taşıyan yakın izogenik *Lr10* hattı pozitif kontrol olarak yüklenmiş ve kalan 37 genotip şekil 1'de belirtildiği sırada Qiaxcell Advance Kapılar Sistemin kuyucuklarına yüklenmiştir. Birinci sırada yüklü olan pozitif kontrol (Thatcher *Lr10*), beklenildiği gibi 310 bp'de bant vermiştir. İncelenen genotiplerin bazıları *Lr10*'nu taşıyan 1 No'lu kuyucukta ki hat ile polimorfizm göstermiştir. Buna göre jel görüntüsünde 8 nolu kuyucukta yüklü bulunan Karatopak, 12 nolu kuyucukta yüklü olan Kaşifbey, 14 nolu kuyucukta yüklü olan Gün91 ekmeçlik buğday çeşitlerinde *Lr10* geninin varlığı belirlenmiştir. Kalan 19 çeşitte ve F1 melezlerinde *Lr10* geni bulunmamaktadır.

Bu çalışmada elde edilen bulgulara paralel sonuçlar elde eden Kolmer ve ark. (2013) Türkiye'de pas hastalığının yaygın olarak görüldüğü 8 ilden topladıkları pas hastalık sporlarını 20 Thatcher hatta

inokule etmişlerdir ve dayanıklılıklarını incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda *Lr10* geninin Türk ekmeçlik buğday çeşitlerinde az rastlandığı sonucuna ulaşmışlardır.

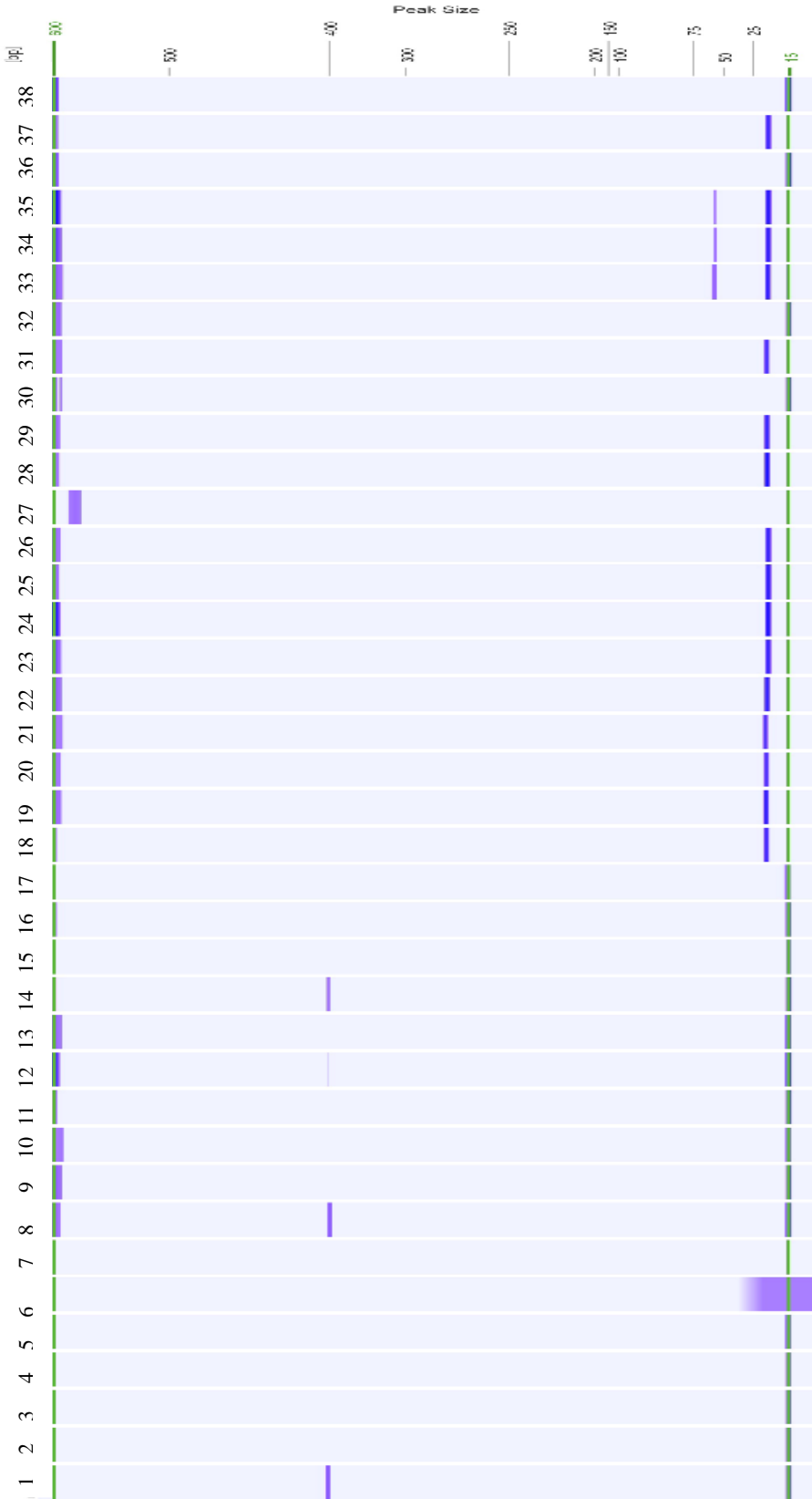
Hussain ve ark. (2011) Pakistan' da yaptıkları çalışmalarında 25 ekmeçlik buğday çeşidinde SSR yöntemini kullanarak *Lr10* genini taramışlardır ve sonuç olarak 18 çeşitte *Lr10* genine rastlamışlardır, Stepien ve ark. (2003) İsviçre' de 37 ekmeçlik buğday çeşidinde *Lr10* genini taramışlar ve 16 çeşidin *Lr10* geninin ihtiva ettiğini ortaya koymuşlardır. Hanzolavá ve ark. (2009) moleküler markör yönteminden SSR (mikrosatelit) kullanarak 27 ekmeçlik buğday çeşidinde *Lr10* genini taramışlar ve 10 çeşitte *Lr10* genini bulmuşlardır. Vanzetti ve ark. (2011) Arjantinde yürüttükleri çalışmalarında yerel 66 ekmeçlik buğday çeşidinde, *Lr10* geninin de içinde bulunduğu toplamda 14 *Lr* geninin kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık gücünü ölçmüşler ve *Lr10* geninin tek başına çok düşük dayanıklılık gösterdiğini buna karşılık başka *Lr* genleri ile bir araya geldiğinde yüksek dayanıklılık gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır.

Çalışmada yer alan genotiplerin pas hastalığına karşı Cobb skalasına göre sınıflandırılması yapılmıştır ve Enfeksiyon Katsayıları hesaplanarak Çizelge 5'de verilmiştir.

Çizelge 5'de Cobb skalasına göre değerlendirilen çeşitlerin, kahverengi pas hastalığına tepkileri verilmiştir. Buna göre ; *L10*, İzmir-85, Bandırma-97, Tahirova, Ceyhan-99, Gerek-79, Karatopak ve Golia çeşitleri dayanıklı grubunda yer alırken; Cumhuriyet, Karacabey-97, Bayraktar, Kaşifbey, Pehlivan, Köse 200/39, Guadalupe, Bezostaja orta dayanıklı, Aldane, İkizce-96, Atilla-12, Köksal-2000, Gün-91 orta hassas, Flamura, Gönen-98, TcHassas çeşitleri ise hassas grubunda yer almıştır.

Buğday çeşitlerinin kahverengi pas hastalığına karşı gösterdikleri dayanıklılık gücü, genomlarında taşıdıkları *Lr* genlerine ve bu genlerin diğer genlerle olan ilişkilerine göre en alt seviyeden en üst seviyeye kadar varyasyon göstermektedir. Bazı *Lr* dayanıklılık genleri tek başlarına kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık gösteriyor olmasına karşın bazı *Lr* genleri bu kadar güçlü olamamakta ve tek başlarına bir genomda bulunmaları o çeşidin dayanıklılık göstermesine yetmemektedir (Urbanovich ark. 2006).

Bu sonuçlar doğrultusunda tüm genotiplere ait bant oluşumlarını yorumlandığımızda; 8 nolu kuyucukta yer alan Karatopak çeşidinde *Lr10* geninin ihtiva ettiği belirlenmiştir. Karatopak çeşidi arazi koşullarında da kahverengi pasa dayanıklılık göstermiştir ve Cobb Skalasına göre 1 (5R) değerini almıştır.



1. kuyucuk: Thatcher Line-Lr10 (Pozitif Kontrol), 2. TcHassas, 3. Bayraktar, 4. Bezostaja, 5. Cumhuriyet, 6. Golia, 7. Bandırma-97, 8. Karatopak, 9. Gönen-98, 10. Köse 093/39, 11. Pehlivan, 12. Kaşifbey, 13. Aldane, 14. Gün91, 15. Tahirova-2000, 16. Flamura-85, 17. Ceyhan-99, 18. İkizce, 19. İzmir-85, 20. Atilla-12, 21. Gerek-79, 22. Karacabey-97, 23. Köksal 2000, 24. Guadalupe, 25. Lr19, 26. KöksalxFlamura (F1), 27. KöksalxKaratopak, 28. KöksalxLr19, 29. AldanexKaratopak, 30. İkizceLr10, 31. İzmirKaratopak, 32. TcHassasxKöksal, 33. İzmirLr19, 34. FlamuraxLr10, 35. FlamuraxKaratopak, 36. FlamuraxLr19, 37. BezostajaxKaratopak, 38. AldanexKöksal

Şekil 1. Lr10 primerinin hatlardaki sonuçları (310 bp)  
Figure 1. Results of Lr10 primer in lines (310 bp)



Çizelge 5. Cobb Skalasına genotiplerin Kahverengi Pas Hastalığına Tepkileri

Table 5. Response of Genotypes to Brown Rust Disease in Cobb Scale

Çeşit İsmi Genotypes	Skala Değeri Scale Value	Çeşit İsmi Genotypes	Skala Değeri Scale Value
Flamura	80 (80S)	Bandırma-97	2 (10R)
Cumhuriyet	8 (10MS)	Köksal-2000	24 (30MS)
Aldane	40 (40S)	Pehlivan	6 (30R)
Karacabey-97	8 (20MR)	Tahirova	1 (5R)
Lr10	0,4 (2R)	Köse220/39	8 (20MR)
Lr19	1 (5R)	Ceyhan-99	2 (5MR)
Gönen-98	60 (60S)	Guadalupe	8 (20MR)
İzmir-85	1 (5R)	Gün-91	32 (40MS)
TcHassas	50 (50S)	Gerek-79	4 (20R)
Bayraktar	16 (40MR)	Bezostaja	10 (10S)
İkizce-96	40 (40S)	Karatopak	1 (5R)
Kaşifbey	6 (30R)	Golia	1 (5R)
Atilla-12	40 (40S)		

12 nolu kuyucukta yer alan Kaşifbey çeşidi ise 1 nolu hatta yer alan Lr10 ile polimorfizm gösteren bir diğer genotip olarak karşıya çıkmaktadır. Kaşifbey genotipinin çeşit özelliklerinde kahverengi pas hastalığına dayanıklılığı bilinmemektedir. Çizelge 5' de yer alan Cobb Skalası incelendiğinde Kaşifbey çeşidinin kahverengi pas hastalığına karşı, orta dayanıklı olduğu görülmektedir. Elde edilen sonuçta ise Kaşifbey çeşidinde Lr10 geninin varlığı belirlenmiştir. Bu sonuç doğrultusunda Kaşifbey ekmeklik buğday çeşitinde kahverengi pas hastalığına dayanıklılık genlerinden biri olan Lr10 geninin varlığı kanıtlanmıştır ancak bu sonuç Kaşifbey çeşidinin kahverengi pas hastalığına tamamen dayanıklı olduğu anlamına gelmemektedir. 37 genotip içinde 1 nolu hatta yer alan Lr10 genotipi ile polimorfizm gösteren son genotip ise 14 nolu kuyucukta yer alan Gün 91 çeşididir. Gün 91 çeşidinin de, ıslahçısı tarafından belirtilen özelliklerinde kahverengi pas hastalığına dayanıklılığı ifade edilmemiştir. Yapılan çalışma sonucunda Gün91 çeşidinin kahverengi pas hastalığına dayanıklılık geni olan Lr10'nu bünyesinde ihtiva ettiği sonucuna varılmıştır. Ancak bu çeşidin tarla gözlemleri diğer iki çeşitten farklı olarak 40 MS şiddetinde orta duyarlı olarak tespit edilmiştir. Bu durumda Gün 91 çeşidinin Lr10 genini taşımakla birlikte diğer kahverengi pas ırklarına karşı dayanıklılık sağlayan genleri içermediğini göstermektedir.

Genotipler arasında yapılan melezlemelerde Lr10 genini taşıdığını belirlenen, Karatopak çeşidi 5 kombinasyonda baba hat olarak yer almıştır (Köksal x Karatopak; İzmir x Karatopak; Aldane x Karatopak; Bezostaja x Karatopak; Flamura x Karatopak). Melez kombinasyonlar incelendiğinde anne hat olarak kullanılan genotiplerden Aldane ve Flamura çeşitlerinin kahverengi pas hastalığına dayanıklı oldukları, Köksal 2000 ve İzmir 85 çeşitlerinin

dayanaksız olduğu, Bezostaja çeşidinin ise dayanıklılık durumunun bilinmediği ıslahçıları tarafından belirtilmiştir (Çizelge 1). Bu bilgiler doğrultusunda kahverengi pas hastalığına dayanıklı olduğu bilinen Aldane ve Flamura çeşitleri ile yapılan Karatopak melezlerinin kahverengi pas hastalığına dayanıklı olması beklenmektedir. Fakat melez kombinasyonlarının hiçbirinde Lr10 genine rastlanmamıştır. Islahçıları tarafından kahverengi pas hastalığına dayanıklı olduğu belirtilen Aldane, Flamura çeşitlerinde de LR10 geni taranmış ve bu geni ihtiva etmedikleri görülmüştür. Bu sebeple, F1 melezleri ebeveynleri gibi kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklı olabilirler fakat bu, Lr10 genini taşıdıkları anlamına gelmemektedir. Kahverengi pas hastalığına dayanıklılık sağlayan 63 adet Lr geni tespit edilmiştir (Stepien ve ark. 2003). Dolayısıyla buğday genotiplerinde kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık bu genlerden bir tanesiyle sağlanabildiği gibi birkaç tanesinin kombinasyonu ile de sağlanabilmektedir. Bu sebeple Lr10 genini ihtiva etmemesine rağmen dayanıklılık gösteren çeşitlerin varlığı olağandır.

## SONUÇ

Her geçen gün hızla artan Dünya nüfusunun büyük bir kısmının temel besin maddesi olan buğdayda verimdeki artış ancak hastalık ve zararlılara dayanıklı, stabilitesi yüksek ve her yönenin kendi ekolojik koşullarına uygun çeşitlerin geliştirilmesi ile sağlanabilmektedir. Uzun yıllar süren seleksiyonlarla genlerin belirli yönde seçilmesi ve melezlemelerde ortak anaçların kullanılması buğdayda genetik varyasyonu daraltmış ve istenen özellikleri taşıyan çeşitlerin klasik bitki ıslahıyla geliştirilmesini zorlaştırmıştır. Markör Destekli Seleksiyon (MAS) klasik ıslahı tamamlayıcı, oldukça hızlı, etkin, doğru ve ekonomik bir seleksiyon yöntemidir (Sönmezoğlu ve ark. 2010).

Kahverengi pas hastalığına dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde klasik ıslah yöntemleri ile kombine edilerek moleküler biyoteknoloji yöntemlerini kullanmak; zamandan, iş gücünden ve maliyetten kazanç sağlamaktadır. PCR temelli yöntemlerden, DNA markörleri, özellikle SSR (mikrosatellit) markörleri, en çok tercih edilen markör sistemini oluşturmaktadır (Özşensoy ve Kurar 2012).

Yürütülen bu çalışmada, Türkiye’de buğday üretiminde yoğunlukla yer alan ekmeklik buğday çeşitlerinde; kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık geni olan *Lr10*un varlığı SSR (mikrosatellite) yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Ekmeklik buğdayda SSR tekniklerinin kahverengi pas dayanıklılık genlerini araştırmada kullanılabilir olduğu saptanmıştır. Gelecekte yürütülecek ıslah programlarında dayanıklılık genleri ihtiva eden çeşitlerin ebeveyn olarak kullanılmasının daha başarılı bir ıslah programı yürütülebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

### Teşekkür

Bu çalışma Pakize Özlem KURT POLAT’ ın Prof. Dr. Köksal Yağdı danışmanlığında Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde hazırladığı doktora tezinden üretilmiştir.

### Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### KAYNAKLAR

- Aktaş H 2001. Önemli Hububat Hastalıkları ve Survey Yöntemleri. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ankara, 74sy.
- Anonim 2010. Bursa yöresi İklim Verileri. Bursa Meteoroloji Bölge Müdürlüğü, Yayınlanmamış Kayıtlar. BURSA
- Arslan Ü, Yağdı K, Aydoğan E 2002. Bursa İli Ekolojik Koşullarında Buğday Kahverengi Pası (*Puccinia recondita* Roberge ex Desmaz. f.sp. *tritici*)’na Karşı Bazı Ekmeklik Buğdayların Reaksiyonları ve Verim Kayıplarının Belirlenmesi. Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg., 16: 201-210.
- Babu R, Sudha K, Nair B, Prasanna M, Gupta S 2004. Integrating marker assisted selection in crop breeding Prospects and challenges. Urrent Science, 87 (5): 607-619.
- Çetiner S 2015. Türkiye Ve Dünyada Tarımsal Biyoteknoloji Ve Gıda Güvencesi: Sorunlar ve

Öneriler. <https://www.inovasyon.org/images/makaleler/sizdenBize/S.Cetiner.Inovasyon.org.pdf> (21.04.2021)

- Davoyan E R, Bespalova L A, Davoyan RO, Zubanova Y S, Mikov D S, Filobok V A, Khudokormova J N 2014. Use of Molecular Markers in Wheat Breeding for Resistance to Leaf Rust at the Lukyanenko Research Institute of Agriculture. Russian Journal of Genetics; Applied Research 5(3):227-232.
- Deveciler H. 2005. Uludağ üniversitesi tarımsal uygulama ve araştırma merkezi tarım topraklarının ağır metal içeriklerinin incelenmesi. BUÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 50 sy.
- Eserkaya G T 2010. Yerel Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Makarna Kalitesini Etkileyen y-gliadin genleri Bakımından Moleküler ve Biyokimyasal Analizleri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 67 sy.
- FAO 2018. FAO Statistical Databases. <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. (Erişim Tarihi: 21.04.2021)
- FAO 2019. FAO Statistical Databases <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim Tarihi: 21.04.2021)
- Francia E, Rizza F, Cattivelli L, Stanca A M, Galiba G, Toth B, Hayes P M, Skinner J S, Pecchioni N 2004. Two loci on chromosome 5H determine lowtemperature tolerance in a ‘Nure’ (winter) x ‘Tremois’ (spring) barley map. Theor. Appl. Genet. 108: 670-680.
- Gupta P K, Varshney R K 2000. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. Euphytica 113: 163–185.
- Hanzolavá A, Sumikova T, Bartos P 2009. Determination of Leaf Rust Resistance Genes *Lr10*, *Lr26* and *Lr37* by Molecular Markers in Wheat Cultivars Registered in the Czech Republic. Czech J. Genet. Plant Breed., 45 (2):79-84
- Hussain W, Habib A, Iqbal M S, Abbassi F B, Wesal A, Hussain S 2011. Identification of Leaf Rust Resistant Gene *Lr10* in Pakistani Wheat Germplasm. African Journal of Biotechnology 10 (43): 8578-8584.
- Hoisington D, Khairallah M, Reeves T, Ribaut J M, Skovmand B, Taba S, War Burton M 1999. Plant Genetic Resources: What Can They Contribute Toward Increased Crop Productivity? Proc Natl. Acad. Sci. (96): 5937-5943.
- Jones N, Ougham H, Thomas H 1997. Markers and mapping: we are all geneticists now, New Phytol. 137: 165–177.
- Kolmer J A, Mert Z, Akan K, Demir L, Ünsal R, Şermet C, Keser M, Akin B, Morgounov A 2013.

- Virulence of *Puccinia triticina* in Turkey and leaf rust resistance in Turkish wheat cultivars. *Eur J Plant Pathol.* 135:703–716.
- Messmer M M, Seyfarth R, Keller M, Schachermayr G, Winzeler M, Zanetti S, Feuillet C, Kelle B 2000. Genetic analysis of durable leaf rust resistance in winter wheat. *Theor Appl Genet.* 100: 419–431.
- Ovesna J, Polakova K, Leisova L 2002. DNA analyses and their Applications in Plant Breeding. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 38 (1): 29–40.
- Özşensoy Y, Kurar E 2012. Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. *Journal of Cell and Molecular Biology* 10 (2):11 19.
- Peterson R F, Campbell A B, Hannah A E 1948. A Diagrammatic Scale For Estimating Rust Intensity On Leaves And Stems Of Cereals. *Canadian Journal of Research*, 26c(5): 496-500.
- Roelfs A P, Singh R P, Saari E E 1992. Rust Diseases of Wheat: Concepts and methods of disease management. Mexico, D.F.: CIMMYT. 81 sy.
- Schachermayr G, Siedler H, Gale M D, Winzeler H, Winzeler M, Keller B 1994. Identification and localization of molecular markers linked to the Lr9 leaf rust resistance gene of wheat. *Theor Appl Genet.* 88 (1): 110-115.
- Schachermayr G, Feuillet C, Keller B 1997. Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds. *Molecular Breeding* 3: 65–74.
- Sönmezoğlu Ö A, Yıldırım A, Eserkaya Güleç, Kandemir N 2010. Markör Destekli Seleksiyonun Bugday Islahında Kullanımı. *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(1): 105-112.
- Stepien L, Golka L, Chełkowski J 2003. Leaf rust resistance genes of wheat: identification in cultivars and resistance sources. *J. Appl. Genet.* 44 (2): 139-149.
- Urbanovich O Y, Malyshev S V, Dolmatovich T V, Kartel N A 2006. Identification of Leaf Rust Resistance Genes in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars Using Molecular Markers. *Russian Journal of Genetics*, 42 (5): 546-554.
- Vanzetti, L.S., Campos, P., Demichelis, M., Lombardo, L.A., Aurelia, P.R., Vaschetto, L.M., Bainotti, C.T., Helguera, M. 2011. Identification of leaf rust resistance genes in selected Argentinean bread wheat cultivars by gene postulation and molecular markers . *Electronic Journal of Biotechnology.* 14(3) : 9-9.
- Watson, I.W., Singh, D., 1952. The future of rust resistant wheat in Australia. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 18: 190-197.

## Tarım Topraklarının Verimlilik Durumlarının Tematik Düzeyde Haritalanarak Sürdürülebilir Yönetiminin Sağlanması: Osmaniye Örneği

Nilgün KALKANCI<sup>1</sup>, Tuğba ŞİMŞEK<sup>2</sup>, Nevzat ASLAN<sup>3</sup>, Gökhan BÜYÜK<sup>4\*</sup>

<sup>1,2,3</sup>Gaziantep Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü, Gaziantep, <sup>4</sup>Adıyaman Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ziraat Mühendisliği Böl. Adıyaman

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-0509-3168>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-9383-7621>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-6077-8637>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0002-0522-3188>

✉: gbuyuk@adiyaman.edu.tr

### ÖZET

Bu araştırma, Osmaniye’de tarım topraklarının verimlilik durumlarını belirlemek ve tematik olarak haritalandırılması amacı ile yürütülmüştür. Toprak analiz sonuçları; örneklerin bünyesi kumlu tınlı ile siltli killi bünye arasında değişmekte olup %33’ü kaba bünyeli ayrıca %67’si killi bünyeye sahiptir. Toprak örneklerinin pH’sı ağırlıklı olarak orta alkali, örneklerin yarısının EC’si hafif tuzlu sınıfta yer almıştır. Örneklerin tamamına yakını kireçli ve ağırlıklı olarak organik maddece noksanlık göstermektedir. Topraklarda değişebilir fosforun (P) %50’si yetersiz, %50’si değişebilir yeterli düzeyde bulunmaktadır. Değişebilir magnezyum (Mg) yeterli düzeyde (%8’lik hariç); değişebilir kalsiyum (Ca) yüksek düzeyde; değişebilir sodyum (Na) toprakların %5’inde yüksek düzeyde bulunmuştur. Örneklerin tamamında değişebilir çinko (Zn) düşük; örneklerin tamamına yakınında değişebilir demir (Fe) yetersiz; mangan (Mn) ve bakır (Cu) düzeyleri tamamına yakınında yeterli olarak bulunmuştur. Değişebilir bor (B) toprakların %12’sinde yetersiz düzeyde bulunmuştur. Besin elementi kapsamı ile toprak özellikleri arasında önemli ilişkiler belirlenmiştir. Toprak özelliklerine ait haritalar coğrafi bilgi sistemleri kullanılarak yapılarak özelliklerin alan üzerindeki dağılımları çıkarılmıştır. Fe, Zn ve P gübrelemesi yapılırken mutlaka toprak analizi sonuçlarına göre yapılmalıdır. EC değeri yüksek olan toprakların tuz seviyesini arttırmamak için sulama, gübreleme gibi uygulamaların EC düzeyi dikkate alınarak yapılmalıdır.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 26.09.2020

Kabul Tarihi : 05.11.2020

#### Anahtar Kelimeler

Toprak verimliliği

Besin elementleri

Toprak analizi

Osmaniye

Harita

## Providing Sustainable Management by Mapping the Productivity Status of Agricultural Soils at Thematic Level: Case of Osmaniye

### ABSTRACT

This research was conducted to determining the fertility of the agricultural lands and mapping thematically in Osmaniye. Soil texture of the samples ranges from sandy loam to silty clay, with 33% coarse and 67% clay. The pH of the soil samples was predominantly medium alkaline, and the half of the samples’ EC were in the light salty class. Almost all of the samples were calcareous and mostly lack in organic matter. Overall, 50% of soil samples sustained insufficient and 50% possessed sufficient level of available phosphorus (P). Available magnesium (Mg) content was sufficient (except 8%); available calcium (Ca) was at high levels; available sodium (Na) levels were found in 5% of the soils. Available zinc (Zn) was low in all samples; nearly all samples were insufficient iron (Fe) available; Manganese (Mn) and copper (Cu) levels were found sufficient in almost all of samples. Available boron (B) was found at insufficient level in 12% of the soils. Important relationships have been determined between nutrient content and soil properties. Maps of soil properties were made by using geographic information systems and the distribution of the features over the area has been determined. Fe, Zn and P soil fertilization should be done according to soil analysis

### Research Article

#### Article History

Received : 26.09.2020

Accepted : 05.11.2020

#### Keywords

Soil fertility

Plant nutrition

Soil analysis

Osmaniye

Map



results. In order not to increase the salt level in soils with high EC levels, applications such as irrigation and fertilization should followed accordingly.

**Atf İçin:** Kalkancı N, Şimşek T, Aslan N, Büyük G 2021. Tarım Topraklarının Verimlilik Durumlarının Tematik Düzeyde Haritalanarak Sürdürülebilir Yönetiminin Sağlanması: Osmaniye Örneği. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (4): 859-870. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.800468.

**To Cite :** Kalkancı N, Şimşek T, Aslan N, Büyük G 2021. Providing Sustainable Management by Mapping the Productivity Status of Agricultural Soils at Thematic Level: case of Osmaniye. KSU J. Agric Nat 24 (4): 859-870. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.800468.

## GİRİŞ

Çukurova'da önemli bir tarımsal potansiyeli olan Osmaniye 120 bin ha tarım alanına sahiptir. Bu alanın yaklaşık % 84'ünde tarla tarımı, % 13'ünde meyvecilik, % 3'ünde sebze üretimi gerçekleştirilmektedir (Anonim, 2020). Yoğun tarım yapılan bu alanların verimlilik düzeylerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Osmaniye'de doğal ortam koşullarının uygunluğundan dolayı yılda iki kez ürün alınmaktadır. Sahada tarla bitkilerinin yanı sıra meyve ve sebze çeşitliliği de fazladır. Endüstriyel tarım ürünleri olan ve gıda sektöründe geniş bir kullanım alanı olan susam, yerfıstığı ve mısır üretiminde artış dikkat çekicidir.

Birim alandan maksimum verim alabilmek, toprak analizleri sonucunda belirlenen gübreleme programı, uygulanacak gübrenin yeter miktarda ve dengeli bir şekilde verilmesiyle mümkün olabilmektedir. Toprağın durumu ne olursa olsun, bitkiye gerekli besin maddelerinin, yetiştirilecek bitki de göz önüne alınarak optimum bir şekilde önerilmelidir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki besin elementince fakir bir toprağa ihtiyaç üzerinde gübre verilince alınan verim, zengin bir toprağa analize dayalı olarak bitki ihtiyacı kadar gübre verilince alınan verimden azdır (Çimrin ve Boysan, 2006). Bu bilgiler doğrultusunda birçok araştırmacı toprak analizlerini, verimlilik ve kalitenin artırılması amacıyla değerlendirerek sorunlara çözüm bulmaya çalışmaktadırlar (Canözer ve ark., 1984; Kızılgöz ve ark., 1998; Başar, 2001; Tarakçioğlu ve ark., 2003; Başaran ve Okant 2005; Çimrin ve Boysan, 2006; Turan ve ark., 2010).

Manisa Alaşehir üzüm bahçelerinde yapılan bir çalışmada toprakların %70'i tın bünyeye sahip, %70'i hafif alkali, %30'u kuvvetli alkali, %60'ı kireçli olup, tuz yönünden sınırlayıcı olan örneklerin tamamı OM yetersizdir. Değişebilir potasyumun %50'si orta düzeyde, değişebilir magnezyumun %50'si yüksek ve değişebilir kalsiyumun %50'si yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Alınan örneklerde çinko tamamında düşük, %20'sinde demir yeterli, mangan ve bakır örneklerin tamamında yeterli düzeydedir (Kuştutan ve ark., 2017).

Yürütülen bir çalışmada, elde edilen bulgulara göre toprakların genel olarak çok kireçli, hafif alkalin yapıda, tuzsuz ve organik madde miktarının yetersiz olduğu tespit edilmiştir. Yaprak ve toprak

örneklerinde yapılan makro ve mikro besin element analiz sonuçlarından elde edilen bulgular neticesinde bölgede bulunan zeytinliklerin genelinde besin element noksanlıklarının olduğu ve bahçelerin neredeyse tamamında P, Zn ve B içeriklerinin yetersiz seviyelerde olduğu belirlenmiştir (Söylemez ve ark., 2017).

Bu çalışmada; Osmaniye İlinin tarımsal topraklarının verimlilik durumlarının belirlenmesi amacıyla tarım topraklarının toprak analizlerine bağlı verimlilik durumlarının belirlenmesi ve tematik olarak haritalanması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOD

Bu çalışma, 2018-2019 yılları arasında Osmaniye ili ve ilçelerinde tarımsal üretim yapılan toprakları temsil eden alanlardan İl ve İlçelerin tarımsal alan büyüklüklerine ve toprak gruplarına göre fiziksel ve kimyasal analizler için 0-20 cm derinlikten alınan 165 adet (Merkez, 40; Kadırlı, 83; Düziçi, 25; Hasanbeyli, 6; Toprakkale, 10 ve Bahçe, 1 adet) toprak örneği belirlenerek alınmıştır.

### Toprak örneklerinin alınması

Toprak örnek sayısını tespit etmek için, 1/25000 ölçekteki toprak haritalarından; sulu tarım, kuru tarım, bağ, bahçe, çay, zeytin, turunçgil vb tarım yapılan alanlar dikkate alınarak çalışma alanı belirlenmiştir. Türkiye haritası üzerinde 2.5x2.5 km'lik gridler oluşturulmuş ve tarım alanlarına düşen noktalar seçilerek, alınacak örnek sayısı tespit edilmiştir. Bu gridleme sistemi içerisinde topografya, ana toprak grupları, arazi kullanım kabiliyet sınıfları, nehir, dağ, göl, yerleşim alanları, tarım dışı kullanım alanları sınırlamaları vb kullanım alanlarına gelen noktalar iptal edilmiştir.

### Metod

Yer koordinatları (2.5x2.5) km grid sistemine göre 1/100.000 ölçekli arazi paftaları işaretlenmiştir. GPS ve çalışma paftası yardımıyla örneklemeler yapılırken GPS ile koordinatlar okunmuştur.

### Toprak örneklerinin analiz yöntemleri

Laboratuvara getirilen toprak örnekleri, taş ve bitki parçacıkları ayıklanmış ve gölgede kurumaya

bırakılmıştır. Kuruyan topraklar tokmaklarla dövülerek 2 mm'lik çelik elekten geçirilmiş ve aşağıda belirtilen analizler yapılmıştır.

Analiz yöntemleri toprak örneklerinin pH'sı 1:2.5 oranında saf su ile sulandırılıp pH metre ile (Kacar, 1995), EC 1:2.5 oranında saf su ile sulandırılıp kondüktivimetre ile ölçülmüştür (Richards, 1954). Toprak örneklerinin bünyeleri Bouyoucos (1951) hidrometre yöntemi esasına göre belirlenip, bünye sınıfları Soil Survey Manual (1951)'e göre değerlendirilmiştir. Kireç içerikleri Scheibler kalsimetresi kullanılarak belirlenmiştir (Kacar, 1995). Organik madde (OM) Walkley-Black metoduna göre (Walkley ve Black, 1934), değişebilir P, Olsen metoduna göre (Olsen, 1954), değişebilir K, Ca ve Mg analizleri 1N Amonyum Asetat (pH=7) metoduna göre (Kacar, 1995) ve değişebilir Fe, Cu ve Mn analizleri ise DTPA metoduna göre (Lindsay ve Norvell, 1969) yapılmıştır. Toprağın sıcak su ekstraktındaki bor, azometin-H ile oluşturulan kompleksin renk

yoğunluğuna dayanılarak B miktarı spektrometre cihazında belirlenmiştir (Wolf, 1971; Tüzüner, 1990).

Bouyoucos (1951) hidrometre yöntemine göre yapılan tekstür tayininden sonra, toprakların tekstür üçgeninde bulunduğu sınıf tespit edilmiştir. Toprak analiz sonuçları Tablo 1'de verilen sınır değerlere göre yorumlanmış ve sınıflandırılmıştır (Richards, 1954; Lindsay ve Norvell, 1969; Follet, 1969; Maas, 1986; FAO, 1990; TOVEP, 1991; Güneş ve ark., 1996).

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada alanından alınan toprak örneklerinde yapılan analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan sınır değerler (Olsen ve Sommers, 1982; Pizer, 1967; Loué, 1968; Lindsay ve Norwell, 1978; Keren ve Bingham, 1985; Miller, 1998; Richards, 1954; Anonim, 1988; FAO,1990; Follet,1969) Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Toprak analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan sınır değerler

Table 1. Limit values used in the evaluation of soil analysis results

Özellik <i>Properties</i>	Sınıflama ( <i>classification</i> )					
	Çok az <i>Very low</i>	Az <i>Low</i>	Yeterli <i>Adequate</i>	Fazla <i>Excess</i>	Çok fazla <i>Very high</i>	
P (mg kg <sup>-1</sup> )	< 2.5	5-80	8.0-25	25-80	> 80	
K (mg kg <sup>-1</sup> )	< 50	0-140	140-370	370-1000	> 1000	
Ca (mg kg <sup>-1</sup> )	0-380	80-1150	1150-3500	3500-10000	> 10000	
Mg (mg kg <sup>-1</sup> )	0-50	50-160	160-480	480-1500	> 1500	
Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	< 4	4-14	14-50	50-170	> 170	
Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	< 0.2	0.2-0.7	0.7-2.4	2.4-8.0	> 8.0	
Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Az <i>Low</i>	Orta <i>Medium</i>		Fazla <i>High</i>		
	< 0.2	0.2-4.5		> 4.5		
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Yetersiz <i>Inadequate</i>	Yeterli <i>Adequate</i>				
	< 0.2	> 0.2				
CaCO <sub>3</sub> (%)	Az, <i>Low</i>	Düşük <i>Low</i>	Orta, <i>Medium</i>	Fazla, Excess	Çok fazla, <i>Very high</i>	
	0-1	1-5	5-15	15-25	> 25	
Bor (mg kg <sup>-1</sup> )	Yetersiz <i>Inadequate</i>	Orta <i>Medium</i>	Yüksek <i>High</i>	Çok yüksek <i>Very high</i>	Aşırı yüksek <i>Extremely</i>	
	0.2-0.5	0.5-1	1-2	2-4	4-8	
EC (dSm <sup>-1</sup> )	Tuzsuz <i>Very low</i>	Hafif tuzlu <i>Low</i>		Orta tuzlu <i>Medium</i>	Çok tuzlu <i>High</i>	
	<2	2-4		4-8	8-15	
OM (%)	Çok az <i>Very low</i>	Az <i>Low</i>	Orta <i>Medium</i>	İyi <i>Adequate</i>	Yüksek <i>High</i>	
	0-1	1-2	2-3	3-4	>4	
pH	Kuvvetli asit <i>High</i>	Orta asit <i>Medium</i>	Hafif asit <i>Low</i>	Nötr	Hafif alkali <i>Low</i>	Kuvvetli alkali <i>High</i>
	<4.5	4.5-5.5	5.5-6.5	6.5-7.5	7.5-8.5	>8.5

### Toprakların tekstür, pH, EC, CaCO<sub>3</sub> ve Organik madde bakımından değerlendirilmesi

Araştırma alanı topraklarının %1.2'si kumlu, tınlı kum; %31.5'i kumlu tın, kumlu killi tın; %26.1'i killi tın, tın; %3'ü siltli, kumlu kil; %38.2'si siltli kil, kil sınıfına girmektedir (Çizelge 2). Toprakların bünye sınıflarına göre dağılımını gösteren harita Şekil 1'de verilmiştir. Kumlu topraklara uygulanan gübre miktarı, zamanı ve sulama aralığına dikkat edilmesi gerekirken, ağır bünyeli topraklarda uygulanan fosforun fikse edilerek yararlı hale gelmesine neden olacağı gözönünde bulundurulmalıdır (Kacar ve

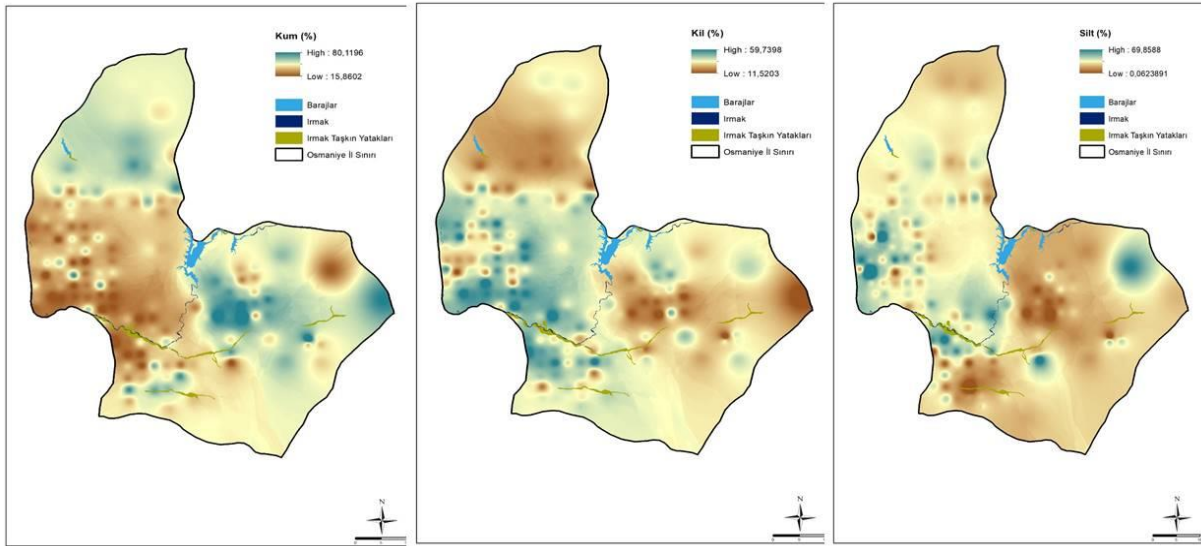
Katkat, 2009).

Bölgede turp, yerfıstığı, meyve bahçeleri ve tahıl üretimi yoğun olarak yapılmaktadır. Turp, yerfıstığı gibi topraklar hafif bünyeli topraklarda daha iyi yetişmektedir. Toprakların tekstür içeriğinin bilinmesi bu bakımdan oldukça önemlidir. Şöyle ki; Kadirli ilçesinde bulunan hafif bünyeli topraklarda turp yetiştiriciliği bunun bir göstergesidir. Çok kaba ve hafif kaba bünyeli topraklarda organik ve/veya organomineral gübre verilmesine ve azotun yıkanmasını azaltmak için gübrenin damlama sulama ve/veya bölünerek uygulanmalıdır (Spackman ve ark., 2019).

Çizelge 2. Osmaniye İli topraklarının (165 adet) bünye sınıflarına göre dağılımı

Table 2. Distribution of Osmaniye Province lands (165 number) by constituent classes

Sembolü <i>Symbol</i>	Bünye sınıfları <i>Texture classes</i>	İsmi <i>Name</i>	Toprak Sayısı <i>Soil numbers</i>	Dağılımı (%) <i>Distribution (%)</i>
S, LS	Çok kaba bünyeli	Kumlu, tınlı kum	2	1.2
SL, SCL	Hafif kaba bünyeli	Kumlu tın, kumlu illi tın	52	31.5
CL, L	Orta-ağır bünyeli	Killi tın, tın	43	26.1
Si, SC	Hafif ağır bünyeli	Siltli, kumlu kil	5	3.0
SiC, C	Ağır bünyeli	Siltli kil, kil	63	38.2



Şekil 1. Osmaniye İli topraklarının kum, kil ve silt durumuna göre dağılımını gösteren harita

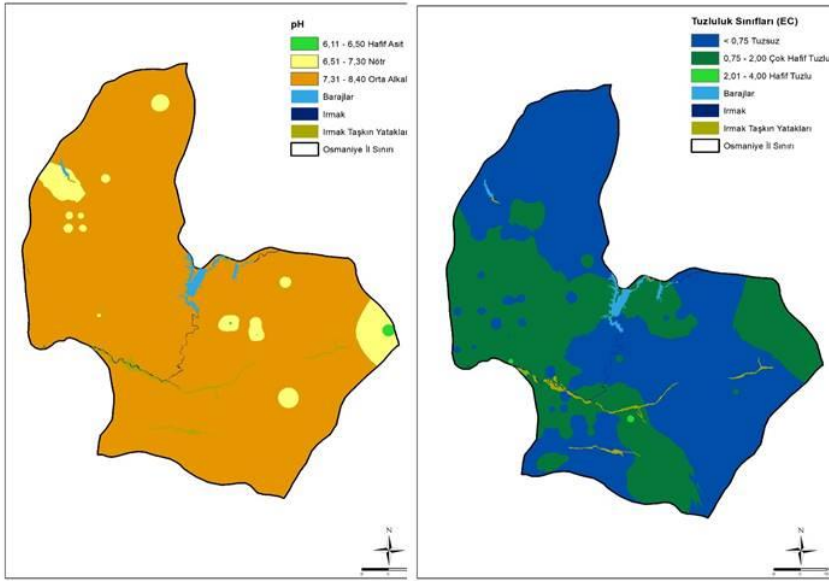
Figure 1. Map showing the distribution of Osmaniye Province soils according to the condition of sand, clay and silt

Toprak reaksiyonlarına (pH), tuzluluk durumlarına (EC) göre sınıflandırılmış ve dağılımları aşağıda verilmiştir (Çizelge 3). Osmaniye İli topraklarının %1.8'i hafif asit; %12.1'i nötr; % 86.1'i orta alkali sınıfına girmekte ve pH durumunu gösteren harita Şekil 2'de verilmiştir. Toprakların %51.1'i tuzsuz, %47.2'si çok hafif tuzlu, %1.82'si hafif tuzlu sınıfına girmekte olup, (Çizelge 3) tuzluluk durumunu gösteren harita Şekil 2'de verilmiştir. Bölgede yapılan yoğun tarıma dayalı olarak kullanılan yüksek miktarlardaki kimyasal gübrelerin tuz içeriklerinin yüksekliği, ihtiyaç fazlası kullanımda birikim etkisiyle ciddi sorunlar oluşturabilmektedir. Ayrıca gübrelerin ayrı veya birbirleriyle kombine kullanımları sonucu

tuzluluk değerinin artabileceği göz önüne alınarak analiz sonuçlarına göre gübre programları belirlenmelidir. (Çolakoğlu, 2008). Yüksek tuz konsantrasyonu bitkilerin verim ve kalitelerinde azalmaya neden olmakla birlikte toprağın fiziksel yapısında da özellikle Na iyonunun baskın olması durumunda önemli zararların oluşmasına neden olmaktadır (Sönmez ve Sönmez, 2007). Ülkemiz gibi yarı kurak iklim kuşaklarında düşük kaliteli suların kullanımı günümüzde zorunlu hale gelmesinden dolayı sulama suyu ile toprakta tuz birikimi görülebilmektedir. Topraklarda tuzluluk belirtisinin görülmesi detaylı olarak araştırılmalıdır (Karaoğlu ve Yalçın, 2018).

Çizelge 3. Osmaniye İli topraklarının pH ve EC sınıflarına göre dağılımı  
Table 3. Distribution of Osmaniye Province soils according to pH and EC classes

	Değeri Values	Sınıfı Classes	Toprak Sayısı Soil numbers	Dağılımı (%) Distribution (%)
pH	6.1-6.5	Hafif asit ( <i>low acid</i> )	3	1.8
	6.6-7.3	Nötr	20	12.1
	7.4-8.4	Orta alkali ( <i>medium alkaline</i> )	142	86.1
EC (dSm <sup>-1</sup> )	<0.75	Tuzsuz ( <i>saltless</i> )	84	51.0
	0.75-2	Çok hafif tuzlu ( <i>light salt</i> )	78	47.2
	2-4	Hafif tuzlu ( <i>mild salt</i> )	3	1.82



Şekil 2. Osmaniye İli topraklarının pH ve tuzluluk sınıfına göre dağılımını gösteren harita  
Figure 2. Map showing the distribution of Osmaniye Province soils according to pH and salinity class

### Toprakların kireç ve organik madde bakımından değerlendirilmesi

Toprakların %3.1'i kireçsiz, çok az kireçli; %0.6'sı az kireçli; %1.2'i orta kireçli; %7.3'ü kireçli; %35.7'si çok kireçli; %52.1'i marn-kireç toprağı sınıfına girmekte (Çizelge 4) ve kireç durumunu gösteren harita Şekil 2'de verilmiştir. Topraklarda kireç miktarı yüksek bulunmuş, bu durum fosfor, çinko vb elementlerin yararışlılığını azaltmaktadır (Mengel ve Kirkby, 1982; Kacar ve ark., 1998). Asidik kaynaklı gübrelerin uygulanması tarımsal üretim açısından daha faydalı olacaktır. Kireç durumunu gösteren harita Şekil 3'de verilmiştir.

Osmaniye ili topraklarının %6.1'i organik madde içeriği yönünden fakir; %43'ü düşük; %38.7'si orta; %11.5'u zengin; %0.7'si çok zengin sınıfına girmekte (Çizelge 4) olup organik madde durumunu gösteren harita Şekil 3'de verilmiştir. Elde edilen değerlere göre toprakların geneli için bir değerlendirme yapıldığında, toprakların %15'inin çok az, %55'inin az, %26'sının orta, %3'ünün iyi ve %1'inin yüksek düzeyde organik madde içerdiği ortaya çıkmaktadır. Topraklarda organik maddenin yetersiz olduğu gübreleme yapılırken bu alanlara 2-3 yılda bir organik gübre ve/veya organomineral gübre uygulaması

yararlı olacaktır (Bayram ve ark., 2020). Bölgede yoğun tarım ve tek yönlü gübre yapıldığından organik madde birikimi sağlanmamıştır. Bu nedenle organik ve/veya organomineral gübre uygulamalarında yapılmalıdır.

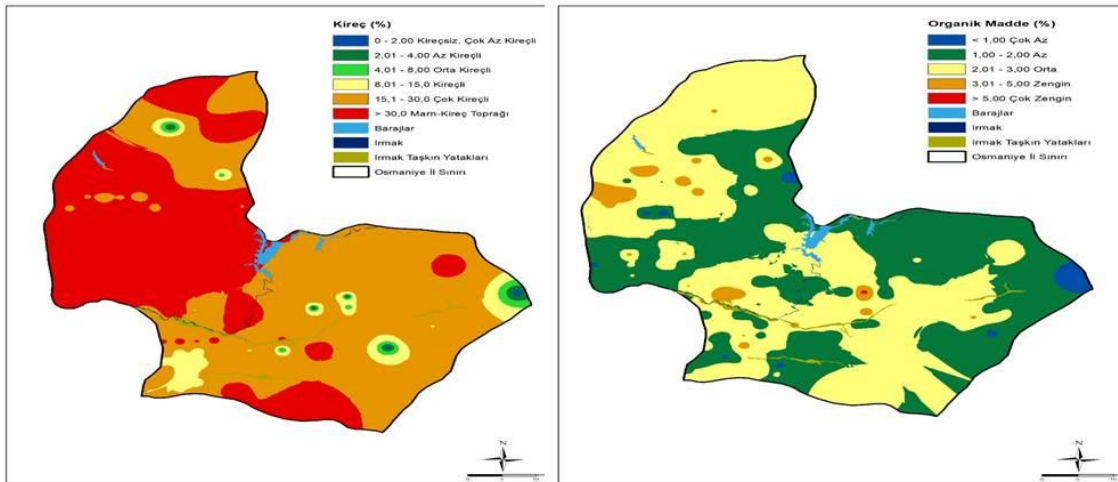
### Toprakların değişebilir element analiz sonuçları

Topraklar fosfor bakımından %13.9'u çok yetersiz; %35.7'si yetersiz; %36.9'u orta; %10.3'ü yüksek; %3.0'ü çok yüksek sınıfına girmektedir (Çizelge 5). Örneklerin yarısında fosfor yetersiz olarak bulunmuştur. Bu durum toprakların yarısının kaba bünyeli olmasından kaynaklanabilir. Benzer şekilde kumlu topraklarda P adsorpsiyonunun azaldığını bildirmişlerdir. (Zhang ve ark., 2019). Değişebilir potasyum bakımından %1.82'si zengin; %80'i çok zengin; %18'i aşırı zengin sınıfına girmektedir. (Çizelge 5). Toprakların fiksasyon kapasitesinin yüksek olduğu ve gübreleme programlarında toprakta bulunan değişebilir K'un dikkate alınması gerektiğinin bildirmişlerdir (Esençayı ve Korkmaz, 2019). Toprakların potasyum bakımından zengin olmasının nedeni kil durumu ve tipinden kaynaklanabilir. Kil minerallerinin cinsi, içerdiği K miktarını önemli ölçüde etkilemektedir (Aktas 1994).



Çizelge 4. Osmaniye İli topraklarının kireç ve organik madde sınıflarına göre dağılımı (%)  
Table 4. Distribution of Osmaniye Province soils according to lime and organic matter classes(%)

	Değeri Values	Sınıfı Classes	Toprak Sayısı Soil numbers	Dağılımı (%) Distrubution (%)
% Kireç %carbonate	0-2	Kireçsiz, çok az kireçli Very low	5	3.1
	2-4	Az kireçli Low	1	0.6
	4-8	Orta kireçli Medium	2	1.2
	8-15	Kireçli Carbonate	12	7.30
	15-30	Çok kireçli High	59	35.7
	> 30	Marn-kireç toprağı Very high	86	52.1
% OM	<1	Fakir Poor	10	6,1
	1-2	Düşük Low	71	43.0
	2-3	Orta Medium	64	38.7
	3-5	Zengin High	19	11.5
	> 5	Çok zengin Vey high	1	0.7



Şekil 3. Osmaniye İli topraklarının kireç ve organik madde sınıfına göre dağılımını gösteren harita  
Figure 3. Map showing the distribution of Osmaniye Province soils by lime and organic matter class

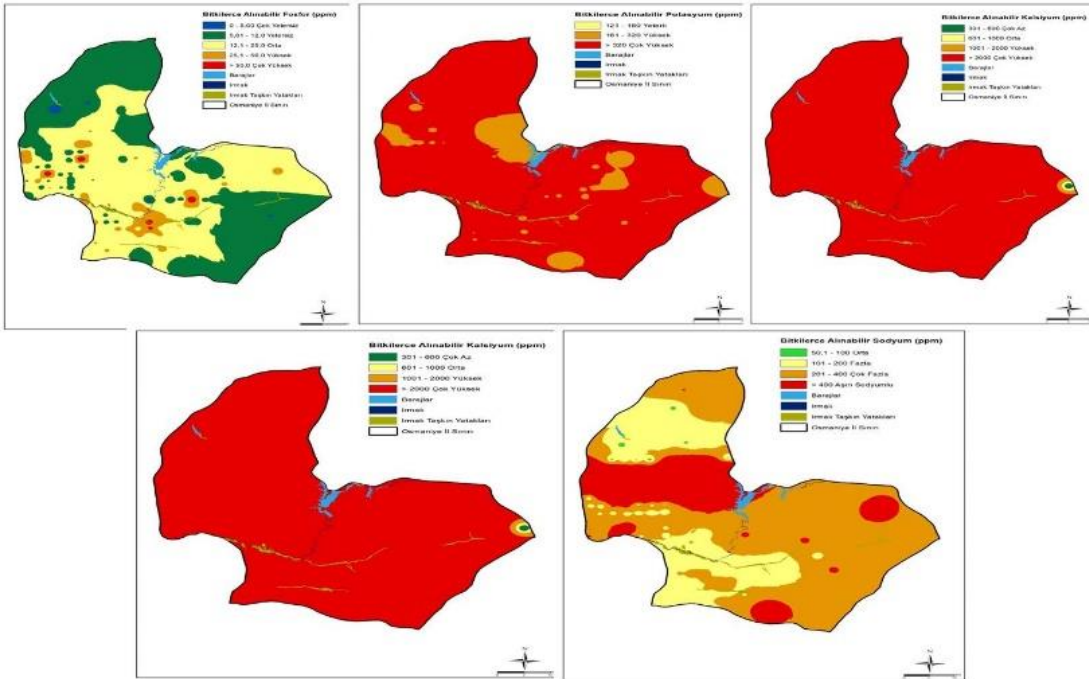
Değişebilir kalsiyum bakımından %0.60'ı yetersiz; %0.60'ı yüksek; %98.78'i çok yüksek sınıfa girmektedir (Çizelge 5). Bunun nedeni, topraklarda kireç miktarının yüksek olması ve CAN gibi kireç içerikli gübre kullanımından kaynaklanabilir. Benzer sonuçları Demireken ve Erdal, 2016'da Hakkari'de, Yalçın ve ark., 2018'de Hata'y'da yürüttükleri çalışmada belirlemişlerdir. Magnezyum bakımından %7.8'i yetersiz; %26.1'i orta; %30.9'u yüksek; %35.1'i çok yüksek sınıfa girmektedir (Çizelge 5).

Topraklarının değişebilir sodyum içeriği yönünden %5.5'i düşük, %34.5'i fazla, %31'i çok fazla ve %29.0'i ise aşırı fazla bulunmuştur (Çizelge 5). Topraklarda tuzluluk görülmektedir. Bunun nedeni toprakta varolan değişebilir Na varlığından kaynaklanabilir (Dölarlan ve Gül, 2012). Ayrıca toprakların değişebilir fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve sodyum dağılımını gösteren harita Şekil 4'de verilmiştir.

Çizelge 5. Toprakların değişebilir fosfor, potasyum kalsiyum, magnezyum ve sodyum içerikleri (Silanpää, 1990; Sumner and Miller, 1996)

Table 5. Extractable phosphorus, potassium calcium, magnesium and sodium contents of soils

Elementler Elements	Değeri Values	Sınıfı Class	Örnek Sayısı Sample numbers	Dağılımı (%) Distribution (%)
Fosfor (P mg kg <sup>-1</sup> )	<0.5	Çok yetersiz (very inadequate)	23	13.9
	6-12	Yetersiz (inadequate)	59	35.7
	13-25	Orta (medium)	61	36.9
	26-50	Yüksek (high)	17	10.3
	> 51	Çok yüksek (very high)	5	3.0
Potasyum (K, mg kg <sup>-1</sup> )	121-200	Zengin (high)	3	1.82
	201-600	Çok zengin (very high)	132	80.0
	>600	Aşırı zengin (Excess)	30	18
Kalsiyum (Ca, mg kg <sup>-1</sup> )	301-600	Yetersiz (inadequate)	1	0.60
	1001-2000	Yüksek (high)	1	0.60
	>2000	Çok yüksek (very high)	163	98.78
Magnezyum (Mg, mg kg <sup>-1</sup> )	0-50	Çok yetersiz (very inadequate)	-	-
	51-100	Yetersiz (inadequate)	13	7.8
	101-500	Orta (medium)	43	26.1
	501-1000	Yüksek (high)	51	30.9
	>1000	Çok yüksek very high)	58	35.1
Sodyum (Na, mg kg <sup>-1</sup> )	<101	Düşük (low)	9	5.5
	101-200	Fazla (high)	57	34.5
	201-400	Çok fazla (very high)	51	31.0
	>400	Aşırı fazla (excess)	48	29.0



Şekil 4. Toprakların değişebilir fosfor, potasyum kalsiyum, magnezyum ve sodyum içeriklerine ait dağılımların haritası

Figure 4. Map of the distributions of extractable phosphorus, potassium calcium, magnesium and sodium contents of soils

**Toprakların değişebilir demir, bakır, çinko, mangan ve bor içerikleri**

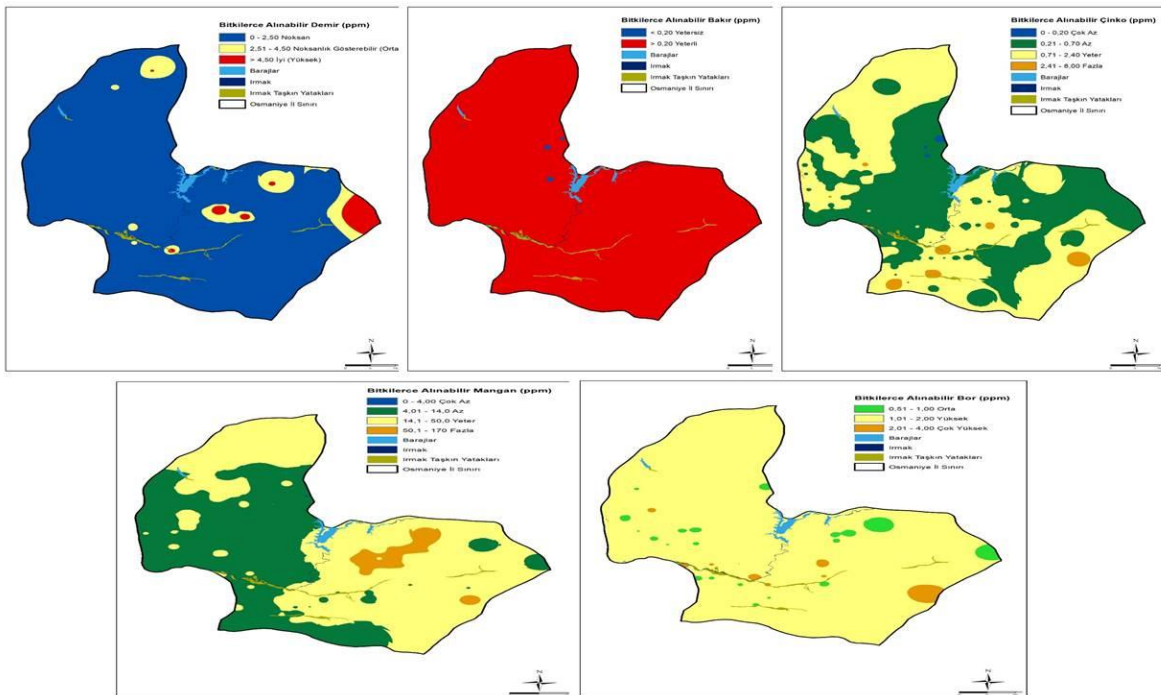
Toprakların demir içerikleri %92.7'si az; %3.6'sı orta; 3.6'sı yüksek; bakır içerikleri 2.42'si az; %93.9'u orta; %3.6'sı yüksek bulunmuştur. Toprakların %90.9'u çok az; %5.45'i az; %3.64'ünde çinko miktarı orta bulunmuştur (Çizelge 6). Toprakların mangan kapsamaları %12.1'i yüksek; %87.9'u çok yüksek çıkmıştır. Bor kapsamaları bakımından toprakların %12.1'i yetersiz; %81.8'i orta; %6.1'i yüksek sınıfına

girmektedir (Çizelge 6). Özellikle bu bölgede tarımı yapılan soya ve yerfıstığında Fe ve Zn noksanlığı gözle görülebilmektedir. Bunun nedeni bölgedeki kaba bünyeli toprakların varlığı ve kireç miktarının yüksek olmasından kaynaklanabilir. Farklı araştırmacılar yürüttükleri çalışmalarda benzer sonuçları bildirmişlerdir (Shalau, 2010; Tekin, 1990; Kızılgöz ve ark., 1999; Bozgeyik ve Çimrin, 2020). Toprakların Fe, Cu, Zn, Mn ve B içeriklerinin tematik haritaları Şekil 5'de verilmiştir.

Çizelge 6. Toprakların değişebilir demir, bakır, çinko, mangan ve bor içerikleri (Lindsay and Norwell, 1978; Follet, 1969; Wolf, 1971)

Table 6. Extractable iron, copper, zinc, manganese and boron contents of soils

Elementler <i>Elements</i>	Değeri <i>Values</i>	Sınıfı <i>Class</i>	Örnek Sayısı <i>Sample numbers</i>	Dağılımı (%) <i>Distribution (%)</i>
Demir (Fe, mg kg <sup>-1</sup> )	<2.5	Az ( <i>low</i> )	153	92.7
	2.5 -4.5	Orta ( <i>medium</i> )	6	3.6
	>4.5	Yüksek ( <i>high</i> )	6	3.6
Bakır (Cu, mg kg <sup>-1</sup> )	<0.2	Az ( <i>low</i> )	4	2.42
	0.2-2	Orta ( <i>medium</i> )	155	93.9
	>2	Yüksek ( <i>high</i> )	6	3.6
Çinko (Zn, mg kg <sup>-1</sup> )	0-1.5	Çok Az ( <i>very low</i> )	150	90.9
	1.6-3	Az ( <i>low</i> )	9	5.45
	3.1-20	Orta ( <i>medium</i> )	6	3.64
Mangan (Mn, mg kg <sup>-1</sup> )	3.1-6.0	Yüksek ( <i>high</i> )	20	12.1
	>6.1	Çok Yüksek ( <i>very high</i> )	145	87.9
	0.2-0.5	Yetersiz ( <i>inadequate</i> )	20	12.1
Bor (B, mg kg <sup>-1</sup> )	0.5-1	Orta ( <i>medium</i> )	135	81.8
	1-2	Yüksek ( <i>high</i> )	10	6.1
	2-4	Çok Yüksek ( <i>very high</i> )	0	-
	4-8	Aşırı Borlu ( <i>high</i> )	0	-



Şekil 5. Toprakların ekstraktwe edilebilir demir, bakır, çinko, mangan ve bor içeriklerine ait dağılımları gösteren harita  
Figure 5. Map showing the distributions of extractable iron, copper, zinc, manganese and boron contents of soils

Çizelge 7. Toprak ve toprak özellikleri arasındaki ilişkiler (r)  
 Table 7. Relationships between soil and soil properties (r)

	Kum <i>Sand</i>	Kil <i>Clay</i>	Silt <i>Silt</i>	pH	EC	Kireç <i>Carbonate</i>	OM	P	K	Ca	Mg	Na	B	Fe	Cu	Zn
pH	-.216**	.228**	0.057													
EC	-.363**	.292**	.220**	-0.117												
Kireç	-.345**	.167*	.366**	-0.050	.239**											
OM	-.158*	0.133	0.088	-0.021	0.025	-0.015										
P	-0.125	0.097	0.082	0.079	0.090	-0.051	.268**									
K	-.370**	.295**	.228**	0.116	.197*	.214**	.216**	.440**								
Ca	-.390**	.361**	.170*	0.010	.243**	.339**	.247**	-0.091	.202**							
Mg	-.242**	.352**	-0.077	-.162*	0.109	-0.142	-0.086	0.078	0.031	-0.092						
Na	-0.152	.161*	0.036	-.311**	.184*	.424**	0.033	-0.064	-0.030	.388**	0.143					
B	-0.095	0.037	0.114	0.022	0.121	-0.066	.334**	.310**	.269**	0.072	-0.076	0.046				
Fe	.337**	-.314**	-0.144	-.473**	-.199*	-.345**	-0.020	0.014	-.213**	-.386**	0.004	-0.083	-0.038			
Cu	-.291**	.175*	.261**	0.094	.162*	0.076	0.111	.287**	.170*	0.039	.156*	-0.004	.169*	0,127		
Zn	0.025	-0.074	0.061	0.039	0.002	-0.092	.177*	.332**	.189*	-0.096	0.053	-0.075	.295**	0.077	.341**	
Mn	.331**	-.224**	-.261**	-.489**	-0.139	-.382**	0.087	0.092	-0.058	-.333**	.418**	-0.024	0.140	.512**	-0,051	0,135

\*: p<0.05 \*\*:p<0.01 OM: organik madde (%), kireç, kum, kil, silt (%)

EC: elektriksel iletkenlik (dS m<sup>-1</sup>), P, K, Ca, Mg, Na, B, Fe, Cu, Zn ve Mn (mg kg<sup>-1</sup>)



### Bazı toprak özellikleri arasındaki ilişkiler

Araştırma kapsamında alınan toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri arasında önemli pozitif ve negatif ilişkiler belirlenmiştir (Çizelge 7). pH ile kum arasında %1 seviyesinde önemli negatif (0.216); EC ile kum arasında %1 seviyesinde önemli negatif (0.363); kil (0.292) ve silt (0.220) arasında %1 seviyesinde önemli pozitif; kireç ile kum arasında %1 seviyesinde önemli negatif (0.345), kil ile %5 seviyesinde önemli pozitif (0.167), silt (0.366) ve EC ile (0.239) %1 seviyesinde önemli pozitif ilişkiler bulunmuştur (Çizelge 7). Bulunan değerler, topraklarda tarımsal üretimde tuzluluk yönünden herhangi bir sorunun bulunmadığını göstermektedir (Turan ve ark., 2010).

OM ile kum arasında %5 düzeyinde önemli negatif (0.158), P ile %1 seviyesinde önemli pozitif (0.268), K ile %1 düzeyinde önemli negatif (0.370), kil (0.295), silt (0.228), kireç (0.214) OM (0.216), P (0.440) ile %1 düzeyinde önemli pozitif ilişki varken EC ile %5 düzeyinde önemli pozitif (0.197); Ca ile kil (0.361), EC (0.243), kireç (0.339), OM (0.247), K(0.202) arasında %1 seviyesinde önemli pozitif, silt (0.170) ile %5 düzeyinde önemli pozitif ilişkiler bulunmuştur. Benzer şekilde Akça ve ark., 2015'de yürüttükleri bir çalışmada benzer sonuçları bulduklarını bildirmişlerdir. Kum (0.390) ile %1 düzeyinde önemli negatif ilişki belirlenmiş olup (Çizelge 7), çeşitli araştırmacılar da (Sağlam ve Dengiz, 2013; Akça ve ark., 2015; Yalçın ve ark., 2018) benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Mg ile kum arasında %1 düzeyinde önemli negatif (0.242), kil ile arasında %1 düzeyinde önemli pozitif (0.352), pH arasında %5 düzeyinde önemli negatif (0.162); Na ile kil arasında %5 düzeyinde önemli pozitif (0.161), EC (0.184), pH arasında %1 düzeyinde önemli pozitif (0.311), kireç (0.424), Ca (0.388), B ile OM arasında (0.334), P (0.310), K (0.269) ile %1 düzeyinde önemli Fe ile kum arasında (0.337) %1 düzeyinde önemli pozitif, kil (0.314), pH (0.473), kireç (0.345), K (0.213), Ca (0.386) ile %1 düzeyinde önemli negatif, EC ile %5 düzeyinde önemli negatif (0.199) ilişkiler bulunmuştur (Çizelge 7).

Bakır ile kum (0.291) arasında %1 düzeyinde önemli negatif, silt (0.261), P (0.287) ile %1 düzeyinde önemli pozitif; kil (0.175), EC (0.162), K (0.170), Mg (0.156) B (0.169) ile aralarında %5 düzeyinde önemli pozitif ilişkiler bulunmuştur (Çizelge 7). Zn ile OM (0.177) ve K (0.189), arasında %1 düzeyinde önemli pozitif, P ile (0.332), B (0.295), Cu (0.341) arasında %1 düzeyinde önemli pozitif; Mn ile kum (0.331), kil (0.224), silt (0.261), pH (0.489), kireç (0.382), Ca (0.333) arasında %1 düzeyinde önemli negatif, Kum ile (0.331), Mg (0.418), Fe (0.512) arasında %1 düzeyinde önemli pozitif ilişkiler bulunmuştur (Çizelge 7). Farklı yöre topraklarında çalışan bazı araştırmacılar da benzer

ilişkileri bulduklarını bildirmişlerdir (Taşkın ve ark., 2015; Balcı ve ark., 2016).

### SONUÇ ve ÖNERİLER

Tarımsal alanlarımızın sürdürülebilir kullanımını sağlamak amacıyla bilimsel yollarla toprakların fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirlemek ve bu yolla elde edilen analitik verilerin analizleri, yorumları ve değerlendirmeleri ile sürdürülebilir planlarını hazırlamak için toprak özelliklerine ait dağılım haritaları çıkarılmıştır. Böylelikle ilgililer haritalar üzerinde tarımsal alanların özelliklerini ve dağılımlarını daha kolay görecektir. Ayrıca bu tür haritaların dijital ortama aktarılması tarımsal alet ve ekipmanlara yüklenen sonuçlara göre uygulamalarda yapılabilecektir.

Çalışma alanı topraklarının 1/3'ünü oluşturan kumlu topraklarda gübreleme, sulama vb uygulamaların toprağın tekstürü dikkate alınarak yapılması gerekmektedir. Toprakların EC değerleri incelendiğinde toprakların yarısında tuzlanma başladığı, bunun nedeninin topraktaki Na varlığında yüksek çıkmasından ileri gelebileceği öngörülmektedir. Toprakların yarısında P yetersizliği belirlenmiştir. Bu alanların daha çok kaba bünyeli alanlar olduğu ve fosforlu gübrelemenin dengeli bir şekilde ve damlama sulama ile yapılması daha uygun olacaktır. Fe ve Zn bakımından topraklar yetersiz bulunmuştur. Bu nedenle bu alanlara demir ve çinko gübrelerinin tabandan özellikle soya ve yer fıstığı tarımı yapılan alanlara bu bitkiler Fe alımı bakımından Fe-etkin olmadıkları için yaprakdan da uygulama yapılmalıdır.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü tarafından Müdürlüğü tarafından TAGEM/TSKAD/13/A13/PO7/01-10 no'lu proje kapsamında yürütülen projenin verileri kullanılarak hazırlanmıştır.

### Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### KAYNAKLAR

- Akça MO, Türkmen F, Taşkın MB, Soba MR, & Öztürk HS 2015. Ankara üniversitesi kalecik araştırma ve uygulama çiftliği topraklarının verimlilik durumlarının incelenmesi. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi, 3(2): 54-63.
- Aktas M 1994. Bitki Besleme ve Toprak Verimliliği. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1361, Ankara, 344 s.
- Anonim. 1988. Türkiye gübreler ve gübreleme rehberi.

- T.C.T.O.K.B. Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü  
Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü  
Genel Yayın No:151.
- Anonim 2020. Osmaniye tarım ve hayvancılık.  
<https://www.dogaka.gov.tr/dogu-akdeniz/osmaniye/tarim-ve-hayvancilik>. (Alınma Tarihi: 20.09.2020).
- Başar H 2001. Bursa ili topraklarının verimlilik durumlarının toprak analizleri ile incelenmesi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 15: 69-83.
- Başaran M, Okant M, 2005. Bazı toprak özelliklerinin eldivan yöresinde yetiştirilen kirazların beslenme durumu üzerine etkisi. Tarım Bilimleri Dergisi 11(2): 115-119.
- Balcı M, Taşkın MB, Kaya EC, Soba MR, Özer P, Kabaoğlu A, Turan MA, Taban S, 2016. Doğu Karadeniz Bölgesi'nde çay tarımı yapılan toprakların ve çay bitkisinin demir, bakır, çinko ve mangan durumları. Toprak Su Dergisi, 5(2): 65- 74.
- Bayram CA, Büyük G, Kaya A 2021. Effects of Farm Manure, Vermicompost and Plant Growth Regulators on Yield and Fruit Quality in Watermelon. KSU J. Agric. Nat. 24 (in press).
- Bozgeyik T, Çimrin KM 2020. Gaziantep İli Nizip İlçesi Antepfıstığı Ağaçlarının Yaprak ve Toprak Örnekleri ile Beslenme Durumunun Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Tarım ve Doğa Dergisi, 23(3):722-732.
- Bouyoucos GJ 1951. A Calibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soil. Agronomy Journal 43: 434-438.
- Canözer Ö, Çakır M, Püskülcü G, Dikmelik Ü, 1984. Ege bölgesi önemli kiraz çeşitlerinin bitki besin element durumları ve toprak – bitki ilişkileri. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, İzmir
- Çimrin KM, Boysan S 2006. Van yöresi tarım topraklarının besin elementi durumları ve bunların bazı toprak özellikleriyle ilişkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi 16: 105-111.
- Çolakoğlu H 2008. Sera Yetiştiriciliğinde Gübreleme. <http://www.toros.com.tr/resim/Sera%20Yetiştiriciliğinde%20Gübreleme.pdf>.
- Demirekin H, Erdal İ 2015. Hakkari-Çukurca Yöresi Topraklarının Verimlilik Durumlarının Belirlenmesi. YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi, 25(2): 140-147.
- Dölarıslan M, Gul E 2012. Toprak bitki ilişkileri açısından tuzluluk. Turkish Journal of Scientific Reviews, 5(2): 56-59.
- Esençay MK, Korkmaz K 2019. Ordu topraklarının potasyum durumu ve potasyum fiksasyonunun belirlenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 6(4): 878-886.
- FAO 1990. Micronutrient, assesment at the country level: An intemational study. FAO Soils Bulletin, 63. Rome
- Follet RH, 1969. Zn. Fe. Mn and Cu in Colorado Soils. PhD. Dissertation. Colo. State Univ. Güneş A, Aktaş M, İnal A, Alpaslan M, 1996. Konya kapalı havzası topraklarının fiziksel ve kimyasal özellikleri. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları. Yayın No: 1453.
- Güneş A, Aktaş M, İnal A, Alpaslan M 1996. Konya kapalı havzası topraklarının fiziksel ve kimyasal özellikleri. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları. Yayın No: 1453.
- Kacar B 1995. Bitki ve toprağın kimyasal analizleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları, 466 s, Ankara
- Kacar B, Taban S, Alpaslan M, Fuleky G 1998. Zinc-Phosphorus relationship in the dry matter yield and the uptake of Zn, P, Fe and Mn of rice plants (*Oryza sativa* L.) as affected by the total carbonate content of the soil. Second International Zinc Symposium. 10–14 June, 1996, Ankara-Turkey, pp: 20
- Kacar B, Katkat V 2009. Bitki Besleme. Nobel Yayın No:849, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi:29.
- Karaoğlu, M., Yalçın, A. M. 2018. Toprak Tuzluluğu ve İğdir Ovası Örneği. Journal of Agriculture, 1(1): 27-41.
- Keren R. Bingham FT, & Rhoades JD 1985. Plant uptake of boron as affected by boron distribution between liquid and solid phases in soil. Soil Science Society of America Journal, 49(2): 297-302.
- Kızılgöz İ, Kızılkaya R, Kaptan H, Sürücü A 1998. Harran ovası yaygın toprak serilerinin DTPA ile ekstrakte edilebilir mikro element içerikleri ve bazı toprak özellikleriyle ilişkileri. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2(4): 27-34.
- Kızılgöz İ, Kızılkaya R, Seyrek A, Kaptan H 1999. Şanlıurfa Yöresinde Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) Yetiştirilen Toprakların Verimlilik Düzeylerinin Saptanması Üzerine Bir Araştırma. GAP I. Tarım Kongresi, 26-28 Mayıs 1999, II. Cilt: 987-994. Şanlıurfa
- Kuşutan F, Ateş F, Akın A, 2017. Alaşehir ilçesinde (Manisa) superior seedless üzüm çeşidi yetiştirilen toprakların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. Harran Tarım ve Gıda Bilimler Dergisi 21(1): 16-23.
- Lindsay WL, Norvell WA 1969. Development of a DTPA micronutrient soil test. Soil Science Society of American Proceeding 35: 600-602.
- Loué A 1968. Diagnostic Petiolaire de Prospection. Etudes Sur la Nutrition et la Fertilisation Potassiques de la Vigbe Societe Commerciale des Potasses d'Alsace Services Agroomiques.31- 41.
- Maas EV 1986. Salt tolerance of plants. Applied Agricultural Research 1: 12-25.
- Mengel K, Kirkby EA 1982. Principles of plant nutrition. 3th ed, International Potash Institute,

- Worblaufen-Bern, Switzerland, Pp: 655.
- Miller SS 1998. Begin orchards nutritional program. Determining nutritional status of apple and peach. USD-ARS, Appalachian Fruit Research Station. Kearneysville, West Virgin, USA.
- Olsen SR, Cole CV, Watanabe F S, & Dean LA 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circ. 939. US Gov. Print. Office, Washington, DC. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circ. 939. US Gov. Print. Office, Washington, DC.
- Olsen SR, and Sommers EL. 1982. Phosphorus soluble in sodium bicarbonate, methods of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties. Edit: A.L. Page, P.H. Miller, D.R. Keeney, 404-430.
- Pizer NH. 1967. Some advisory aspects, soil potassium and magnesium. Tech. Bull. No: 14:184.
- Richards LA, 1954. Diagnosis and Improvement Saline and Alkaline Soils. U.S. Dep. Agr. Handbook 60. Soil Survey Manual, 1951. U. S. Dept. Agricultural. Handbook 18. Washington D.C.
- Sağlam M, Dengiz O, 2013. Kimyasal toprak kalite göstergelerinin faktör ve jeoistatistik analiz yöntemleriyle değerlendirilmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 50(2): 181-190.
- Shalau J 2010. Laboratories Conducting Soil, Plant, Feed or Water Testing. Publication AZ1111, College of Agriculture and Life Science, University of Arizona.
- Sillanpää M 1990. Micronutrient assessment at country level: An international study. Soils Bulletin No. 63, FAO, Rome, 208 pp.
- Soil Survey Manual 1951. U. S. Dept. Agricultural. Handbook 18. Washington D.C.
- Spackman JA, Fernandez FG, Coulter JA, Kaiser DE, Paiao G 2019. Soil texture and precipitation influence optimal time of nitrogen fertilization for corn. Agronomy Journal, 111(4): 2018-2030.
- Sönmez, İ. ve S. Sönmez, 2007. Tuzluluk ve Gübreleme Arasındaki İlişkiler. Tarımın Sesi Dergisi, 16: 13-16.
- Söylemez S, Öktem, AG, K.ara H, Almaca ND, Ak B E, Sakar E. 2017. Şanlıurfa yöresi zeytinliklerinin beslenme durumunun belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 21(1): 1-15.
- Sumner ME, Miller W 1996. Cation exchange capacity and exchange coefficients. Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods, 5: 1201-1229.
- Tarakçıoğlu C, Yalçın S R, Bayrak A, Küçük M, Karabacak H. 2003. Ordu yöresinde yetiştirilen fındık bitkisinin (*Corylus avellana* L.) beslenme durumunun toprak ve yaprak analizleriyle belirlenmesi. Ankara Ü.Z.F. Tarım Bilimleri Dergisi 9(1): 13-22
- Taşkın MB, Balcı M, Soba MR, Kaya EC, Özer P, Tanyel G, Kabaoğlu A, Turan MA, Taban S, 2015. Doğu Karadeniz Bölgesinde çay tarımı yapılan toprakların ve çay bitkisinin azot, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve kükürt durumları. Toprak Su Dergisi, 4(2):30-40.
- Tekin H, Çağlar G, Kuru C, Akkök F 1990. Antepfıstığı Besin Kapsamlarının Belirlenmesi ve En Uygun Yaprak Örneği Alım Zamanının Tespiti. Türkiye 1. Antepfıstığı Sempozyumu Bildiriler. 11-12 Eylül 1990, s.120-138.
- TOVEP 1991. Türkiye toprakları verimlilik envanteri. T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü
- Turan MA, Katkat A.V, Özsoy G, Taban S, 2010. Bursa ili alüviyal tarım topraklarının verimlilik durumları ve potansiyel beslenme sorunlarının belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 24(1): 115-130.
- Tüzüner A. 1990. Toprak ve su analiz laboratuvarları el kitabı. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara
- Walkley A, Black IA, 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37(1): 29-38.
- Wolf B 1971. The determination of boron in soil extracts, plant materials, composts, manures, water and nutrient solutions. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2(5): 363-374.
- Yalçın M, Çimrin KM, Tutuş Y. 2018. Hatay ili Kırıkhan-Reyhanlı bölgesi çayır-mera topraklarının besin elementi durumları ve bazı toprak özellikleri ile ilişkileri. KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi. 21(3): 385-396.
- Zhang Y, Huang S, Guo D, Zhang S, Song X, Yue K, Zhang K, Bao D 2019. Phosphorus adsorption and desorption characteristics of different textural fluvo-aquic soils under long-term fertilization. Journal of Soils and Sediments, 19(3): 1306-1318.

## The Factors Affecting Willingness to Consume Functional Foods in Mersin Province

Binnur ÇETİN<sup>1</sup>, Emine İKİKAT TUMER<sup>2\*</sup>

<sup>1,2</sup>Kahramanmaraş Sutcu Imam University Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Economy, Kahramanmaraş, Turkey.

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-0777-3543>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-6336-3026>

✉: [2katumer@gmail.com](mailto:2katumer@gmail.com)

### ABSTRACT

To have a healthy life and live long; to reduce health cost, risk of illness and to obtain health protection, sustainability and increasing consumer awareness have increased consumer demand for functional food in developing and developed countries. The objective of this study was to determine socio-economic factors and food consumption affecting consumers' willingness to consume functional foods in Mersin Province. For this purpose, a survey was conducted with 384 consumers in 2017 and obtained data was analyzed by using Binomial Probit model. Results show that there was a positive relationship between consumers' willingness to consume functional food and education, income, working in the health sector and paying attention to nutrition information on package. In fact, increasing the level of education and income of the consumers and having knowledge about functional foods increase the willing of consuming these products.

### Research Article

#### Article History

Received : 14.08.2020  
Accepted : 21.10.2020

#### Keywords

Functional food  
Willingness to buy  
Health  
Binomial Probit  
Mersin

## Mersin İlinde Fonksiyonel Gıda Satın Alma İstekliliğini Etkileyen Faktörler

### ÖZET

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde uzun ve sağlıklı yaşam sürme, sağlık masraflarını azaltma, hastalanma riskini azaltma, sağlığı koruma ve sürdürülebilirliğini sağlama gibi etkenler tüketicilerin fonksiyonel gıdalara olan talebini artırmıştır. Bu çalışmanın amacı tüketicilerin fonksiyonel gıdaları tüketim istekliliğinde etkili olan sosyo-ekonomik ve gıda tüketimi ile ilgili faktörlerin belirlenmesidir. Bu amaçla 2017 yılında Mersin ilinde 384 tüketici ile anket yapılmış ve elde edilen verilerle çalışmanın amacına yönelik olarak Binomial Probit analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda tüketicilerin fonksiyonel gıda tüketim isteği ile eğitim, gelir, sağlık sektöründe çalışma, fonksiyonel gıda tüketme ve ambalaj üzerindeki besin öğelerine dikkat etme durumu arasında pozitif yönlü, ailedeki birey sayısı arasında negatif yönlü ilişki tespit edilmiştir. Çalışmanın sonuçları tüketicilerin eğitim ve gelir seviyesinin artması ile birlikte fonksiyonel gıda hakkında bilgi sahibi olmasının bu ürünlere karşı tüketim istekliliğini arttırdığını göstermektedir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 14.08.2020  
Kabul Tarihi : 21.10.2020

#### Anahtar Kelimeler

Fonksiyonel gıda  
Satın alma istekliliği  
Sağlık  
Binomial Probit  
Mersin

**To Cite :** Çetin B, İkiikat Tümer E 2021. The Factors Affecting Willingness to Consume Functional Foods in Mersin Province. KSU J. Agric Nat 24 (4): 871-877. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.780845.

### INTRODUCTION

The desire to live longer and to improve human life quality by protecting the mind and body health is effective in the development of healthy nutrition knowledge (İşleroglu et al., 2005; Annunziata et al., 2015; Kraus, 2015a). Food-based health risks and reducing healthcare costs in recent years have led consumers not only to consume safe food but also to maintain health care and sustainability (Özçiçek Dölekoğlu et al., 2015; Büyükkaragöz et al., 2014; Krystallis, et al., 2008). Increasing awareness of the

consumers over time has led to increase research on healthy nutrition and with the development of technology; the food industry has begun to search for beneficial products for human health. One of these products is functional food (FF).

Even though the definition is not accepted universally, (Hasler, 2002), FF is defined as a food or food components which contains biologically active components and benefits the individual's metabolic, physiological and mental functions reducing the risk of individuals becoming ill, and prolongs their



lifespan (Frewer et al., 2003; Niva, 2007; Krystallis et al., 2008; Messina et al., 2008).

This food contains minerals, fatty acids and antioxidants (natural foods) such as: kefir, wheat cheddar, and cocoa. Moreover, probiotic and prebiotic enriched yogurt, beverages, vitamins D, and C vitamins supplemented with calcium added products (active supplement) and lactose-free milk, low-calorie foods are also examples of FFs (Siro et al., 2008).

FF has entered the food market for the first time in Japan in the 1980s and has taken its place in the US and European markets with the increasing interest of consumers. Increasing consumers' interest in low-calorie foods and willingness to live healthy life has increased (Granato et al., 2010) the demand for such products. Although FFs are found in almost all food categories, they cannot be reached to all segments of the growing world food market (Siro et al., 2008).

FF global market is estimated at 299.32 billion US \$ in 2017 and it is expected to be 440 billion US \$ by 2022 (Anonymus 2018). The largest growth in the functional food market in Japan was in 2016. The market value of Functional Foods was 238.2 billion YEN in 2019 in this country.

Functional food revenues for the main market in Asia and the Pacific Islands account for 34% of World. The world's second largest market is North America, consisting of the United States and Canada, which account for 25% of total revenue. Functional food consumption in Europe varies depending the countries and the culture, yet, it is more popular in Central and Northern European countries. The functional food market in these countries accounts for 16% of total world revenue. In Turkey, Functional Food Market Size has lagged behind European and Asian countries and has not reached the desired level. The functional food market in Turkey grew by 52% from 2012 to 2017 reaching to \$ 461.7 million in 2017 (Gok and Ulu, 2018)

In the 2000s, many studies on FF consumption was conducted such as the factors affecting consumers' FF awareness (Krystallis, et al., 2008; Bornkessel et al., 2014; Büyükkaragöz et al., 2014; Annunziata et al., 2015), the socio-demographic factors affecting FF preference (Gaston and Gambaro, 2007), consumer's FF consumption decision (Brecic et al., 2014; Özçiçek Dölekoğlu et al., 2015; Kraus, 2015a; Boluda and Capilla, 2017), consumer perception of FFs (Hacıoğlu and Kurt, 2012; Dolgopolova et al., 2015), the role of socio-demographic, cognitive and attitudinal variables in accepting FFs (Verbeke, 2005), relationship between purchasing these goods and lifestyle and healthy eating habits (Chen, 2011), and the factors affect the willingness to consume functional foods (Ares and Gambaro, 2007; Goetzke, et al., 2014; Siegrist et al., 2015; Pappalardo and Lusk, 2016;

Zielinska and Zychowicz, 2017). In addition, review studies also were conducted by providing an overview of the development of these foods (Kaur and Singh, 2017) and their technical aspects (Granato et al., 2010).

Factors influencing the purchasing of FFs by consumers differ depending on a country, region, culture and socio-economic characteristics. Therefore, studies to increase knowledge, awareness, consciousness and consumption of FF have a great importance in developed and developing countries. Thus, the purpose of this study was to determine socio-economic factors and food consumption affecting consumers' willingness to consume functional foods in Mersin Province.

## MATERIAL and METHODS

The main data of the study was obtained from survey data with 384 consumers in Mersin province of Turkey in October of 2017. Questionnaires were filled in by researchers to minimize the errors of some questions answered by consumers during the survey.

$$n = \frac{N * p * (1 - p)}{(N - 1) * \sigma_p^2 + p * (1 - p)} = \frac{136155 * 0.5 * 0.5}{(136155 - 1) * 0.0025 + 0.5 * 0.5} \cong 384$$

In the formula; n:sample size, N:number of farm in the population,  $\sigma_p^2$ : variance of the ratio, r:margin of error allowed from the average (5%),  $Z_{\alpha/2}$ :Z value (1.96), p: shows the possible proportion of producers (50%).The survey questions were prepared by the authors as a result of extensive literature review. Later, it took its final form with interviews with subject experts. Data was consisting of 5 sections: (1) socio-demographic factors, (2) health-related variables, (3) factors to be considered in food purchasing, (4) knowledge about FF definition, adoption and the willingness to consume FF. A 5-point Likert scale (1:Never, 2:Rarely, 3:Occasionally, 4:Usually, 5:Always) was used to determine the factors affecting consumers' purchasing food.

If the dependent variable expresses the presence (1) and absence (0) of an event, Limited Dependent Variable Regression Models is used (Gujarati, 2006). In this study, Binomial Probit model was used to reach the goal of determining the factors that are effective on the willingness to consume functional food. The probit model has been used in calculating the willingness to pay for FF (Munene 2006; Markosyan et al., 2007; Pasquale et al., 2011).

While the values of zero and one were observed for the dependent variable in the probit model, there was a latent, unobserved continuous variable,  $y^*$  (Formula1).

$$y^* = \sum_{k=1}^k \beta_k \chi_k + \varepsilon \quad (1)$$

Where the symbol k is number of variable,  $\beta$  is coefficient,  $\chi$  is independent variable,  $\varepsilon$  is  $N(\mu=0, \sigma=1)$  The dummy variable, y, was observed and was determined by  $y^*$  as follows (Formula 2).

$$y = \begin{cases} 1, & \text{if } y^* > 0 \\ 0, & \text{otherwise} \end{cases} \quad (2)$$

The point of interest relates to the probability that y equals one. From the above equations, we see that (Formula 3):

$$\begin{aligned} Prob(y = 1) &= Prob\left(\sum_{k=1}^k \beta_k \chi_k + \varepsilon > 0\right) \\ &= Prob\left(\varepsilon > -\sum_{k=1}^k \beta_k \chi_k\right) \\ &= 1 - \Phi\left(-\sum_{k=1}^k \beta_k \chi_k\right) \end{aligned} \quad (3)$$

Where  $\Phi$  was the cumulative distribution function of  $\varepsilon$  (Liao, 1994).

Table 1. Socio-economic characteristics of consumers  
*Çizelge 1. Tüketicilerin sosyo-ekonomik özellikleri*

	Minimum ( <i>Minimum</i> )	Maximum ( <i>Maksimum</i> )	Mean ( <i>Ortalama</i> )	Std. Error ( <i>Std. hata</i> )
Age (year)	20	67	40.05	0.52
Household Size (person)	1	7	3.71	0.06
Income \$/month	263.16	1973.68	823.85	18.55
Food \$/month	39.47	526.32	149.56	3.99

Results showed that 50.39% of the respondents were women, 87.27% were married, 67.01% were over 35 years old, 63.12% of the households had 4 or more individuals, and 65.71% of whom had 9 years or more of education (high school and university). Employees in the health and food sector have adequate knowledge and equipment on healthy nutrition. Overall, 12.73% of consumers work in the health and food sectors and 25.97% of whom exercise sports regularly (Table 2). In a study conducted in Turkey also indicated that 44.3% of participants sustained some kind of hereditary diseases (Büyükkaragöz et al., 2014).

The most important reasons for consuming FFs were to protect health, to contribute functional foods, and the level of awareness (Urala, 2005). According to results, 13.51% of respondents had knowledge about FF and 92.99% willing to get information. In addition, 55.32% of participants wanted to consume somehow these foods (Table 2).

Consumers always payed attention to the production and expiration date, the conditions of preservation and the brand of the products that they buy, but they

In the model, the willingness to consume FF was taken as a dependent variable (Y). The dependent variable FF is encoded as (1), while the unwanted variable is encoded as (0). Independent variables were gender (male = 1, female = 0), age (35 years and older = 1, <35 = 0), education ( $\leq 8$  year=0, 9 year and more=1), income (households with 900\$ or more income = 1, others = 0), number of households (households with 4 or more individuals = 1, others = 0), occupation (working in the health and food sector = 1, others = 0), FF consumption (consciously consumed=1, others =0) and reading labels on food products (give attention=1, do not give attention=0).

## RESULTS

Socio-economic characteristics such as, age, education, numbers of households, physical activity and income of consumers have an important role in FF consumption. The average age of participating consumers in the survey was 40.05 and the average number of individuals of households was found to be 3.71 persons. Consumers spend 18.15% (149.56 \$) of average monthly income of 823.85 \$ on food expenditures (Table 1).

rarely pay attention to the energy and nutrients content written on the nutrition label, the place of production and the food safety and quality standards such as HACCP, TSE, ISO (Table 3).

The Binomial Probit model was used to determine how the socio-demographic characteristics of consumers (gender, age, education, income, number of individual households, occupation) and features related to food consumption (functional food consumption, food items of ambiguous foods) influences consumers' willingness to consume FF (Table 4). A model was found to be statistically significant ( $\chi^2$ : 77.069; p: 0.000). In the model, education, income, household size, occupation of consumers, FF consumption status, nutrition content of packaged food are statistically important variables.

Consumers with a high education level (9 years or over) have a 4.02% higher willingness to consume FF than low ones (8 years or less). As a result of the probit analysis, it was determined that education and income had a significant influence on consumers' willingness to consume FF. Consumers with higher education and income levels were more willing to

consume FF. Previous studies based on questionnaire data supports the results of this study (Cranfield, et al., 2011; Brecic, et al., 2014; Büyükkaragöz, et al., 2014; Kraus, 2015a; 2015b; Schnettler, et al., 2016). Similarly, there was a positive relationship between FF consumption and income ( $p<0.05$ ). The FF consumption increased by 12.55% when participants

had a higher income than the low-income group. FF consumption decreases by 10.12% ( $p<0.05$ ) when the number of individuals in households is increased from a nuclear family (consisting of 4 or fewer) to a large family (consisting of 5 or more). Employees working in the health and food sector are 15.47% more likely to consume FF than others (Table 4).

Table 2. Socio-demographic characteristics of consumers  
*Çizelge 2. Tüketicilerin sosyo-demografik özellikleri*

		N (N)	Percent (Yüzde)			N (N)	Percent (Yüzde)
Gender	Female	194	50.39	Occupation group	In other occupational groups	336	87.27
	Male	191	49.61		Health and food sector	49	12.73
	Total	385	100.00		Total	385	100.00
Marital Status	Single	49	12.73	Sport	No	285	74.03
	Married	336	87.27		Yes	100	25.97
	Total	385	100.00		Total	385	100.00
Age (year)	<35	127	32.99	Having knowledge about FF	No	333	86.49
	35+	258	67.01		Yes	52	13.51
	Total	385	100.00		Total	385	100.00
Household Size (person)	<4	142	36.88	Request information about FF	No	27	7.01
	4+	243	63.12		Yes	358	92.99
	Total	385	100.00		Total	385	100.00
Education (year)	≤8	132	34.29	Request to consume FF	No	172	44.68
	9+	253	65.71		Yes	213	55.32
	Total	385	100.00		Total	385	100.00
Income	Low-income consumers	195	50.65	FF consumption	No	128	33.25
	High-income consumers	190	49.35		Yes	257	66.75
	Total	385	100.00		Total	385	100.00

Table 3. Consumer's review of product packaging  
*Çizelge 3. Tüketicilerin ürün ambalajını inceleme durumu*

	Mean* (Ortalama)	Std. dev. (Std. sapma)
Date of product/expiry date	4.58	0.03
To storage the product in good condition	4.16	0.05
Brand of product	4.12	0.05
Information on the package	3.81	0.06
Additive materials	3.12	0.07
Imitated product brands that GTHB publishes	2.62	0.06
Energy and nutritional ingredients	2.48	0.06
Production place/origin	2.47	0.06
The product should have food safety and quality standards	2.34	0.06

\*1: Never, 2: Rarely, 3: Occasionally, 4: Usually, 5: Always

In the study, FFs were divided into three groups: natural foods (rich in lycopene tomatoes, beta-carotene storage carrots etc), functional factor added (omega-3 fatty acid eggs, calcium-rich orange juice etc.), and foods that are removed from a harmful compound (sodium reduced salt etc.). 32.98% of the consumers consume natural foods, 13.45% consume

additive food and 7.22% consume non-additive food. However, the vast majority of interviewees do not know if these foods are FF or not. According to the consumers, who consciously consume the FFs, the willingness to consume FF increases by 17.00% ( $p<0.01$ ). On the food packaging, there are information such as the date of production/expiry

date, the amount of production, the contents of the product and the nutritional ingredients. There was a positive correlation between FF consumption and attention to nutritional ingredients information on

the packaging ( $p < 0.10$ ). According to those who do not pay attention to the nutritional ingredients on the packaging, FF consumption is increased by 3.52% (Table 4).

Table 4. Binomial Logit Model estimation for consumers' willingness to consume functional foods  
*Çizelge 4. Tüketicilerin fonksiyonel gıda tüketme isteği için Binomial Logit Model tahmini*

	Coefficient (Katsayı)	Standard Error (Std. hata)	Partial Effect (Kısmi etki)	Standard Error (Std. hata)
Constant	-0.7641**	0.3160		
Gender (Female=0, Male=1)	0.0851	0.1425	0.0284	0.0475
Age (<35 year=0, ≤35 years and more=1)	-0.1586	0.1607	0.0536	0.0546
Education (≤8 year=0, 9 year and more)	0.1203*	0.0708	0.0402*	0.0234
Income (low income=0, high income=1)	0.3630**	0.1511	0.1255**	0.0531
Household size (<4 individual=0, ≤4 individual=1)	-0.2979**	0.1497	0.1012**	0.0510
Occupation group (working in the health and food sector=1, others=0)	0.4681*	0.2450	0.1547**	0.0777
FF consumption state (do not consume=0, consume=1)	0.4823***	0.1512	0.1700***	0.0544
Attention to nutritional ingredients (do not give attention=0, give attention=1)	0.1051*	0.0634	0.0352*	0.0210
Log likelihood function	-2.261.396	Chi square test	77.06954***	

Note: \*\*\*, \*\*, \* ==> Significant at 1%, 5%, 10% level.

Foods serve not only to meet basic nutritional needs, but also to reduce the risk of food-borne illness and to lead a healthy and long life. In recent years, studies were conducted in order to determine FF awareness, acceptance and factors affecting the willingness to pay for these foods and variables that are effective in FF consumption (Krystallis, et al. 2008; Bornkessel, et al., 2014; Büyükkaragöz vd., 2014; Annunziata et al. 2015; Pappalardo and Lusk, 2016; Zielinska and Zychowicz, 2017).

In this study, the relationship between consumers' willingness to consume FF and social, economic and personal variables was revealed. According to the survey results, 86.49% of consumers did not have knowledge about FF. One of the most important determinants of functional food consumption was knowledge (Brecic, et al., 2014). Knowledge has been identified as an important variable in FF consumption in many studies. On the other hand, Naylor et al. (2009) found that 45% had moderate knowledge of FF.

A negative relationship was found between the number of members in household and willingness to consume FF. The increase in the number of households' members also reduces the willingness to consume FF.

Employees in the health and food sector are more eager for FF consumption, which includes food /food ingredients that protect body and mental well being,

reduce the risk of illness, and prolong life expectancy. Similarly, Bui (2015) indicated that as health awareness increases, FF consumption also increases.

Consciously, consumers are willing to consume FF compared to the others food types. As the level of knowledge about FF increases, consumers want to consume more as they see positive effects of them on health. Büyükkaragöz et al., (2014) indicated that consumers who are knowledgeable about the content of natural foods, active supplementary foods and modified foods, were more willing to consume these foods. Similarly, the frequency of consumption (Hung, et al., 2016) and those who were conscious of the relationship between FF consumption frequency and healthy living (Schnettler, et al., 2015) and those who thought that regular consumption prevented the illnesses (Annunziata and Vecchio, 2011) found that they consume more FF. It has been found that consumers' FF consumption and purchasing decisions are positively influenced (Barrios, et al., 2008) by the nutritional value, the date of production/expiry date, the quality guarantee indicators on food packages (such as ISO, HACCP) (Kraus, 2015b).

## CONCLUSIONS

In this study, it was determined that socio-economic variables including education, income, household size, and FF consumption situation, working in the health sector and looking label information on packaged food



affect the consumers' willingness to consume FF. According to the survey results, FF producing and marketing firms should give a seminar on "what is FF" which will affect consumer perceptions positively and contribute to their awareness and increase their knowledge about FF. Thus, as the number of conscious consumers increase, the demand for Functional Foods will also increase. In the marketing phase, food properties must be specified in detail on the packaging of functional foods and emphasis should be made on functional food. It should be stated that the factor is reduced or increased when advertising these foods. In order to increase the functional food consumption of crowded families with low educational and income levels, advertising campaigns can be organized for these families. Consumers should have easy access to functional food and the marketing network should be expanded.

To live a healthier life and reduce health costs, public spots on foods containing fatty acids, antioxidants (natural foods) such as kefir, wheat cheddar, cocoa mineral in its own constitution should be organized for consumers across the country.

#### Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

#### Contribution of the Authors as Summary

Authors declares the contribution of the authors is equal.

#### ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Kahramanmaraş University, Scientific Research Projects Unit Under Project numbers 2017/4-15 YLS. This work was produced from Binnur Cetin's master's thesis.

#### REFERENCES

- Annunziata A, Vecchio R, Kraus A 2015. Awareness and Preference for Functional Foods: the Perspective of Older Italian Consumers. *International Journal of Consumer Studies* 39:352–361.
- Anonymus 2018. Dünya Genelinde Fonksiyonel Gıdanın Küresel Hacmi <https://www.statista.com/topics/1321/functional-foods-market/>(Erişim tarihi: 20.06.2019)
- Ares G, Gámbaro A 2007. Influence of Gender, Age and Motives Underlying Food Choice on Perceived Healthiness and Willingness to Try Functional Foods. *Appetite* 49:148–158.
- Barrios EX, Bayarri S, Carbonell I, Izquierdo L, Costell E 2008. Consumer Attitudes and Opinions toward Functional Foods: A Focus Group Study. *Journal of Sensory Studies* 23:514–525.
- Boluda IK, Capilla IV 2017. Consumer Attitudes in the Election Functional Foods. *Spanish Journal of Marketing-ESIC* 21(S1): 65-79.
- Bornkessel S, Bröring S, Omta SWF, Trijp H 2014. What Determines Ingredient Awareness of Consumers? A Study on Ten Functional Food Ingredients. *Food Quality and Preference* 32:330–339.
- Brečić R, Gorton M, Barjolle D 2014. Understanding Variations in the Consumption of Functional Foods – Evidence from Croatia. *British Food Journal* 116(4): 662-675. <https://doi.org/10.1108/BFJ-05-2012-0133>
- Bui DT 2015. Consumer Acceptance of Functional Foods in Ho Chi Minh City. *Eurasian Journal of Business and Economics* 816:19-34.
- Büyükkaragöz A, Bas M, Sağlam D, Cengiz SE 2014. Consumers' Awareness, Acceptance and Attitudes towards Functional Foods in Turkey. *International Journal of Consumer Studies* 38:628–635.
- Chen MF 2011. The Joint Moderating Effect of Health Consciousness and Healthy Lifestyle on Consumers' Willingness to Use Functional Foods in Taiwan. *Appetite* 57:253–262.
- Cranfield J, Henson S, Masakure O 2011. Factors Affecting the Extent to Which Consumers Incorporate Functional Ingredients into Their Diets. *Journal of Agricultural Economics* 622:375-392.
- Dolgopolova I, Teuber R, Bruschi V 2015. Consumers' Perceptions of Functional Foods: Trust and Food Neophobia in a Cross-cultural Context. *International Journal of Consumer Studies* 39: 708–715.
- Frewer L, Scholderer J, Lambert N 2003. Consumer Acceptance of Functional Foods: Issues for the future. *British Food Journal* 10510:714-731.
- Gastón A, Gámbaro A 2007. Influence of Gender, Age and Motives Underlying Food Choice on Perceived Healthiness and Willingness to Try Functional Foods. *Appetite* 49:148–158.
- Granato D, Branco GF, Nazzaro F, Cruz AG, Faria JAF 2010. Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9:292-302.
- Goetzke B, Nitzko S, Spiller A 2014. Consumption of Organic and Functional Food. A Matter of Well-being and Health? *Appetite* 77:96–105.
- Gok I, Ulu EK 2018. Functional Foods in Turkey: Marketing, Consumer Awareness and Regulatory Aspects, *Nutrition & Food Science* <https://doi.org/10.1108/NFS-07-2018-0198>.
- Gujarati DN 2006. *Basic Econometrics*. Forth Edition, Mc Graw-Hill, USA. Pp1032.
- Hacıoğlu G, Kurt G 2012. Consumer's Awareness, Acceptance and Attitudes toward Functional Foods: A Research in Izmir City, *Business and Economics Research Journal* 3(1): 161-171.
- Hasler CM 2002. Functional foods: benefits, Concerns

- and Challenges a Position Paper from the American Council on Science and Health. *The Journal of Nutrition* 132: 3772–3781.
- Hung Y, de Kok TM, Verbeke W 2016. Consumer Attitude and Purchase Intention towards Processed Meat Products with Natural Compounds and a Reduced Level of Nitrite. *Meat science* 121:119-126.
- İşleröglü H, Yıldırım Z, Yıldırım M 2005. Flaxseed as a Functional food. *Journal of Agricultural Faculty*, 22(2): 23-30.
- Kaur N, Singh DP 2017. Deciphering the Consumer Behaviors Facets of Functional Foods: A Literature Review. *Appetite* 112: 167-187.
- Kraus A 2015a. Factors Influencing the Decisions to Buy and Consume Functional Food. *British Food Journal* 117 (6):1622-1636. <https://doi.org/10.1108/BFJ-08-2014-0301>
- Kraus A 2015b. Development of Functional Food with the Participation of the Consumer. Motivators for Consumption of Functional Products. *International Journal of Consumer Studies* 39: 2-11.
- Krystallis A, Maglaras G, Mamalis S 2008. Motivations and Cognitive Structures of Consumers in Their Purchasing of Functional Foods. *Food Quality and Preference* 19: 525–538.
- Liao, TF 1994. *Interpreting Probability Models: Logit, Probit, and Other Generalized Linear Models*. Thousand Oaks, CA: Sage Publications, Inc. pp 96.
- Marina T, Marija C, Ida R 2014. Functional Foods and the Young. *Journal of Food Products Marketing* 205: 441-451. DOI: 10.1080/10454446.2013.838535
- Markosyan A, Wahl TI, McCluskey JJ 2007. Functional Foods in the Marketplace: Willingness to Pay for Apples Enriched with Antioxidants. Selected paper prepared for presentation at the American Agricultural Economics Association Annual Meeting Portland OR July 29-August 1 2007, USA.
- Messina F, Saba A, Turrini A, Raats M, Lumbers M 2008. Older People's Perceptions towards Conventional and Functional Yoghurts through the Repertory Grid Method. *British Food Journal* 1108: 790-804.
- Munene CN 2006. *Analyses of Consumer Attitudes and Their Willingness To Pay For Functional Foods*. Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College Master Thesis Louisiana State University.
- Naylor RW, Droms CM, Haws KL 2009. Eating with a Purpose: Consumer Response to Functional Food Health Claims in Conflicting Versus Complementary Information Environments. *Journal of Public Policy and Marketing* 282: 221-233. <https://doi.org/10.1509/jppm.28.2.221>
- Niva M 2007. All foods affect health: Understandings of Functional Foods and Healthy Eating among Health-oriented Finns. *Appetite* 483:384–393.
- Schnettler B, Miranda H, Lobos G, Sepulveda J, Orellana L, Mora M, Grynert K 2015. Willingness to Purchase Functional Food According to Their Benefits. *British Food Journal* 117: 1453-1473.
- Özçiçek Dölekoğlu C, Şahin A, Giray FH 2015. Factor Influencing the Consumption of Functional Food in Women: A Study in the Mediterranean Region. *Journal of Agricultural Sciences* 21: 572-584.
- Pappalardo G, Lusk JL 2016. The Role of Beliefs in Purchasing Process of Functional Foods. *Food Quality and Preference* 53: 151–158.
- Pasquale JD, Adinolfi F, Capitanio F 2011. Analysis of Consumer Attitudes and Consumers' Willingness to Pay for Functional Foods, *Int. J. Food System Dynamics* 2(2): 181-193.
- Schnettler B, Miranda H, Lobos G, Sepulveda J, Orellana L Mora M 2016. Willingness to Purchase Functional Foods According to Their Benefits: Consumer Profiles in Southern Chile. *British Food Journal* 1175: 1453-1473.
- Siegrist M, Shi J, Giusto A, Hartmann C 2015. Worlds Apart. Consumer Acceptance of Functional Foods and Beverages in Germany and China. *Appetite* 92: 87-93.
- Siro I, Kapolna E, Kapolna B, Lugasi A 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance review. *Appetite* 513: 456-467.
- Urala N 2005. *Functional Foods in Finland: Consumers' Views, Attitudes and Willingness to Use*. VTT Publications Espoo p. 581.
- Verbeke W 2005. Consumer Acceptance of Functional Foods: Socio-demographic, Cognitive and Attitudinal Determinants. *Food Quality and Preference* 16: 45-57.
- Zielinska EB, Zychowicz MJ 2017. Conceptual Model of Consumer's Willingness to Eat Functional Foods. *Rocz Panstw Zakl Hig* 681: 33-41.



## Member Satisfaction with the Organic Hazelnut Agricultural Producer Union in the Samsun Province, Turkey

Bakiye KILIÇ TOPUZ<sup>1</sup>, Mehmet BOZOĞLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Iğdir University, Agricultural Faculty, Department of Agricultural Economics, Iğdir, Turkey, <sup>2</sup>Ondokuz Mayıs University, Agricultural Faculty, Department of Agricultural Economics, Samsun, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-3607-4306>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-8333-1865>

✉: bakiyekilic@hotmail.com

### ABSTRACT

The objective of this study was to examine the level of member satisfaction and its influencing factors in the Organic Hazelnut Agricultural Producer Union (OHAPU) of the Samsun Province. The data of this study was collected through surveys from 92 members in the Samsun Province using the Simple Random Sampling Method. The factors affecting the levels of the members' satisfaction were analyzed by the Ordered Probit Model. The research results showed that while 52% of the members were highly satisfied with the union, 30% and 18% of the members were satisfied at moderate and low levels, respectively. The empirical model results showed also that while the variables of the education level of the member, marketing hazelnut through the unions, participation in education, the member's commitment to the union and the trust level of the member in other members had statistically positive effects on the satisfaction level of the members towards the union, the variables of gender and frequency of visits to the union had statistically negative effects. Therefore, the union's taking a more active role in marketing of the hazelnut of the members, increasing the participation of the members to training programs, encouraging more women to become a member of the union, increasing the members' trust in and commitment to their unions could increase the members' satisfaction to their union.

### Research Article

### Article History

Received: 13.06.2020

Accepted: 03.12.2020

### Keywords

Organic hazelnut  
Agricultural producer union  
Member satisfaction  
Ordered probit model  
Turkey

## Samsun İli Organik Fındık Tarımsal Üretici Birliklerinde Üye Memnuniyeti

### ÖZET

Araştırmanın amacı Samsun İli Organik Fındık Tarımsal Üretici Birlikleri (OFTÜB)'nde üye memnuniyetini ve etkili faktörleri belirlemektir. Araştırmanın verileri Samsun ilinde Basit Tesadüfi Örneklem Yöntemine göre belirlenen 92 üyeden anket yoluyla elde edilen verilerden oluşmaktadır. Üyelerin memnuniyetine etkili faktörler ise Sıralı Probit Modeli kullanılarak analiz edilmiştir. Araştırma sonuçları üyelerin %52'sinin birlikten çok memnun olduğunu, %30'unun orta ve %18'inin ise düşük seviyede memnun olduğunu göstermektedir. Model sonuçları üye memnuniyetine üyenin eğitim seviyesi, birlik aracılığıyla fındığı pazarlama, eğitimlere katılma, üyenin birliğe bağlılığı ve üyenin diğer üyelere güven düzeyi değişkenlerinin pozitif yönlü, cinsiyet ve birliği ziyaret etme değişkenlerinin ise negatif yönlü etkilediğini göstermektedir. Bu nedenle, üyelerin memnuniyetini artırabilmek için birliklerin fındığın pazarlanmasında daha fazla aktif rol alması, üyelerin eğitim programlarına katılımlarının artırılması, daha fazla kadının birliğe üyeliklerinin teşvik edilmesi, üyelerin birliklerine güven ve bağlılıklarının artırılması gerekli görülmektedir.

### Araştırma Makalesi

### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 13.06.2020

Kabul Tarihi : 03.12.2020

### Anahtar Kelimeler

Organik fındık  
Tarımsal üretici birliği  
Üye memnuniyeti  
Sıralı probit modeli  
Türkiye

## INTRODUCTION

The Strategic Plan of the Ministry of Agriculture and Forestry (MoAF) for the period of 2013-2017 emphasized that providing effective cooperation in the agricultural sector would increase farmers' life standards in the rural area and contribute to rural development goals in Turkey. It has also been reported that the establishment of producer organizations should be supported in order to strengthen and develop the roles of producer organizations in agricultural markets (Anonymous, 2017a). In 2018, 864 thousand tons of hazelnut was produced in 966 thousand hectares of land in the world. Turkey had 75.3% of the world hazelnut plantations and accounted for 59.6% of the world hazelnut production, and 64.5% of world hazelnut exports (Anonymous, 2020a). In 2018 Turkey produced, 515 thousand tons of hazelnut by 502 thousand farms in 36 Provinces (Turkish Statistical Institute (Anonymous, 2020b). However, about 4 million people were directly or indirectly employed in hazelnut production (Anonymous, 2014). In the Samsun Province, 66 thousand tons of hazelnut were produced in 1.145.240 hectares area. The share of the Samsun Province in the hazelnut production of the country was 12.8% (Anonymous, 2020b). The most important hazelnut producer districts of the Samsun Province are Çarşamba (39.6%), Terme (19.8%), Salıpazarı (14.7%), Ayvacık (7.5%), Tekkeköy (5.1%) and 19 Mayıs (4.5%), respectively (Anonymous, 2018). Organizing hazelnut producers in Turkey is an important necessity in order to solve their problems, contribute to hazelnut policies, affect the hazelnut market balance, reduce production costs and get convenient prices. Hazelnut producers in the Samsun Province have organized under the Hazelnut Agricultural Sales Cooperatives (HASC) and Hazelnut Agricultural Producer Union (HAPU). While HASCs were only established in the districts of Çarşamba and Terme, HAPUs were established in the districts of Çarşamba, Terme and 19 Mayıs (Anonymous, 2017b). According to the law no 5200, HAPUs can be voluntarily established at the district level in minimum on the basis of product or product group (Anonymous, 2004).

The sustainability of farmer organizations depends generally on their members' satisfaction and commitment to their organizations. Satisfaction expresses whether a person feels that a need or a desire is fulfilled, in this case the members' demands from the cooperative (Nilsson et al., 2009). The more members are satisfied the more they adhere to their organization. This can contribute to the sustainability of the farmer organization. Therefore, it is very important to determine the satisfaction of the members with their organizations. Literature review

showed that there had been a limited number of researches on the member's satisfaction with their agricultural organizations. There had been many studies investigating the effect of member satisfaction on the trust in cooperatives (Hansen et al., 2002; Österberg and Nilsson, 2009; Nilsson et al., 2009; Sultan and Kataria, 2012; George et al., 2013; Prasertsang et al., 2020), underlining that the increase in the members' satisfaction with their organizations could also increase the members' trust in their organization, eventually increasing the performance of the organizations. Österberg and Nilsson (2009) emphasized that there is a need for research on member satisfaction.

The aim of this study was to examine the level of member satisfaction and its influencing factors in the organic hazelnut agricultural producer union of the Samsun Province.

## MATERIALS and METHODS

The research population composed of 1.970 hazelnut producers who were members of 3 Organic Hazelnut Agricultural Producer Unions in the Samsun Province of Turkey. The sample number was calculated using the Formula 1 of the Simple Random Sampling Method (Yamane, 1967). In the formula, hazelnut land of the farms was used as the sampling criteria.

$$n = \frac{N(zC)^2}{Nd^2 + (zC)^2} \quad (1)$$

In the formula, N was the number of farms in the population, z was the value of the standard normal distribution (1.645), C was the variation coefficient, d was the error margin based on the study ( $\pm 10\%$ ) and n was the number of samples required. The error margin and confidence interval for the study were accepted as 10% and 95%, respectively. The sample size was calculated as 92 members of the unions.

The main data of this study was collected through questionnaires conducted with 92 union members of 3 OHAPUs in Samsun Province during the period of April-July 2014. Of the sample members, 66% were members of the Çarşamba Organic Hazelnut APU, 19% 19 Mayıs Organic Hazelnut APU and 15% Terme Organic Hazelnut APU. In this study, the value of Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy (KMO) was 0,903, and this indicates that the sampling size was sufficient. SPSS 17.0 and NLOGIT 5 programs were used to analyze the data of the study. The reliability of the survey was tested using the reliability analysis. The Cronbach's alpha coefficient was used to measure the consistency among the answers of the respondents. The Cronbach's alpha coefficient was calculated as 0,945, indicating that the



study was highly reliable.

Secondary data of the study were obtained from institutions such as the Ministry of Agriculture and Forestry (MoAF), Turkish Statistical Institute (TURKSTAT), Samsun Directorate of Provincial Agriculture and Forestry (SDAF) and Official Gazette of the Republic of Turkey (OGRT). Nevertheless, in the research, articles, thesis and reports etc. were used as material.

The factors influencing the levels of the members' satisfaction were analyzed using the ordered probit model. Definitions of the variables used in the model were presented in Table 1. The Variance Inflation Factor (VIF) values for the independent variables of the model were lower than 20, which indicates that there was no multi correlation among the variables.

In this study, 5 Likert rating scale questions (1: Strongly disagree to 5: Strongly agree) were used to learn the satisfaction of the member (Table 2). The members' satisfaction index was determined using the codes of answers with sixteen questions. The member satisfaction indexes were categorized in three groups according to their average score. The members who scored less than 2.5 were classified as the low satisfaction group, the members who scored from 2.5 to 3.5 were classified as the moderate satisfaction group, and the members who scored more than 3.5 were classified as the high satisfaction group. ANOVA and Kruskal Wallis tests were used to compare parametric and non-parametric variables, respectively to determine whether there was any difference among the groups.

Table 1. Descriptive statistics of the independent variables of the models  
*Çizelge 1. Modelin bağımsız değişkenlerinin tanımlayıcı istatistikleri*

Variables ( <i>Değişkenler</i> )	Definition of the variables ( <i>Değişkenlerin tanımları</i> )	VIF ( <i>VEF</i> )	Expected Effect ( <i>Beklenen etki</i> )
Union variables ( <i>Birlik değişkenleri</i> )	PERFORMC	Performance index of the union (%)	1.812 (+)
	GENASSEM	= 1 if respondent joins general assembly; 0 otherwise	2.13 (+)
	SUPPINP	= 1 if respondent is supplied inputs by the union; 0 otherwise	1.32 (+)
	MARKETNG	= 1 if respondent markets product through the union; 0 otherwise	4.54 (+)
	MANAGEXP	= 1 if respondent has an experience in the management of the union; 0 otherwise	1.42 (+)
	PARTRAIN	= 1 if respondent participates in a training at the union; 0 otherwise	2.08 (+)
	EXPORT	= 1 if the union exports hazelnut; 0 otherwise	4.26 (+)
	CAPITAL	= 1 if respondent pays membership fee to the union; 0 otherwise	1.74 (+)
	DISTANC	Distance between the farm and the union (km)	2.41 (-)
	VISITFRE	Frequency of visit to the union (times/year)	1.66 (+)
	COMMITM	Commitment index to the union	8.04 (+)
	TRUSTUNI	Trust index in the union	8.78 (+)
	TRUSTEB	Trust index in the union executive board	5.71 (+)
	TRUSTOTM	Trust index in other union members	1.82 (+)
Farm variables ( <i>İşletme değişkenleri</i> )	HSIZE	Household size (person)	1.78 (+)
	NMEMBOR	Number of memberships of other agricultural organizations	2.00 (-)
	INSURANC	= 1 if respondent insures hazelnut; 0 otherwise	1.82 (+)
	INCOME	Total income of the member (\$/year)	1.69 (+)
	AGRLAND	Property land (da)	1.71 (+)
	NCATTLE	Number of NCATTLE unit	1.68 (+)
Members variables ( <i>Üye değişkenleri</i> )	MARSTAT	= 1 if respondent is married; 0 otherwise	1.31 (-)
	SOCSECUR	= 1 if respondent has social security; 0 otherwise	1.37 (+)
	MAINPROF	= 1 if the main profession is farming; 0 otherwise	1.77 (+)
	EDUCAT	Education level of the member (year)	2.64 (+)
	EXPERIEN	Agricultural experience of the member (year)	3.18 (-)
	GENDER	= 1 if respondent is male; 0 female	1.83 (+)
	AGE	Age of the member (year)	3.83 (-)

Table 2. Members' satisfaction with the OHAPU  
*Çizelge 2. OFTÜB üyelerin memnuniyeti*

Satisfaction to the union ( <i>Birlikten memnuniyet</i> )	Low Satisfaction ( <i>Düşük Memnuniyet</i> )	Moderate Satisfaction ( <i>Orta Memnuniyet</i> )	High Satisfaction ( <i>Yüksek Memnuniyet</i> )	General ( <i>Genel</i> )
1. Both the union and I benefitted from relationships.***	3.57	3.59	3.62	3.60
2. Most people and I were satisfied from their interaction with the union.***	3.59	3.62	3.65	3.65
3. I was generally satisfied with the relationships among the members of the union.***	3.56	3.58	3.62	3.60
4. Most members like to be interested in their union.***	3.53	3.58	3.58	3.59
5. The union failed to meet their members' needs.***	3.74	3.75	3.80	3.78
6. I think that the members were important for the unions.**	3.94	3.93	3.96	3.96
7. I believed that no value was created between the members and the union.***	3.87	3.93	3.93	3.93
8. My revenue was increased by being a member of the union.***	2.59	2.67	2.69	2.68
9. My farm costs decreased thanks to being a member of the union.***	2.52	2.59	2.52	2.53
10. I agreed that I could negotiate all things with the union.***	3.63	3.65	3.66	3.65
11. There was a continuous improvement in the services given by the union.***	3.66	3.69	3.70	3.70
12. My membership to the union increased my farm profit.***	2.66	2.72	2.76	2.75
13. I was generally satisfied to be a member of the union.***	3.49	3.52	3.54	3.53
14. The union fully met my expectations.***	2.59	2.61	2.66	2.64
15. The union met all things whatever I hope.***	2.60	2.62	2.67	2.65
16. The different political views negatively affected the groups in the union.***	3.72	3.74	3.75	3.76
Mean ( <i>Ortalama</i> )	3.33	3.36	3.38	3.37

Notes. \*\* significance level 0.05; \*\*\* significance level 0.01.

The ordered model, for which the dependent variable was coded 0 as low, 1 as moderate, and 2 as high each for satisfaction, is expressed as

$$y_i^* = \beta'x_i + \varepsilon_i, \quad \varepsilon_i \sim F(\varepsilon_i | \theta), \quad E(\varepsilon_i | x_i) = 0, \quad \text{and} \quad \text{Var}(\varepsilon_i | x_i) = 1 \quad (2)$$

where  $y^*$  is the unobserved "latent" dependent variable,  $\beta$  is a vector of coefficients to be estimated,  $x$  is a vector of explanatory variables,  $\varepsilon$  a vector of error terms and  $F$  stands for any distribution that a researcher might consider.

$$\begin{aligned} \text{Prob}[y_i = 0] &= \Phi(-\beta'x_i) \\ \text{Prob}[y_i = 1] &= \Phi(\mu_1 - \beta'x_i) - \Phi(-\beta'x_i) \\ \text{Prob}[y_i = 2] &= \Phi(\mu_2 - \beta'x_i) - \Phi(\mu_1 - \beta'x_i) \end{aligned} \quad (3)$$

where  $\Phi$  is the normal cumulative density function,  $\mu_j$  and  $\mu_{j+1}$  represent the upper and lower threshold values for category  $j$ , respectively. Note that  $\mu_{-1} = -\infty$  and  $\mu_0 = 0$ .

The log likelihood function is:

$$\begin{aligned} \log L &= \sum_{i=1}^N \sum_{j=0}^2 y_{ij} \log(\Phi(\mu_j - \beta'x_i) - \Phi(\mu_{j-1} - \beta'x_i)) \\ &= \sum_{y_i=0} \log(\Phi(-\beta'x_i)) + \sum_{y_i=1} \log(\Phi(\mu_1 - \beta'x_i) - \Phi(-\beta'x_i)) + \\ &\quad \sum_{y_i=2} \log(\Phi(\mu_2 - \beta'x_i) - \Phi(\mu_1 - \beta'x_i)) \end{aligned} \quad (4)$$

Marginal effects were calculated to determine a unitary effect of each exogenous variable on each of the three categories of the dependent variable. The marginal effect of a continuous variable for the ordered probit model for three categories can be calculated as (Liao, 1994; Chen et al., 2002)

$$\begin{aligned} \frac{\partial \text{Prob}(y_i = 0)}{\partial x_k} &= -\phi(\beta'x_i) \hat{\beta}_k, \\ \frac{\partial \text{Prob}(y_i = 1)}{\partial x_k} &= [\phi(-\beta'x_i) - \phi(\hat{\mu}_1 - \beta'x_i)] \hat{\beta}_k, \\ \frac{\partial \text{Prob}(y_i = 2)}{\partial x_k} &= [\phi(\hat{\mu}_1 - \beta'x_i)] \hat{\beta}_k \end{aligned} \quad (5)$$

where  $\phi$  is the normal probability density function. Marginal effects for a dummy variable, on the other hand, can be calculated as the difference between  $\Phi$  of the corresponding probability with and without the presence of the variable in question. For example,

$$\frac{\partial \text{Prob}(y_i = 0)}{\partial x_m} = \Phi(-\beta'x_i |_{x_m=1}) - \Phi(-\beta'x_i |_{x_m=0}) \quad (6)$$

The standard errors of these marginal effects can be obtained by utilizing the delta method.

## RESULTS and DISCUSSION

Sixteen questions were used in determining the

satisfaction of the members (Table 2). There were statistically significant differences among the satisfaction groups for each one of the 16 questions ( $p < 0.05$ ). Statistically significant differences were found among the satisfaction groups ( $p < 0.05$ ). The members were the most satisfied with "*I think that the members were important for the unions (3.96)*", but they were the least satisfied with "*My farm costs decreased thanks to being a member of the union (2.53)*".

The research results showed that 52% of the members had high satisfaction with the union, 30% and 18% had moderate and low satisfaction levels, respectively. Newbery et al. (2013), in United Kingdom, found that 57.8% of the union members were very satisfied or satisfied, 26.5% of members were neither satisfied nor dissatisfied and 11.4% of the members had very dissatisfied or dissatisfied. However, Österberg and Nilsson (2009), in Sweden, found that while 12% of the members had high satisfaction levels with their agricultural cooperatives, 33.6% of the members had low satisfaction levels and 53.5% of the members were dissatisfied.

Ninety-eight percent of the members were male, and the average age of the members was 57. The average educational level of the members was primary school. Ninety percent of the members were farmers and they had an average farming experience of 33 years. There were statistically significant differences among the groups in terms of the main profession ( $p < 0.10$ ). The farms had an average of 28 decares of land, and their annual average total income was \$ 13 thousand. As the satisfaction of the members increased, their incomes also increased. Fulton and Giannakas (2001) also emphasized that the member satisfaction increased profitability in agricultural organizations. However, Österberg and Nilsson (2009) stated that an increase in income of farms led to an increase in the commitment to and satisfaction in the cooperatives.

The farmers were members of two farmers' organizations, and 94% of the members paid membership fees to their unions. While none of the members, who had low and moderate satisfaction, were supplied input by their union, only 2% of the members who had high satisfaction were supplied input by their union. However, the rate of those who sell their hazelnuts through the unions was 54%. This rate was 71% for the members with high satisfaction. There were statistically significant differences among the groups in terms of marketing hazelnuts through the union ( $p < 0.01$ ). Kilic Topuz and Bozoğlu (2015) found that 53% of the members of agricultural development cooperatives were supplied agricultural inputs by their cooperatives. The participation rate of the members in the general assembly of the union was 71%, and as that participation rate increased, so did the satisfaction of the members with the union. There were statistically significant differences among the

groups in terms of participation in the general assembly ( $p < 0.01$ ). The participation rate of the members in the training programs of the union was 42%, and as this rate increased, the satisfaction of the members with the union increased as well. There were statistically significant differences among the groups in terms of participation in the training program of the union ( $p < 0.01$ ). Liang et al. (2015) found that the participation rate of the members in the training program and general assembly of the agricultural cooperatives in China were 87% and 74%, respectively. In this research, the average distance between the farm and the union was 12 km, and the members visited their union more than once a week. As the satisfaction level of the members with the union increased, their commitment to the union increased as well. There were statistically significant differences among the groups in terms of the commitment of the members ( $p < 0.01$ ). There was a positive and statistically significant relationship among the groups in terms of the trust level of the members in the union, the union executive board and other union members ( $p < 0.01$ ). As the satisfaction of the members increased, their trust in OHAPU, the union executive board and other members increased (Table 3). Hansen et al. (2002) stressed that as the member satisfaction increased, the member trust in their organization and organization performance increased. Prasertsang et al. (2020) emphasized that trust influenced the members level of satisfaction.

The Ordered Probit Model results showed that (Table 4) while the variables of the education level of the member, marketing hazelnut through the unions, participation in training programs of the union, commitment to the union and trust level in other members had statistically significant positive effects on the satisfaction level of the members towards the union. However, the variables of gender and visiting frequency to the union had statistically significant negative effects. Österberg and Nilsson (2009) found that the members' satisfaction with the agricultural cooperatives was affected by the variables of profitability, age, experience, commitment and trust towards the directors.

Members who participated in training programs of the union, marketed hazelnut through the union and had higher education levels were more satisfied. In addition, as the commitment to the union and trust level in other members increased, the satisfaction level of the members also increased. There is a statistically significant negative relationship between the gender and satisfaction of the members. The satisfaction level of female members was considerably higher than the male members.

Österberg and Nilsson (2009) conducted a research with Swedish agricultural cooperatives and found that the members who were satisfied with the profitability of the cooperatives had the highest degree of

commitment, but they had the lowest confidence in cooperative management. Nevertheless, Nilsson et al (2009), in Swedish agricultural cooperatives, found that there was a positive relationship between satisfaction and the trust in the executive board, and the members who had low satisfaction with the cooperative had also low trust in the executive board. The research findings showed that there was a statistically significant positive relationship between

the satisfaction level of the members and the member's commitment to the union and the trust level of the member in other members. Some studies revealed also that increases in member satisfaction with the organization increased the trust in the organization and organizational performances (Hansen et al., 2002; Österberg and Nilsson, 2009; Sultan and Kataria, 2012; George et al., 2013; Kilic Topuz and Bozoğlu, 2015).

Table 3. Descriptive statistics of the variables used in the satisfaction models

Çizelge 3. Memnuniyet modelinde kullanılan değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri

Variables ( <i>Değişkenler</i> )	Low Satisfaction ( <i>Düşük Memnuniyet</i> ) (N=17)		Moderate Satisfaction ( <i>Orta Memnuniyet</i> ) (N=27)		High Satisfaction ( <i>Yüksek Memnuniyet</i> ) (N=48)		General ( <i>Genel</i> ) (N=92)		
	Mean ( <i>Ort.</i> )	Std. Dev. ( <i>Std. Sp</i> )	Mean ( <i>Ort.</i> )	Std. Dev. ( <i>Std. Sp</i> )	Mean ( <i>Ort.</i> )	Std. Dev. ( <i>Std. Sp</i> )	Mean ( <i>Ort.</i> )	Std. Dev. ( <i>Std. Sp</i> )	
Union variables ( <i>Birlik değişkenleri</i> )	PERFORMC	48.42	7.38	49.93	8.80	50.45	9.12	49.92	8.67
	GENASSEM ***	0.41	0.51	0.67	0.48	0.85	0.36	0.71	0.45
	SUPPINP	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.14	0.010	0.10
	MARKETNG***	0.47	0.51	0.30	0.47	0.71	0.46	0.54	0.50
	MANAGEXP***	0.00	0.00	0.15	0.36	0.13	0.33	0.10	0.31
	PARTRAIN***	0.12	0.33	0.33	0.48	0.58	0.50	0.42	0.49
	EXPORT**	0.59	0.51	0.44	0.51	0.73	0.45	0.61	0.48
	CAPITAL	0.94	0.24	0.96	0.19	0.94	0.24	0.94	0.22
	DISTANC*	14.12	11.55	11.70	8.39	11.33	8.17	11.95	8.89
	VISITFRE**	25.88	87.54	55.81	112.79	107.04	136.55	77.00	125.3
	COMMITM***	2.22	0.59	3.43	0.75	4.46	0.36	3.74	1.01
	TRUSTUNI***	2.18	0.75	3.26	0.76	4.33	0.47	3.61	1.03
	TRUSTEB***	1.92	0.52	3.32	0.91	4.17	0.59	3.50	1.08
TRUSTOTM***	2.99	0.96	3.60	0.61	4.27	0.56	3.83	0.82	
Farm variables ( <i>İşletme değişkenleri</i> )	HSIZE	3.00	1.41	3.74	1.93	4.02	1.98	3.75	1.89
	NMEMBOR	1.94	0.56	2.11	0.70	2.19	0.73	2.11	0.69
	INSURANC*	0.24	0.44	0.11	0.32	0.19	0.39	0.17	0.38
	INCOME	9,788	7,974	12,608	8,616	14,725	12,608	13,222	10,889
	AGRLAND	26.00	37.72	32.33	31.72	27.88	29.43	28.83	31.47
NCATTLE	2.52	5.91	3.56	7.49	5.26	13.43	4.25	10.79	
Members variables ( <i>Üye değişkenleri</i> )	MARSTAT***	1.00	0.00	0.85	0.36	0.94	0.24	0.92	0.26
	SOCSECUR*	1.00	0.00	0.96	0.19	0.94	0.24	0.95	0.20
	MAINPROF*	0.82	0.39	0.93	0.27	0.92	0.28	0.90	0.29
	EDUCAT	4.82	2.32	6.15	2.73	6.04	2.98	5.84	2.81
	EXPERIEN	37.18	14.62	32.52	16.87	31.94	13.89	33.07	14.91
	GENDER	1.00	0.00	1.00	0.00	0.98	0.14	0.98	0.10
	AGE	58.88	12.96	57.33	14.79	56.60	12.23	57.23	13.03

Notes. \* Significance level 0.1; \*\* significance level 0.05; \*\*\* significance level 0.01.

The results of marginal effects showed that the likelihood of being included in a higher satisfaction category was 77% more for the members who were provided input by the union and 60% more for the members who marketed hazelnut via the union. Hence, it is obvious that economic factors had greater influence than social ones in increasing members' satisfaction. This research finding was also supported by Sultan and Kataria (2012)'s study conducted in the Chinese agricultural cooperatives. The members who participated in the training programs of the union

were 90% more likely to be included in the high satisfaction category than the rest. Female members were 81% more likely to enter the high satisfaction category than male ones.

## CONCLUSIONS

This research concluded that while about half of the members had high satisfaction, the remaining had moderate or low satisfaction with their union. However, it was also concluded that the variables such



as the education level of the members, marketing hazelnut through the unions, participation in training programs, member commitment to the union and trust level to other members had statistically positive effects on the satisfaction level of the members

towards the union. However, the variables of gender and visiting frequency to the union had statistically negative effects on the satisfaction level of the members.

Table 4. Ordered Probit Model estimates for the probability of members' satisfaction  
*Çizelge 4. Üyelerin memnuniyet olasılığı için Sıralı Probit Model tahminleri*

Variables ( <i>Değişkenler</i> )	Coefficients ( <i>Katsayılar</i> )	Marginal Effects (Marjinal Etkiler)			
		Low ( <i>Düşük</i> Y=0	Satisfaction ( <i>Memnuniyet</i> )	Moderate satisfaction ( <i>Orta</i> Memnuniyet) Y=1	High satisfaction ( <i>Yüksek</i> Memnuniyet) Y=2
Constant	-23.3605*	-	-	-	-
Union variables ( <i>Birlik değişkenleri</i> )	PERFORMC	-0.06336	0.93992D-06	0.01324	-0.01325
	GENASSEM	1.24677	-0.25853D-04	-0.21479	0.21482
	SUPPINP	5.21008	-0.15612D-04	-0.77369**	0.77371**
	MARKETNG	3.23059*	-0.82460D-04	-0.60954	0.60962
	MANAGEXP	0.88380	-0.95818D-05	-0.22969	0.22970
	PARTRAIN	5.45405***	-0.00015	-0.90312***	0.90327***
	EXPORT	-1.37581	0.18711D-04	0.31972	-0.31974
	CAPITAL	1.09028	-0.27612D-04	-0.15619	0.15621
	DISTANC	0.05025	-0.74536D-06	-0.01050	0.01050
	VISITFRE	-0.01511***	0.22419D-06	0.00316	-0.00316
	COMMITM	5.25992***	-0.78023D-04	-1.09943	1.09950
	TRUSTUNI	1.77364	-0.26309D-04	-0.37073	0.37075
	TRUSTEB	0.41525	-0.61596D-05	-0.08680	0.08680
	TRUSTOTM	4.28015***	-0.63490D-04	-0.89463	0.89470
Farm variables ( <i>İşletme</i> <i>değişkenleri</i> )	HSIZE	0.36554	-0.54222D-05	-0.07640	0.07641
	NMEMBOR	-0.07385	0.10954D-05	0.01544	-0.01544
	INSURANC	-0.10225	0.15688D-05	0.02084	-0.02084
	INCOME	0.02512	-0.37262D-06	-0.00525	0.00525
	AGRLAND	-0.02293	0.34018D-06	0.00479	-0.00479
	NCATTLE	-0.03049	0.45235D-06	0.00637	-0.00637
	Members variables ( <i>Üye</i> <i>değişkenleri</i> )	MARSTAT	-2.00608	0.14955D-04	0.54967
SOCSECUR		-1.70903	0.13085D-04	0.48132	-0.48133
MAINPROF		2.14879	-0.91055D-04	-0.24114	0.24123
EDUCAT		0.70372**	-0.10439D-04	-0.14709	0.14710
EXPERIEN		-0.05352	0.79390D-06	0.01119	-0.01119
GENDER		-18.3972**	0.18117D-04	0.81064***	-0.81065***
AGE		0.07481	-0.11097D-05	-0.01564	0.01564
Log-Likelihood			-15.34161		
χ <sup>2</sup>			155.38614		
McFadden R <sup>2</sup>			0.8350980		
Mu			11.6495***		
N			92		

Notes. \* Significance level 0.1; \*\* significance level 0.05; \*\*\* significance level 0.01.

Therefore, in order to increase the satisfaction of the members, the union's taking a more active role in marketing the hazelnut of the members, increasing the participation of the members to training programs, encouraging more women to become members of the union, increasing the members' trust in and commitment to their unions. Furthermore, the members should market their hazelnut through their union and female farmers should be encouraged to be members of the union. Vocational education of the members should also be increased. There was a strong positive relationship between the satisfaction level of

members and both the commitment to the union and the member' trust in the union. Therefore, the members' commitment and trust levels in their unions should be established and increased, in order to attain overall satisfaction.

#### Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

#### Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research was a part of a PhD Thesis. The work was supported by the Scientific and Technological Council of Turkey (TUBITAK-the program of 2211-C) and PYO.ZRT.1904.14.016 Scientific Research Projects (SRP) Ondokuz Mayıs University (the program of 1904). Thank you to the Agricultural Producer Union's executive board and farmers for their contributions to this study and Mr. Birol Kurt from the International Relations Office of Ondokuz Mayıs University for his English editorial contribution.

## REFERENCES

- Anonymous, 2004. Agricultural Producer Union Law No 5200, Official Gazette No 25514 Date of 06.07.2004. Retrieved in May, 10, 2020. from <http://www.resmigazete.gov.tr/main.aspx?home=ht tp://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2004/07/200407 06.htm&main=http://www.resmigazete.gov.tr/eskil er/2004/07/20040706.htm>
- Anonymous, 2014. United States Department of Agriculture, Turkey Tree Nuts Annual Report 2014. Gain Report Number: TR4037. Retrieved in December, 1, 2020 from [http://agriexchange.apeda.gov.in/MarketReport/Reports/Tree\\_Nuts\\_Annual\\_Ankara\\_Turkey\\_10-16-2014.pdf](http://agriexchange.apeda.gov.in/MarketReport/Reports/Tree_Nuts_Annual_Ankara_Turkey_10-16-2014.pdf)
- Anonymous, 2017a. 2013-2017 Strategic Plan of Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Forestry. Retrieved in May, 4, 2020 from <http://www.tarim.gov.tr/Sayfalar/Icerikler.aspx?rid =242&NodeValue=242&KonuId=189&zGroup=0& ListName=Icerikler>
- Anonymous, 2017b. Samsun Directorate of Provincial Agriculture and Forestry. Retrieved in January, 4, 2017 from <http://samsun.tarimorman.gov.tr/>
- Anonymous, 2018. Turkish Statistical Institute, Crop Production Statistics, Production Statistics by District. Retrieved in June, 8, 2020 from <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr>
- Anonymous, 2020a. Food and Agriculture Organization. Retrieved in July, 10, 2020 from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/TP>
- Anonymous, 2020b. Turkish Statistical Institute, Crop Production Statistics. Retrieved in June, 10, 2020 from <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>
- Chen K, Ali M, Veeman M, Unterschultz J, Le T 2002. Relative Importance Rankings for Pork Attributes by Asian Origin Consumers in California: Applying an Ordered Probit Model to a Choice-Based Sample. *J. Agric. Appl. Econ.* 34(1): 67-79.
- Fulton M, Giannakas K 2001. Organizational Commitment in Mixed Oligopoly: Agricultural Cooperatives and Investor-Owned Firms. *American Journal of Agricultural Economics* 83(5): 1258-1265.
- George J, George R, Kulandaiswamy V 2013. Member Trust's Impact on Member Satisfaction and Organizational Performance: Development of A Conceptual Model, *Life Science Journal* 10(2): 604-609.
- Hansen M, Morrow J L, Batista JC 2002. The Impact of Trust on Cooperative Membership Retention, Performance and Satisfaction: An Exploratory Study. *The International Food and Agribusiness Management Review* 5(1): 41-59.
- Kilic Topuz B, Bozoğlu M 2015. Samsun İlindeki Tarımsal Kalkınma Kooperatiflerinde Ortak-Kooperatif İlişkilerinin Analizi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi* 30(3): 246-253.
- Liang Q, Huang Z, Lu H, Wang X 2015. Social Capital, Member Participation, and Cooperative Performance: Evidence from China's Zhejiang. *The International Food and Agribusiness Management Review* 18(1): 49-78.
- Liao T F 1994. *Interpreting Probability Models: Logit, Probit, and Other Generalized Linear Models.* Sage, Thousand Oaks, CA.
- Newbery R, Sauer J, Gorton M, Phillipson J, Atterton J 2013. Determinants of the Performance of Business Associations in Rural Settlements in The United Kingdom: An Analysis of Members' Satisfaction and Willingness to Pay For Association Survival. *Environment and Planning* 45: 967-985.
- Nilsson J, Kihlen A, Norell L 2009. Are Traditional Cooperatives an Endangered Species? About Shrinking Satisfaction, Involvement and Trust. *International Food and Agribusiness Management Review* 12(4): 101-122.
- Österberg P, Nilsson J 2009. Members' Perception of Their Participation in The Governance of Cooperatives: The Key to Trust and Commitment in Agricultural Cooperatives. *Agribusiness* 25(2): 181-197.
- Prasertsang P, Routrary JK, Ahmad MM 2020. Factors Influencing Farmers' Satisfaction with the Activities of Horticultural Cooperatives in Thailand, *Int. J. Value Chain Management* 11(1): 42-62.
- Sultan T, Kataria K 2012. Trust As Mediating Factors in Chinese Farmers Satisfaction of Joining Cooperatives—Application of PLS Modeling, IFAMA Conference, [https://www.ifama.org/events/conferences/2012/548\\_Paper.pdf](https://www.ifama.org/events/conferences/2012/548_Paper.pdf).
- Yamane T 1967. *Elementary Sampling Theory*, 1th edn Prentice Hall Inc., Englewoods Cliffs, New Jersey, 405 p.

## Impacts of Corruption to Agricultural Export Potential of the Gambia Competitive Neighbours

Gokhan UZEL<sup>1</sup>, Assan NDIMBALLAN<sup>2</sup>, Serkan GURLUK<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bursa Uludag University, Faculty of Agriculture, Agricultural Economics Department, <sup>2</sup>Bursa Uludag University, Faculty of Agriculture, Agricultural Economics Department, <sup>3</sup>Bursa Uludag University, Faculty of Agriculture, Agricultural Economics Department, Bursa-Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-9939-2523>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-7322-8570>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-3159-1769>

✉: uzeltokhan@uludag.edu.tr

### ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the mutual interaction between corruption and agricultural export variations with using corruption perception index, exchange rate and gross domestic product affect. Study, centers the Gambia country, but her neighbour and competitive countries in order to make comparisons. Study constructs a multinomial logit model to analyze the determinants of agricultural export variations and depends on panel data belongs to six Sub-Saharan African countries. Study shows that, the corruption perception index had a probability on agricultural export. Value of corruption perception index in the previous year was likely to contribute to the current agricultural export of Sub-Saharan Africa countries. Increases at Gross Domestic Product provide benefits to agricultural export in parallel with corruption perception index. Policy makers, trade sector, business and civil society movements and governmental approaches have significance on preventing corruption climate atmosphere. To the best of authors knowledge, this study constitutes the first attempt to build a theoretical framework to explore how the interactions between determinants of agricultural export variations and corruption influence.

### Research Article

#### Article History

Received : 24.07.2020

Accepted : 09.11.2020

#### Keywords

Corruption  
Agricultural export  
Multinomial logit model  
Africa  
Gambia

## Yozlaşmanın Gambia ve Rekabetçi Komşu Ülkeleri Arasındaki Tarımsal İhracat Potansiyeline Etkisi

### ÖZET

Bu çalışmanın amacı, yozlaşma yüzdesi indeksi, döviz kuru ve Gayri Safi Milli Hasıla parametrelerini kullanarak yozlaşma ve tarımsal ihracat değişkenleri arasındaki karşılıklı etkileşimleri araştırmaktır. Çalışma, Gambiya ülkesini odağa almakta ancak karşılaştırma yapabilmek amacıyla rekabet halinde olunan komşu ülkeleri de ele almaktadır. Çalışma, altı Sahraaltı Afrika ülkesini, panel data değerlerine dayanarak, tarımsal ihracat değişkenlerinin belirleyicilerini analiz etmek amacıyla multi-nominal logit model kurmaktadır. Sonuçlar, yozlaşma değer indeksinin tarımsal ihracat üzerinde belirli oranlarda etkisi olduğunu göstermektedir. Önceki yıllardaki yozlaşma üretim indeks değerlerinin, Sahraaltı Afrika ülkelerinin mevcut yıldaki tarımsal ihracatını etkilediği görülmektedir. GSMH'deki artışlar, yozlaşma oranı indeksine paralel olarak tarımsal ihracata fayda sağlamaktadır. Bu noktada, politika yapıcılar, ticaret sektörü, iş ve sivil toplum hareketleri ve çeşitli hükümet yaklaşımları yolsuzluk atmosferinin önlenmesinde önem taşımaktadır. Bu kapsamda çalışma, tarımsal ihracat ve yozlaşma etkileşiminin nasıl olduğunu keşfetme ve teorik bir çerçeve oluşturma noktasında ilk örneği oluşturmaktadır.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 24.07.2020

Kabul Tarihi : 09.11.2020

#### Anahtar Kelimeler

Yozlaşma  
Tarımsal ihracat  
Multinomial logit model  
Afrika  
Gambiya

**To Cite** : Uzel G, Ndimballan A, Gürlük S 2021. Impacts of Corruption to Agricultural Export Potential of the Gambia Competitive Neighbours. KSU J. Agric Nat 24 (4): 886-894. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.773249.

### INTRODUCTION

The countries located in Sub-Saharan Africa have pursued other developing regions of the world in the

growth for the last 50 years. The region is one of the poorest regions in the world and remained poorer as the rest of the world develop faster. A dramatical description of Sub-Saharan Africa's historical situation

in a report of International Monetary Fund (2000) as follows: "...the economic and social situation in sub-Saharan Africa remains fragile and vulnerable to domestic and external shocks, and the region has a long way to go to make up for the ground lost over the past two decades. Despite some upturn in economic growth rates, poverty is still widespread and in many parts of the continent extremely acute. Investment remains subdued, limiting efforts to diversify economic structures and boost growth. Furthermore, a number of countries have only recently emerged from civil wars that have severely set back their development efforts while, sadly, new armed conflicts have erupted in other parts of the continent. These conflicts and other adverse factors, notably poor weather conditions and a deterioration in terms of trade, have led to some loss in economic momentum in the region over the past two years".

The phrases that was put forwarded in the above paragraph are including delicacy, poverty, weather conditions and weak economic growth. If we take historical economic aspects as a guide for what is possible in the future growth condition, we can infer that global inequality will remain high for a long time. In order to understand clearly, it should be known of how long would it take for those with per capita incomes at the poorest 10%, having 480 USD/year, boundary to achieve the per capita incomes of the richest 10% boundary, having 14500 USD/year. The richest 10% boundary level is generally the level of GDP per capita above which the poverty headcount gets close to 0% for most countries. Unfortunately, the answer is not at all desirable. Even under a very optimistic scenario, it will take several decades for the less developed countries such as sub-Saharan African countries to reach the income level of the global top 10%. If those countries grow 2%, the answer is 172.1 years while they grow 6% it is 58.5 years. However, we have not observed growth rates of more than 6% that will enable reaching the level of intended per capita income levels for a long time in the region (Anonymous, 2019). When anthropological factors such as domestic conflicts and corruption added to all of these, a more pessimistic picture emerges. Then there is no other way to return to the beginning of agricultural development. This fundamental field of a usual economy, unfortunately, is not able to adequately support the subsequent sectors and of course larger economic growth path in sub-Saharan African economies. Even though agriculture has substantially contributed to the GDP and export value in African countries, the continents share in the global markets, and the annual growth rates have diminished and stagnated over the years. Global agricultural exports by region showed that Europe (40.8%) sustained the highest share in the world, followed by Asia (22.4%) and North America (15.7%) and South and Central

America (12%). Yet, Africa, which has heavily depended on agriculture for food, economic growth, and development, merely accounted for 3.6 of total global food exports in 2014 (Verter, 2017).

All of these can be explained by low trade liberalization. Indeed, there is a known phenomenon that trade liberalization and integration to foreign markets play an important role in economic development. Although sub-Saharan Africa countries have generally explored a liberalization route over the past two decades, their economic performance has been disappointing as stated above. Indeed, trade liberalization has been a key part of the policy prescriptions often made by international financial institutions to support economic development. Yet, it is almost impossible to achieve intended conclusions with more than 80 per cent of the world's population lives in over 100 developing countries that produce less than 20 per cent of the world's products and services (Desta and Hirsch, 2012).

As can be seen, domestic and external factors put the Africa economies on the bottleneck. Resolving external factors is not a matter of an individual country alone. However, each country may progress in domestic factors such as domestic conflicts and corruption in order to reach a particular level of development. Current study considers the corruption effects of this domestic factors on agricultural exports in the selected sub-Saharan countries, competitive ones, by featuring the Gambia.

The corruption is stated as the abuse of entrusted power for private gain, and the existence of the corruption depends of three elements, which are benefits, abuse of power and private-public sector. The corruption is mostly linked with organizational structure of a state in terms of economic and managerial. It is seen as basic impediments to the governmental efficiency. Indeed, private sector or governments can be conceived to a symptom that something has gone wrong in the management of the state. Advices on sound policies, well-designed incentives and efforts may not reach the desired results when the corruption starts and grows. Finally, economic inefficiency hit the subsistence people living in an actually poor country. Corruption draws attention many policy-makers and scientific researchers across the world, that has been explained by an index since 1995. The Corruption Perception Index (CPI) is an index published annually by Transparency International which ranks countries by their perceived levels of public sector corruption as determined by expert assessments and opinion surveys.

There are more than twenty reasons of the corruption, and its reasons and effects are investigated by several authors in the literature. Freedom in press, theoretically, provides anticorruption norms and



expose the corrupt behavior (Treisman, 2000; Bhattacharyya and Hodler, 2015). Freedom of the press is more of an issue affecting the general economy, such as economic growth, investment and foreign direct investment, FDI, (Zakharov, 2019). Therefore, in specific studies, such as trade-corruption relationship, statistical significance may be lower.

Excessive bureaucracy, insufficient efforts on trade simplification and weak political management are elements of corruption. Existence of those elements may give a kind of monopoly power to the officials (Kaufman and Wei, 1999). An African study stated some limits to the FDI in post-colonial Africa (Mlambo et al., 2019). Liberal economic policies giving chance how to produce, sell and use your own production lead to face lower-level corruption in a usual country. Indeed, investigators found an evidence with a negative association between more liberal economic policies and corruption levels (Paldam, 2002; Saha et al., 2009; Musila, 2019). Economic growth is one another topic on the corruption researches. Some authors suggest that corruption slows down growth because investors hesitate to embark new economic actions (Pellegrini and Gerlagh 2008; Cieslik and Goczek, 2018). Some authors also suggest that growth hampers the corruption due to strong government institutions and their efficiency (Pose and Zhang, 2019). Dincer, (2008) studied on ethnicity and corruption relationship and observed that larger ethnic groups in a country may increase the corruption due to group favoritism. The resources and opportunities are favorably allocated to group members (Seim and Robinson, 2019). Women employment contributes business world in terms of productivity, patience, saving and acumen behaviors. It is expected that women will be less prone to corruption behavior (Glover et al., 1997). Globalization and size of the country usually shows correlation. A larger country integrates more into the world to meet its needs. Foreign capital inflow may bring to a certain extent structural activity and higher norms (Sandholtz and Koetzle, 2000; Cai et al., 2018). Baklouti and Baujelbene (2016) support this phenomenon indeed. They examined country size-corruption relationships and found that government size can lead to a decrease in corruption if the democracy level is sufficiently high and, in contrast, can lead to an increase in corruption if it is too low. Decentralized government structure draws attention to corruption researchers. It is briefly explained by dispersed decision-making process that prevents government-originated distortions. This may protect many economic agents exposed to welfare losses (Blackburn and Gonzalo, 2010; Neudorfer and Neudorfer, 2015; Efobi, 2015). The connection of governmental regime types and corruption has received research interest. It is a widespread phenomenon that there has been negative relationship

between two variables. Regular voting raises the democratic conditions and increases corruption control (Persson and Tabellini, 2000). In addition, if fair elections are experienced in a country, the officials who are capable of performing governmental services and live away from corruption are likely to remain in their critical positions (Nur-teging and Czap, 2012). Historical factors such as colonization, religion, legal systems, and political stability are also investigations by several authors. Treisman (2000) states that British Colonies had lower-level corruption compared to Spanish, French and Portuguese ones. Uberti (2018) finds evidence that the corruption observed in Eastern Europe, Central Asia and the Balkans did not arise from socialist or Ottoman legacies. Excessive and uncontrolled competition makes the market intensify, and competent firms may engage in corrupt or unethical activities (Dimant and Tosato, 2017). This is associated with an increase in the level of corruption. Political competition also facilitates the businesses of certain groups and increases the tendency of corruption. In fact, public and private sector employees who finds their governmental organizations less ethical and undisturbed are prone to corruption (Gorsira et al., 2018). Corruption researchers find evidences that community structure such as poverty may trigger the corruption. Weak legal system cannot prevent corruption and they are desensitized to be more prone to accept and give bribe all socio-economic life (Apergis et al., 2010). Yet, it is stated that such tendencies may arise as a result of the injustice of income and the interaction of poverty (Peiffer and Rose 2016). Urbanization have communities lose the social control of family and religion and therefore it provides the necessary conditions for corruption. (Holbook and Meier, 1992). However, there are also opposite approaches. It has been suggested that stigmatization could be observed in urban society where urbanization and corrupt applications can be detected more easily (Goel and Nelson, 2010).

As can be seen in the literature review, although there are many reasons for corruption, there is no consensus above the reasons yet. Even if there is a general evidence that corruption reasons depend on related region, these reasons may affect each other by influencing one another. In other words, one reason for corruption may be the result and cause of another corruption reason. The Gambia, which was the subject of this study, is an agricultural country under the influence of domestic factors such as corruption. However, income from agriculture is low. Moreover, the effective distribution of these revenues is one of the problems that the Gambia has to solve as many domestic problems.

Unlike the current literature, we assume a statistical probability that all these corruption's causes will gather and affect the agricultural trade system of the

subsequent year. We employed the CPI, exchange rate, very useful to explain the export, and Gross Domestic Products (GDP). Variations at agricultural export is explained by a probability involving multiple choices, and it is stated with multinomial logit model (MNL). Current study using a MNL model to analyze the determinants of agricultural export variations are different from former econometric techniques that prefer Ordinary Least Squared (OLS) regression.

## **SOCIO-ECONOMIC BACKGROUND OF THE GAMBIA**

The Gambia is located west sub-Saharan Africa and surrounded by Senegal. She has a narrow economic base, relying heavily on agriculture which provides employment for about 75% of the labour force and accounting for 70% of the country's foreign exchange earnings (Otaiku 2018). Performance of the sector has fluctuated, contributing on average 23 per cent of Gross Domestic Product (GDP) between the years of 2004 and 2016 and an average growth rate of 4 per cent per year. Despite its potential, agricultural production evidences low and unpredictable yields and high susceptibility to droughts and erratic climate patterns. The sector is basically rain-fed, with only 3% of the arable land estimated under irrigation. The prevalence of drought as a climatic phenomenon was very severe in 2011 to the extent that the gains in the sector were almost completely wiped-off in a single year's drought situation. However, Gambian agriculture is mainly characterized by farmers who grow food mainly for family consumption as a result leaving little for commercial purposes. This inadequate volume of production is mainly due to the retarded progress in farming methods and scattered pieces of land holdings. Most of the farm land is cultivated by small scale farmers with traditional agricultural practices.

Smallholder farmers are caught in a vicious cycle of risks, limited use of inputs, low productivity and low income. The sector is predominantly subsistence, rain fed with very little irrigation or use of improved seeds and fertilizers. In regions where population growth is rapid and rural population density is high, the size of the average household's farming system has been rapidly declining. Thus, exposing The Gambia to be considered as a country where food insecurity has become endemic owing to repeated incidence of crop failure, incidence of animal disease outbreak, rising food prices and the lack of adequate support mechanisms to victims (Gibba, 2017).

In the 2016 fiscal year, the agricultural, industrial and service sectors contributed 19 percent, 13 percent and 62 percent to real GDP of the country, respectively (GBOS, 2016). The share of the agricultural sector to the whole economy is decreasing from time to time, whereas the growth in service sectors increasing at high rate while the industrial remains constant.

Despite the agricultural sector's decreasing contribution to the overall GDP of the country, it is still the country's biggest employment provider and contributes the largest share of raw materials for local industries

The economy of the country is mainly dependent on the agricultural sector thus the export sector is also highly dependent on agricultural productivity. Since the export sector is characterized by dependence on primary commodities, the country faces different problems such as: the low volume of exportable products, the limited degree of diversification of exports, frequent economic crises and artificial trade barriers by trading partners among others.

In order to increase the contribution of the agriculture sector various measures have been taken by the government. However, agricultural exports have been largely concentrated on three agricultural products – Groundnuts, Cashew nuts and Fisheries – which are incessantly subjected to fluctuations in quantity, price and low competitiveness in the international market. Countries competing with Gambia in agricultural exports are Senegal, Ghana, Nigeria, Tanzania and Guinea.

## **MATERIAL and METHOD**

If the corruption is closely linked to the organizational structure of a country, we should also be suspicious of the fact that it may affect export facilitates. Traditionally, the determinants of a country's export potential are evident, and those are can be listed as exchange rate, change in economic growth, historical experience of the country, openness of the trade and geography of the country. In addition to all of these, corruption can be an important factor that is justified as in the previous sections. In fact, the organization of economic activities is also implicitly located in the CPI. In agricultural related export, natural conditions may become determiner of a country's Agri-export performance. This foresight varies according to geographical location in the countries where similar crops are cultivated. Yet, climatic conditions are resemble for many countries located at Sub-Saharan Africa Region. For this reason, exchange rate, CPI and economic growth which are the closest variables to the possibility of being an important determinant of agricultural exports were taken into consideration in this study.

As we may understand from the existing literature, different authors find different results on the same reason that explains the corruption. In fact, vast majority of abovementioned 'corruption reason set' having more than 20 reasons is linked with economic growth. As known, agricultural growth and export are main drivers of economic growth in the countries where there is no alternative other than agriculture. Obviously, one or more reasons feature that may raise

or decrease the impacts of one another reason. In other words, the variations on the agricultural exports, depending tightly on weather conditions, are explained by the impacts of several probabilities. We predict that the variations at CPI, exchange rate and GDP affect subsequent year's agricultural export change. At this point, we contribute to existing corruption literature. CPI score calculation flows four basic steps: selection of source data, standardize data sources, aggregating the rescaled data and then reporting a measure for uncertainty. The CPI draws upon 13 data sources which capture the assessment of experts and business executives on a number of corrupt behaviours in the public sector, including: bribery, diversion of public funds, nepotism in the civil service and state capture. Each of this data sources using to calculate the CPI. Then this data sources is standardized to allow for the aggregation into the CPI score. The standardisation converts all the data points to a scale of 0- 100 where a 0 represents the highest level of perceived corruption, and 100 the lowest level of perceived corruption. After this, each country's CPI score is calculating as a simple average of all the available rescaled scores for that country. At the end, the CPI score is reporting alongside a standard error and 90 per cent confidence interval which reflects the variance in the value of the source data that comprises the CPI score (Transparency International, 2019).

Current study centers the Gambia country, but her neighbor and competitive countries, abovementioned, are also examined in order to make comparisons.

As distinct from general logistic regression modelling framework, several other modelling frameworks can be used to the model relationship between categorically dependent variable and a number of independent variables (Motsoari et al., 2015). In this study, variations at agricultural export is explained by a probability involving multiple choices, and it is stated

$$p_{i1} = 1 / (1 + \exp(\beta_{12} + \beta_{22} x_i) + \exp(\beta_{13} + \beta_{23} x_i)), j = 1 \quad (2)$$

$$p_{i2} = \exp(\beta_{12} + \beta_{22} x_i) / (1 + \exp(\beta_{12} + \beta_{22} x_i) + \exp(\beta_{13} + \beta_{23} x_i)), j = 2 \quad (3)$$

$$p_{i3} = \exp(\beta_{13} + \beta_{23} x_i) / (1 + \exp(\beta_{12} + \beta_{22} x_i) + \exp(\beta_{13} + \beta_{23} x_i)), j = 3 \quad (4)$$

The parameters  $\beta_{12}$  and  $\beta_{22}$  are specific to the second alternative while  $\beta_{13}$  and  $\beta_{23}$  are specific to the third alternative. The parameters specific to the first alternative are set to zero to solve an identification problem and to make the probabilities sum to one (Hill et al., 2011). Estimation of current model is by maximum likelihood.

## RESULT AND DISCUSSION

The model was solved by SPSS statistical package that is widespread at the social sciences area. Table 1 gives the estimated and having statistical significance coefficients. Country specific models have  $k-1$  dependent outcome where  $k$  is the number of levels of the outcome variable at the MNL estimation. Thus,

with MNL. Current study using a MNL model to analyze the determinants of agricultural export variations are different from former econometric techniques that prefer OLS regression.

Current study depends on panel data belongs to six sub-Saharan African countries, and the variations at agricultural exports figures is a probability having three alternatives. It may be increased, decreased or not changed, and these are explained by  $J=3$  alternative codes which are 1 if rising is observed, 0 if decline is observed and 2 if there is no change in the  $i$ -th year. Those numerical values have no meaning, and they are assigned arbitrarily. Explanatory variables are also categorical variables that are CPI, exchange rate and economic growth rate in the  $i$ -th year. We employed one-year-previous value because it may affect current export value. As in the dependent variable export value change, explanatory variables' alternatives are coded as 1 if rising is observed, 0 if decline is observed and 2 if there is no change in the  $i$ -th year.

Let  $iA$  be a random variable symbolizing the export variation value observed by any investigated country in related year. We assume that each export variation faces a set of discrete variables of the CPI, GDP rate and exchange rate. The MNL model for agricultural export variation defines the following relationship between the probability of observing option  $iA$  and the set of explanatory variables  $X$  as (Hill et al., 2011):

$$Prob(A_i = j) = \frac{e^{\beta_j x_i}}{\sum_{k=0}^j e^{\beta_k x_i}}, j = 0, 1, \dots, j \quad (1)$$

where  $\beta_j$  is a vector of coefficients on each of the independent variables  $X$ . If it is assumed that a single explanatory factor,  $x_i$ , then, in the multinomial logit specification, the probabilities of observing alternatives  $j = 1, 2, 3$  at  $i$ -th year are:

software considers the option 2 as reference group. The code 2, as mentioned before, indicates the option that there is no any change at the export variation. In other words, the parameter estimates are relative to the reference group.

The Gambia model has statistical significance on "decreased export condition" relative to "unchanged export condition". According to intercept, the intercept is the multinomial logit estimate for the decreased export condition relative to unchanged export condition when the predictor variables in the model are evaluated zero. In this case, the probability will be unchanged side due to negative sign. The cpi parameter coded 1, indicates that when the cpi value increases a unit, log-odds of the decreased export

condition relative to unchanged export condition would be expected to be 18.89 unit while holding all other variables in the model constant. However, same interpretation is made with the increased export condition relative to unchanged export condition in terms of the cpi. At this statistic, the cpi parameter coded 1, indicates that when the cpi value increases a

unit, log-odds of the increased export condition relative to unchanged export condition would be expected to be 20.13 unit while holding all other variables in the model constant. In this case, probability has greater than previous one and, we can infer from this result that the cpi has a probability on agricultural export positively.

**Table 1.** Multinomial regression model results  
 Çizelge 1.

MNL explanatory variables*		ML_Gambia			ML_Senegal			ML_Ghana		
		<i>B</i>	<i>Wald</i>	<i>Sig.</i>	<i>B</i>	<i>Wald</i>	<i>Sig.</i>	<i>B</i>	<i>Wald</i>	<i>Sig.</i>
0	intercept	-19.421	71.59	0.0						
	cpi=1	18.896	58.79	0.0				-16.98	87.54	0.0
	cpi=0							-16.79	56.31	0.0
	gdp=0	39.04	344.40	0.0	19.241	193.35	0.0			
	gdp=1	17.68	84.17	0.0						
<hr/>										
1	intercept	-19.253	341.41	0.0						
	cpi=1	20.132	164.06	0.0						
	cpi=0							-	142.29	0.0
<hr/>										
		ML_Guinea			ML_Nigeria			ML_Tanzania		
		<i>B</i>	<i>Wald</i>	<i>Sig.</i>	<i>B</i>	<i>Wald</i>	<i>Sig.</i>	<i>B</i>	<i>Wald</i>	<i>Sig.</i>
0	intercept									
	cpi=1									
	cpi=0				1.576	0.80	0.37			
	gdp=0									
	gdp=1	-1.6	0.802	0.37				1.27	0.47	0.49
<hr/>										
1	intercept									
	cpi=1				-0.92	0.47	0.49			
	cpi=0									

\*The reference category is: 2

The GDP parameter coded 1, indicates that when the GDP increases according to previous year, log-odds of the decreased export condition relative to unchanged export condition would be expected to be 17.68 while holding all other variables in the model constant. In other words, the increases at GDP provides benefits to agricultural export in the Gambia because the coefficient of GDP coded zero (39.04) is greater than that of GDP coded one.

The Senegal Model has statistical significance on the GDP coded 0. The parameter value indicates that declines at the GDP have probability on decreasing export condition relative to unchanged export condition. Then, the Gambian agricultural policy makers should consider the Senegal's GDP values while making competition because it can affect subsequent year's agricultural export rate.

The Ghana Model has statistical significance on the cpi both of coded 0 and 1. It means that the cpi of Ghana have similar probability on the increased export condition relative to unchanged export condition. The

negative sign indicates that unchanged export conditions have probability at the Ghana. Likewise, if the cpi decreases at the Ghana, this effect has probability on unchanged agricultural export conditions.

The Guinea and Tanzania models have only statistical significance on the GDP coded 1 on the probability of decreased export condition relative to unchanged export condition. In the Guinea, it is explained that unchanged agricultural export conditions occurs when the increases are observed at the GDP. Tanzania model, contrary to Guinea model, the GDP coded 1 is explained that probability of decreased agricultural export conditions occurs when the increases are observed at the GDP. In others word, GDP have positive impacts at Guinea agricultural export while Tanzania experiences inverse probability condition.

The Nigeria model have significance on the cpi values both of probability of "decreased export condition" relative to "unchanged export condition" and "increased export condition relative to unchanged



export condition". They have symmetric results that the cpi values have opposite signs. Yet, unit changes point out the zero coded cpi parameter value on the probability of decreased export condition because the coefficient of this probability have greater value than that of coded 1.

According to the results of this study which is supported by a small number of authors in the literature review, it is possible that the value of cpi in the previous year is likely to contribute, unfortunately, to the current agricultural export of sub-Saharan Africa countries as explained in (Anderson & Marcouiller, 2002). In fact, some regions and countries' corruption record is not clean-cut when the historical background is examined. In the Nigeria's oil export created opportunities in the 1980s. Other cases are come from Eastern Europe and former the Union of Soviet Socialist Republic. It is because foreign investors search stronger bargaining power relative to domestic investors (Torrez, 2002). The motivation of foreign investor grab is observed in transitional economies. Although the Gambia is typical less-developed country, especially, security issues and unsupervised conditions may have occurred in the export path.

Pervasive and cumbersome governmental conditions prevail in corruption-efficient countries. "Speed money" phenomenon is often observed in such countries. It is a kind of bribes that works kickback like legal for piece rate paying to government employees. The speed money may play significance roles to bypass bureaucratic delays.

However, this situation, which initially seems innocent, is not suitable for both domestic and international law. There are also views about the loss of efficiency in the economy (Whalley, 2003). In addition, if the fact that the people who are willing to do business without any effort and the people who are willing to do business is admitted same by related community, the sustainability of her economic life will put in jeopardy. This kind of unfair resource transfer becomes a hidden tax loaded on transaction cost of a country and may reduce its international trade share in the medium and long term.

Such a diverse effect of corruption between domestic and foreign stakeholders justifies strong corruption reducing policies in relatively more open economies.

## CONCLUSION

Despite the important contribution to national GDP, the Gambia's agricultural export sector continues to perform far below its optimum potential. Its performances are constantly undermined by series of challenges that make it difficult to compete with other exporting nations hence losing great economic benefits. Today, several challenges trapped inside to the

corruption phenomenon remain the Gambia in a very difficult position in the international trade. Some of these challenges include: domestic security, marketing difficulties due to inadequate transport facilities, perennial technical problems in the groundnut processing factories and facilities, low producer prices, frequent credit buying due to inadequate crop financing capacity.

Reducing the challenges arising from corruption is possible and it needs the establishment of an inter-institutional collaboration that would help support the agricultural trade sector. This will bring together both government and private institutions, NGOs as well as civil society organizations to formulate policies that will help boost the exportation of agricultural products. Research and development institutions will also have a big role to play in terms of conducting market researches and help in selecting crops that best adapt to climatic conditions such as drought and pest resistant varieties.

Policy makers, trade sector, business and civil society movements could be the key strategic institutions through which agricultural product export can be improved, governmental approaches have significance on preventing corruption climate atmosphere.

Gambia has little chance of competing in agricultural products trade with globalization and other fast-growing economies. However, with the improvements in the organizational structure, it can bring foreign trade to effective levels. Processed products industry should be developed on an industrial project basis. The share of basic agricultural products in the value chain is quite low. The transition to partial organic farming can provide certain advantages. It can provide privilege in international agricultural products trade.

Besides the effect of the corruption on the economy, cleaning it is also an important cost. It means a serious monetary investment and time. However, initial costs may return more favorably in the future.

## Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

## Contribution of the Authors as Summary

Authors declares the contribution of the authors is equal.

## REFERENCES

- Anderson J, Marcouiller D 2002. Insecurity and the Pattern of Trade: An Empirical Investigation. *The Review of Economics and Statistics*, 84(2): 342-352.
- Anonymous 2019. Our world in data international web page. Global Economic Inequality. <https://ourworldindata.org/global-economic-inequality>.
- Apergis N, Dincer OC, Payne JE 2010. The

- relationship between corruption and income inequality in US states: Evidence from a panel cointegration and error correction model. *Public Choice*, 145(1): 125–135.
- Baklouti N, Baujelbene Y 2016. Moderation of the Relationship Between Size of Government and Corruption by Democracy. *Journal of Knowledge Economy*, 9(4): 1210-1223
- Blackburn K, Gonzalo FP 2010. Financial liberalization, bureaucratic corruption and economic development. *Journal of International Money and Finance*, 29(7): 1321-1339.
- Bhattacharyya S, Hodler R 2015. Media freedom and democracy in the fight against corruption. *European Journal of Political Economy*, 39: 13-24.
- Cai D, Wang LF, Wu X 2018. Governance, privatization and foreign direct investment, *Nankai Business Review International*. 9(4): 569-586.
- Cieslik A, Goczek L 2018. Control of corruption, international investment, and economic growth-evidence from panel data. *World Development* 103: 323-335.
- Desta MG, Hirsch M 2012. African Countries in the world trading system: International trade domestic institutions and the role of international law. *The International and Comparative Law Quarterly*, 61: 127-170.
- Dimant E, Tosato G 2017. Causes and effects of corruption: what has past decade's empirical research taught us? A survey, *Journal of Economic Surveys*, 32(2): 335-356.
- Dincer OC 2008. Ethnic and religious diversity and corruption. *Economic Letters*, 99(1): 98-102.
- Efobi U 2015. Politicians' Attributes and Institutional Quality in Africa: A Focus on Corruption. *Journal of Economic Issues*, 49(3): 787-813.
- Gibba A 2017. The competitiveness of Gambia's agricultural products in international trade: an incentive for economic progress, Szent Istvan University of Hungary PhD Thesis.
- Glover SH, Bumpus MA, Logan JE, Ciesla JR 1997. Reexamining the influence of individual values on ethical decision-making. *Journal of Business Ethics* 16(12/13): 1319–1329.
- Goel RK, Nelson MA 2010. Causes of Corruption: History, Geography and Government. *Journal of Policy Modeling*, 32(4): 433-447.
- Gorsira M, Steg L, Denkers A, Huisman W 2018. Corruption in organizations: Ethical climate and individual motives. *Administrative Science*, 8(1): 1-19.
- Hill RC, Griffiths WE, Lim GC 2011. *Principles of Econometrics*, New York.
- Holbrok TM, Meier KJ 1992. I Seen My Opportunities and I Took 'Em:" Political Corruption in the American States. *The Journal of Politics*, 54(1): 135-155.
- IMF 2000. International Monetary Fund Working Report in Ed: Basu A, Calamitsis E.A, Ghura D, "Promoting growth in Sub-Saharan Africa Learning What Works, USA.
- Kaufmann D, Wei SJ 1999. Does grease Money speed up the wheels of commerce? National Bureau of Economic Research Working Paper Series 7093, Cambridge, MA, USA.
- Mlambo DN, Mubecua MA, Mpanza SE, Mlambo VH 2019. Corruption and its implications for development and good governance: A perspective from post-colonial Africa. *Journal of Economics and Behavioral Studies*, 11(1): 39-47.
- Motsoari C, Cloete PP, Schalkwyk HDV 2015. An Analysis of Factors Affecting Access to Credit in Lesotho's Smallholder Agricultural Sector. *Development Southern Africa*, 32(5): 592-602.
- Musila JW 2019. Anticorruption Strategies in Sub-Saharan Africa: Lessons from Experience and Ingredients of a Successful Strategy. *Journal of African Business*, 20(2): 180-194.
- Neudorfer B, Neudorfer NS 2015. Decentralization and Political Corruption: Disaggregating Regional Authority. *Publius-The Journal of Federalism*, 45(1): 24-50.
- Nurtegin K, Czap JJ 2002. Corruption: Democracy, autocracy, and political stability. *Economic Analysis and Policy*, 42(1): 51-66.
- Otaiku A 2018. The Gambia Agro-Corridor : Agriculture Value Chain Development ARATIBIOTECH Limited Joint Venture with The Gambia, West Africa Proposal. Ministry of Agriculture The Gambia West Africa, no. 2.
- Paldam M 2002. The cross-country pattern of corruption: economics, culture and the seesaw Dynamics. *European Journal of Political Economy*, 18(2): 215-240.
- Peiffer C, Rose R 2016. Why are the poor more vulnerable to bribery in Africa? The institutional effects of services. *The Journal of Development Studies*, 54(1): 18-29.
- Pellegrini L, Gerlagh R 2008. Causes of corruption: A survey of cross-country analyses and extended results. *Economic of Governance*, 9: 245-263.
- Persson T, Tabellini G, Trebbi F 2003. Electoral Rules and Corruption. *Journal of the European Economic Association*, 1: 958-989.
- Pose RA, Zhang M 2019. Government institutions and the Dynamics of urban Growth in China. *Journal of Regional Science*, 59(4): 1-36.
- Sandholtz W, Koetzle W 2000. Accounting for corruption: Economic structure, democracy and trade. *International Studies Quarterly*, 44(1): 31-50.
- Saha S, Gounder R, Su JJ 2009. The interaction effect of economic freedom and democracy on corruption: A panel cross-country analysis. *Economic Letters*, 105(2): 173-176.
- Seim B, Robinson AL 2019. Coethnicity and

- corruption: Field experimental evidence from public officials in Malawi. *Journal of Experimental Political Science*, 1-42.
- Transparency International 2019. Corruption Perception Index. Full Source Description.
- Treisman D 2000. The causes of corruption: A cross-national study. *Journal of Public Economics*, 76(3): 399-457.
- Torrez J 2002. The Effect of Openness on Corruption. *The Journal of International Trade & Economic Development*, 11(4): 387-403.
- Uberti LJ 2018. Corruption in transition economies: Socialist, Ottoman or structural? *Economic Systems*, 42(4): 533-555.
- Verter N 2017. International Trade: The position of Africa in Global Merchandise Trade Edition In: *Emerging Issues in Economics and Development*. Intech Open, 65-88.
- Whalley J 2003. Liberalization in China's Key Service Sectors Following WTO Accession: Some Scenarios and Issues Measurement, Working Paper 10143, National Bureau of Economic Research, Massachusetts.
- Zakharov N 2019. Does corruption hinder investment? Evidence from Russian regions? *European Journal of Political Economy*, 56: 39-61.



## Örtü Altı Sebze Yetiştiriciliğinde Kullanılan Bilgi Kaynaklar: Samsun İli Çarşamba İlçesi Örneği

Yasin Alparslan KURT<sup>1</sup>, İsmet BOZ<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Samsun 55139 Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-1894-7254>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-7149-8393>

✉: [yalparslankurt@gmail.com](mailto:yalparslankurt@gmail.com)

### ÖZET

Bu çalışma; Samsun İli Çarşamba İlçesinde örtü altında sebze yetiştiriciliği yapan üreticilerin üretim ve pazarlama konularına yönelik bilgi kaynaklarını tespit etmek ve bu bilgi kaynaklarının tarımsal yayım açısından değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. Araştırmanın materyali, Tesadüfi Tabakalı Örneklem Yöntemine göre sebze üretimi yapılan 37 köyden seçilen 104 üreticiyle, 2019 yılının sonbaharında yapılan anket çalışmasından elde edilen verilerden oluşmaktadır. Üreticilerin kullandıkları bilgi kaynakları modern ve geleneksel olmak üzere iki gruba ayrılarak bu iki grup arasında sosyoekonomik özellikler ve iletişim davranışları bakımından herhangi bir farkın olup olmadığı bağımsız iki örnek t-testi ve ki-kare testi ile kontrol edilmiştir. Bulgulara göre; modern bilgi kaynaklarını daha çok kullanan üreticilerin sosyoekonomik özelliklerden örtü altı alanı büyüklüğü, örtü altı üreticilik deneyimi, traktör varlığı, gelir kaynağı ve sosyal güvence durumu; iletişim davranışlarından radyo dinleme sıklığı, tarım kuruluşlarıyla görüşme sıklığı ve il merkezine gitme sıklığı bakımından daha avantajlı oldukları tespit edilmiştir. Araştırmada üreticilerin modern bilgi kaynaklarını kullanmaları ve tarımsal kuruluşlarla iletişim halinde olmaları için eğitim ve yayım faaliyetleri önerilmektedir.

### Araştırma Makalesi

### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 07.09.2020

Kabul Tarihi : 09.11.2020

### Anahtar Kelimeler

Örtü Altı Yetiştiriciliği

Bilgi Kaynakları

Sebze Yetiştiriciliği

Çarşamba İlçesi

## Information Sources Used by Greenhouse Vegetable Growers: The Case of Çarşamba District of Samsun Province

### ABSTRACT

This study was conducted in Çarşamba District of Samsun Province to identify the sources of information for producers who grow under cover vegetables, and to evaluate these sources in terms of agricultural extension. The material of the research consists of the data obtained from the survey conducted in the fall of 2019 with 104 producers from 37 villages. The sources of information used by the farmers were divided into two groups as modern and traditional sources. The differences between these two groups in terms of socioeconomic characteristics and communication behaviors were checked with independent sample t-test and chi-square test. According to the research findings; producers who used modern sources of information had more advantages in terms of greenhouse area, farming experience, presence of tractors, income, and social security; It was also determined that they had more advantages regarding the frequency of meeting with agricultural institutions, and frequency of traveling to the city center. In the research, training and extension activities are recommended for producers to use modern sources of information and to communicate with agricultural institutions.

### Research Article

### Article History

Received : 07.09.2020

Accepted : 09.11.2020

### Keywords

Greenhouse cultivation

Information sources

Vegetable growing

Çarşamba district

**Atıf İçin:** Kurt YA, Boz İ 2021. Örtü Altı Sebze Yetiştiriciliğinde Kullanılan Bilgi Kaynaklar: Samsun İli Çarşamba İlçesi Örneği. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (4): 895-903. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.791534.

**To Cite:** Kurt YA, Boz İ 2021. Information Sources Used by Greenhouse Vegetable Growers: The Case of Çarşamba District of Samsun Province. KSU J. Agric Nat 24 (4): 895-903. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.791534.



## GİRİŞ

Tarım sektörü, özellikle gelişmekte olan ülkelerde gerek ülke nüfusunun beslenmesi gerekse ekonomik kalkınma açısından son derece önemli bir sektördür. Gelişmekte olan ülkeler kategorisinde yer alan Türkiye'nin ekonomik gelişmesinde, tarım sektörünün çok önemli bir yeri vardır. Nitekim köylerde yaşayan nüfus son yıllarda önemli oranda azalmış olsa da nüfusun kayda değer bir miktarı tarımsal üretim faaliyeti ile ekonomiye katkıda bulunmaktadır.

Türkiye'de 2019 yılı verilerine göre nüfus artış hızının yıllık %1.47 (Anonim, 2019) olduğu göz önünde bulundurulduğunda, artan nüfusun beslenmesi açısından tarımsal ürünlere olan talep nicelik ve nitelik olarak artmış bulunmaktadır. Artan talebin yeterli ve dengeli bir şekilde karşılanması ihtiyacı, tarım sektörünün önemini daha da artırmaktadır (Cinemre ve Kılıç, 2015).

Tarımsal üretimde verimliliğin artırılabilmesi için, birim alandan daha yüksek verim alınan üretim modellerine yönelmek gerekir. Bu konuda ilk aklı gelen üretim modeli örtü altı üretimdir. Örtü altı üretimi, birim alandan yüksek verim avantajının yanı sıra mevsimsel olumsuzlukları minimuma indirmekte ve yıl boyu üretim yapma olanağı sağlamaktadır (Sevgican, 2002).

Türkiye'nin en önemli delta ovalarından birisini oluşturan Çarşamba Ovasının toplam arazi varlığı 777.560 dekadır. Bu arazinin %76'sı tarımsal üretim alanı olarak kullanılmaktadır. Bu yapısı ile Türkiye'de 16. sırada bulunan Samsun İlinin tarım alanı içinde Çarşamba İlçesinin payı %15.67'dir. Ovadaki toplam tarım alanı içinde sebze bitkilerinin payı ise %21.4'dür (Anonim, 2018). Örtü altı üreticilik uygulamalarının her geçen gün daha da önem kazandığı ilçede hem geçimini bu sektörden sağlayan işletme sayısı artmakta hem de bölgedeki tüketicilere yıl boyunca uygun fiyatlardan sebze tüketme olanağı sunulmaktadır. İlçede örtü altı üreticilik konusunun çeşitli yönleriyle araştırılması ve aksak yönlerinin tespit edilmesi, sektörün gelişimi için alınabilecek önlemler ve geliştirilebilecek stratejilere öncülük yapacaktır.

Türkiye'de örtü altı sebze yetiştiriciliği konusunda çok sayıda araştırma yapılmıştır. Ancak örtü altında sebze üretimi ve pazarlanması konularında kullanılan bilgi kaynakları ile ilgili olarak sınırlı sayıda araştırma yapılmıştır. Diğer taraftan Çarşamba İlçesinde örtü altı sebze yetiştiriciliği yapan üreticilerin bilgi kaynaklarının tespit edilmesine yönelik olarak bugüne kadar bir araştırma da yapılmamıştır. Dolayısıyla bu araştırma, her ne kadar, Çarşamba İlçesi ile sınırlı bir proje olsa da üreticilerin üretim süreçlerindeki gerçek durumlarının ortaya konmasına hizmet edeceği için özgün bir değer taşımaktadır. Ayrıca ortaya konacak verilere dayalı olarak, Çarşamba İlçesinde örtü altı

tarımının geliştirilmesine yönelik öngörülerin ortaya konabilmesine imkân sağlayacak olması da araştırmanın önemini ve özgün değerini artırmaktadır.

Bu çalışmada öncelikle örtü altında sebze yetiştiriciliği yapan üreticilerin sosyoekonomik özellikleri, iletişim davranışları ve yakın-uzak çevre ile olan ilişkilerinin belirlenmesi; daha sonra da örtü altı üreticilikle ilgili bilgi kaynaklarının sosyoekonomik özellikler, iletişim davranışları ve yakın-uzak çevre ile olan ilişkiler bakımından karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

Üreticiler, tarımsal faaliyetleri esnasında, aynı üretim faaliyetleri için birbirinden farklı bilgi kaynaklarından faydalanmaktadırlar. Üreticilerin farklı uygulamalarda kullanmış oldukları bu bilgi kaynakları geleneksel ve modern bilgi kaynakları olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır (Boz ve Özçatalbaş, 2010; Deliktaş, 2003). Ayrıca her iki gruptan da yararlanan çiftçilerin bilgi kaynakları ise karma bilgi kaynakları olarak adlandırılabilir. Geleneksel bilgi kaynakları; üreticinin kendi tarımsal deneyimleri, aile üyelerinin tarımsal deneyimleri, arkadaş/komşu ve diğer üreticilerin tarımsal deneyimlerinden oluşmaktadır. Modern bilgi kaynağı; Tarım il/ilçe Müdürlüğü teknik elemanları, zirai ilaç/gübre bayi teknik elemanları, ürün satın alımı yapan kamu veya özel kuruluş/komisyoncular, radyo, televizyon ve internettir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda üreticilerin tarımsal üretim faaliyetlerinde kullandıkları bilgi kaynaklarını tespit etmeye yönelik olarak birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda üreticilerin geleneksel, modern ve karma bilgi kaynaklarını kullandıkları rapor edilmiştir (Taluğ, 1975; Özçatalbaş ve Gürgen 1992; Yavuz ve Gürbüz, 2001; Deliktaş, 2003; Boz ve ark., 2004; Özcan, 2005; Yılmaz ve ark., 2009; Torun, 2011; Akarsu, 2012; Ünlü, 2017). Ancak Çarşamba ilçesinde örtü altı üreticiliği yapan üreticilerin bilgi kaynaklarından faydalanma durumlarını belirlemeye yönelik olarak bugüne kadar kapsamlı bir araştırma yapılmamıştır.

Bu alan araştırması ile bu eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOD

Araştırmanın ana materyalini, Samsun İli Çarşamba İlçesinde örtü altı sebze yetiştiriciliği yapan üreticiler ile 2019 yılının sonbahar aylarında, yapılan anketlerden elde edilecek veriler oluşturmaktadır.

Konu ile ilgili ikincil veriler Çarşamba Tarım ve Orman İlçe Müdürlüğü ve Türkiye İstatistik Kurumu (TUIK) verilerinden elde edilmiştir. Ayrıca konu ile ilgili ulusal ve uluslararası araştırma bulgularından üretilmiş olan her tür (tez, kitap, rapor, inceleme, derleme) yayınlardan yararlanılmıştır.

Araştırmada anket uygulaması yapılan üreticilerin belirlenmesinde tabakalı tesadüfi örnekleme yöntemi kullanılmıştır. Ana kitlede yer alan 769 üretici, örtü altı üretim alanı kriterlerine göre 3 gruba ayrılmıştır. Bu ayırma göre tabakalar; I. grup 0 - 7.5 da, II. grup 7.51 – 20.0 da ve III. grup 20.1 - 85.0 da şeklinde oluşturulmuştur. Araştırmada anket uygulanacak örnek sayısı, %5 hata payı ve %95 güvenilirlikle aşağıdaki formül yardımıyla 104 olarak belirlenmiştir (Yamane, 2001).

$$n = \frac{N \sum N_h S_h^2}{N^2 D^2 + \sum N_h S_h^2}$$

n = Örnek hacmi, N = Ana kitle, N<sub>h</sub> = h. tabakadaki denek sayısı, S<sub>h</sub> = h. tabakadaki standart sapma, D<sup>2</sup> =  $\frac{d^2}{z^2}$  olup, d = Ana kitle ortalamasından izin verilen hata miktarı, z = Standart normal dağılım tablosundaki z değerini göstermektedir. Araştırmada çekilen örnek sayısı oransal olarak tabakalara dağıtılmış ve üreticilerin 36'sı (%34.3) birinci tabakada, 37'si (%35.4) ikinci tabakada ve 31'i (%30.3) üçüncü tabakada yer almıştır. Tesadüfi sayılar tablosundan anket yapılan üreticiler, üreticilerin belirli köylerde yoğunlaşmaması nedeniyle 37 köye dağılmıştır.

Araştırmada veri toplamak amacıyla hazırlanan anket konu ile ilgili yapılmış önceki çalışmalardan ve yörenin genel ve tarımsal özelliklerinden yararlanılarak hazırlanmıştır. Araştırmada kullanılan anketin hazırlanmasında ağırlıklı olarak Kutlar (2019), Torun (2011), Yalçın ve Boz (2007) ve Boz (2002) çalışmalarından yararlanılmıştır. Sorular teknik olarak açık ve kapalı uçlu olarak hazırlanmıştır. Veri toplama işlemi 2019 yılının sonbahar aylarında tamamlanmıştır. Anketler çoğunlukla çiftçinin işletmesinde ve köy-mahalle kahvelerinde doldurulmuştur. Bir anketin doldurulması yaklaşık 30 dakika almıştır.

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır. Veri değerlendirme işleminde sosyoekonomik özellikler ve iletişim davranışlarının belirlenmesinde frekans, ortalama, standart sapma ve yüzdelerden oluşan tanımlayıcı istatistikler kullanılmıştır. Örtü altı yetiştiriciliği konularında kullanılan geleneksel ve modern bilgi kaynaklarını daha çok kullanan üreticilerin karşılaştırılması amacıyla verilerin kodlanma durumuna göre bağımsız iki örnek t-testi ve Ki-kare testleri kullanılmıştır. Araştırmada anket ile elde edilen verilerden yararlanarak mevcut durumun ortaya koyulmasının yanı sıra mukayese edilebilme imkânının doğduğu durumlarda karşılaştırmalı değerlendirmeler de yapılmıştır. Böylece yörede örtü altı üretimi ve üreticisinin kazanımları ve handikapları bu yolla ortaya konulmuştur.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### Üreticilerin Sosyoekonomik Özellikleri

Araştırmada ele alınan ilk sosyoekonomik özellik üreticilerin yaşlarıdır. Çalışmaya katılan üreticilerin yaş aralığı 30-76 olup ortalama yaş 53'tür. Üreticilerin %61.5'inin yaşı 50 ve üzerindedir. Bu bulgusu ilçede örtü altı tarımı yapan üreticilerin çoğunun orta yaşta olduğunu göstermektedir (Çizelge 1).

Üreticiler ailedeki birey sayısı bakımında incelendiğinde; ortalama aile ferdi sayısının 5.51 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca üreticilerin %24'ünün aile fert sayısının 2 ile 4 kişi arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu durum ileride aile fert sayısında bir azalmanın olabileceğine işaret etmektedir. Araştırma sırasında yapılan gözlemler ve elde edilen izlenimlere göre üreticilerin çocuklarının köyde durmak istemedikleri ve tarım dışı sürekli geliri olan bir işte çalışmak istedikleri anlaşılmıştır (Çizelge 1).

Üreticilerin eğitim düzeyi bakımından büyük çoğunluğunun (%84.6) ilköğretim mezunu olduğu tespit edilmiştir. Araştırmanın saha çalışması kapsamında yapılan gözlemler ve elde edilen izlenimlere göre, üreticilerin eğitimlerini ilkokuldan sonra devam ettirememesinin başlıca nedeninin bölgedeki fiziki altyapı yetersizliğinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ailesinin işgücüne olan ihtiyaç sebebiyle de aile fertlerinin en azından bir bölümünün eğitim hayatını yarıda bırakmış olduğu anlaşılmaktadır.

Üreticiler köy yönetimine katılım açısından değerlendirildiğinde büyük bir kısmının (%69.2) kendisinin veya ailesinin köy yönetimiyle ilgilenmediği tespit edilmiştir. Sosyal statü olarak köy yöneticiliğinin toplum gözündeki önemine rağmen; çalışmanın yapıldığı bölgedeki üreticilerin köy yönetimiyle ilgilenmedikleri tespit edilmiştir.

İlçede işletme arazisi büyüklükleri 2 da ile 130 da arasında değişmekte olup, ortalama işletme büyüklüğü 29.84 dekadır. İşletmelerin %56.73'ünün işletme arazisinin 25 da dan küçük olduğu tespit edilmiştir. Üreticilerin örtü altı alanı büyüklüklerinin 0.12 da ile 16.7 da arasında değiştiği tespit edilmiş olup, ortalama örtü altı büyüklüğü 1.872 dekadır. Bu bulguya göre bölgede işletme başına örtü altı üretim yapılan alan çok geniş değildir. Üreticilerin %62.5'i 1.5 da' dan az örtü altı alanı sahip oldukları tespit edilmiştir. Örtü altı yetiştiriciliğini işletmelerin neredeyse tamamı kendi mülk arazilerinde yaptıklarından bölgede kiracılık ve ortaklıkla işletilen örtü altı alanlarına rastlanmamıştır (Çizelge 1).

Üreticilerin tarımsal deneyim süreleri 10 yıl ile 55 yıl arasında değişmekte olup, ortalama deneyim süresi 33 yıldır. Üreticilerin %42.3 'ünün 29-39 yıl arasında deneyime sahip oldukları tespit edilmiştir. Üreticilerin örtü altı üreticilik deneyimi 2 yıl ile 34 yıl arasında

değişmekte olup, ortalama örtü altı üreticilik deneyimi 16.73 yıldır. Örtü altı üretimi yapan üreticilerin %78.8'i 20 yıldan daha az süredir örtü altı yetiştiricilik faaliyeti yapmaktadır. Üreticilerin örtü altı üreticilik tecrübe süreli dikkate alındığında bu konuda belirli bir tecrübeye sahip oldukları söylenebilir (Çizelge 1). Üreticiler sosyal güvencelerine göre incelendiğinde %59.6'sının Bağ-Kur sigortasından faydalandığı ve %12.5'inin ise hiçbir sağlık sigortasından faydalanmadıkları tespit edilmiştir. Anket çalışması sırasında hiçbir sağlık sigortası olmayan üreticilerin sağlık ile ilgili sorunlarının çözümünde bir kısmının yeşil kart uygulamasından yararlandıkları, bir kısmının da Genel Sağlık Sigortası ile Kamu Sağlık Hizmetlerinden faydalandıkları tespit edilmiştir. Üreticiler traktör varlığı bakımından incelendiğinde %79.8'inin traktör varlığına sahip oldukları belirlenmiştir. Traktör varlığına sahip olmayan

üreticilerin traktör varlığına sahip olmamalarının başlıca nedenleri arazi varlığının sınırlı olması ve üreticiliği ana geçim kaynağı olarak benimsememiş olmaları olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma bölgesinde üreticilere direkt olarak geliriniz ne kadardır şeklinde sorulan soruya çelişkili yanıtlar alındığından, gelir düzeyini belirlemeye yönelik soru aşağıdaki gibi sorulmuştur: "Köyünüzde faaliyet gösteren üreticiler gelirlerine göre yüksek, orta ve düşük olmak üzere üç gelir grubuna ayrıldığında, siz bunlardan hangisine girmektesiniz?" Bu ölçüte göre çiftçilerin %65'inin orta grupta yer aldığı belirlenmiştir. Çiftçilerin önemli bir kısmı (%77.9) geçimini sadece tarımsal faaliyetten sağlamaktadır. Ayrıca çiftçilerin %71.2'si gelirinin %81 ve daha fazla miktarını bitkisel üretimden elde etmektedir.

### Çizelge1. Üreticilerin Sosyoekonomik Özellikleri

Table 1. Socio-Economic Characteristics of Farmers

Yaş	Sayı	Oran (%)	Tarımsal deneyim	Sayı	Oran (%)
30-35 yaş	3	2.9	0- 28 yıl	31	29.8
36-50 yaş	37	35.6	29-39 yıl	44	42.3
51 ve üstü	64	61.5	40 yıl ve üzeri	29	27.9
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>	<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
Ailede birey sayısı	Sayı	Oran (%)	Örtü altı deneyimi	Sayı	Oran (%)
2 - 4	25	24.0	0- 13 yıl	32	30.8
5 - 6	57	54.8	14-20 yıl	50	48.0
6 - 12	22	21.2	21 yıl ve üzeri	22	21.2
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>	<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
Eğitim düzeyi	Sayı	Oran (%)	Sosyal güvence	Sayı	Oran (%)
İlkokul mezunu	88	84.6	Yok	13	12.5
Ortaokul mezunu	11	10.6	Bağ-Kur	62	59.6
Lise mezunu	5	4.8	SSK	29	27.9
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>	<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
Köy yönetimine katılım	Sayı	Oran (%)	Traktör varlığı	Sayı	Oran (%)
Evet	32	30.8	Evet	83	79.8
Hayır	72	69.2	Hayır	21	20.2
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>	<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
Arazi büyüklüğü	Sayı	Oran (%)	Örtü altı alanı	Sayı	Oran (%)
0 - 10 da	24	23.1	0 - 0.50 da	32	30.8
11 - 25 da	35	33.6	0.51 - 1.50 da	33	31.7
26 - 40 da	21	20.2	1.51- 4.00 da	25	24.0
41 - 130 da	24	23.1	4.10 da ve üstü	14	13.5
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>	<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
Gelir kaynakları	Sayı	Oran (%)	Bitkisel üretimin toplam gelir payı	Sayı	Oran (%)
Tarım	81	77.9	%80 ve altı	30	28.8
Tarım ve tarım dışı	23	22.1	%81 ve üstü	74	71.2
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>	<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
Gelir grubu	Sayı	Oran (%)			
Düşük	23	22.1			
Orta	65	62.5			
Yüksek	16	15.4			
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>			

### İletişim Davranışları ve Yakın Uzak Çevreyle Olan İlişkiler

Çarşamba İlçesindeki örtü altı üretimi yapan işletmelerde üreticilerin gazete okuma sıklığına ilişkin

olarak elde edilen veriler neticesinde üreticilerin %67.3'ünün hiç gazete okumadığı, tespit edilmiştir. Araştırma neticesinde üreticilerin düzenli olarak gazete okuma alışkanlığının yok denecek kadar az (%2.9) olduğu anlaşılmaktadır (Çizelge 2).

Çizelge2. İletişim Davranışları ve Yakın Uzak Çevreyle Olan İlişkiler

Table2. Communication Behaviors and Relations with Near Far Environment

Gazete okuma sıklığı	Sayı	Oran (%)
Hiç okumam	70	67.3
Ayda birkaç kez okurum	18	17.3
Haftada birkaç kez okurum	13	12.5
Her gün okurum	3	2.9
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
Radyo dinleme sıklığı	Sayı	Oran (%)
Hiç dinlemem	74	71.2
Ayda birkaç saat dinlerim	4	3.9
Haftada birkaç saat dinlerim	13	12.5
Günde birkaç saat dinlerim	13	12.5
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
TV izleme sıklığı	Sayı	Oran (%)
Hiç izlemem	2	1.9
Günde yaklaşık bir saat izlerim	19	18.3
Günde birkaç saat izlerim	83	79.8
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
İnternet kullanma sıklığı	Sayı	Oran (%)
Hiç kullanmam	56	53.8
Haftada birkaç saat kullanım	3	2.9
Günde yaklaşık bir saat kullanım	15	14.4
Günde birkaç saat kullanım	30	28.8
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
İlçe merkezine gitme sıklığı	Sayı	Oran (%)
Ayda birkaç kez giderim	8	7.7
Haftada bir kez giderim	24	23.1
Haftada birkaç kez giderim	42	40.4
Her gün giderim	30	28.8
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
İl merkezine gitme sıklığı	Sayı	Oran (%)
Yılda birkaç kez	21	20.2
Ayda birkaç gün giderim	43	41.3
Haftada birkaç kez giderim	40	38.5
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
Ziraat mühendisiyle görüşme sıklığı	Sayı	Oran (%)
Yılda birkaç kez	14	13.5
Ayda birkaç defa	76	73.0
Haftada birkaç defa	14	13.5
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
Tarım kuruluşlarıyla görüşme sıklığı	Sayı	Oran (%)
Yılda birkaç kez	16	15.4
Ayda birkaç kez	75	72.1
Haftada birkaç kez	13	12.5
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>
Tarımsal eğitime katılma sıklığı	Sayı	Oran (%)
Hiç katılmadı	47	45.2
Bir veya iki defa katıldı	34	32.7
İki defadan fazla katıldı	23	22.1
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100.0</b>

Radyo dinleme bakımında üreticilerinin %71.2'sinin hiç radyo dinlemediğini belirtmiştir. Üreticilerin büyük bir çoğunluğunun (%79.8) günde birkaç saat televizyon izlediği tespit edilmiştir (Çizelge 2).

İnternet kullanımı açısından üreticilerinin %53.8'inin hiç internet kullanmadıkları, belirlenmiştir. Üreticilerin internet kullanımının sınırlı olmasının sebepleri incelendiğinde; yarıdan fazlasının (%53.8) köyde internet kullanımına yönelik olarak altyapı hizmetlerinin olmaması sebebiyle internet kullanmadıkları, internet kullanan üreticilerin de kendi imkanları ile internet ulaşımı sağladıkları, bir kısım üreticilerin ise internet kullanmaya karşı ilgi duymadıkları belirlenmiştir (Çizelge 2).

İlçe merkezine gitme sıklığına bakımından; üreticilerin %69.2'sinin haftada birçok kez ilçe merkezine gittiği belirlenmiştir. İl merkezine gitme sıklığı bakımında; üreticilerin %51'inin ayda bir günden daha sık gittiği tespit edilmiştir. Üreticilerin bir kısmının pazarcılık faaliyetinde bulunması bu durum üzerinde etkili bir faktördür (Çizelge 2).

Üreticilerin %73.0'ü en az ayda bir defa ziraat mühendisleri ile görüştiklerini belirtmişlerdir. Araştırma sonucu üreticilerin genel olarak; a) işletmelerindeki örtü altı üretim faaliyetleri esnasında bir sorunla karşılaşmaları durumunda, b) tarım kuruluşlarındaki teknik elemanların üretici işletmelerini farklı kurumsal amaçlarla ziyaret etmeleri ve c) girdi firmalarının teknik elemanlarının üretici işletmelerini ürünlerini pazarlamak amacıyla ziyaret etmeleri vesilesiyle ziraat mühendisleri ile görüştikleri belirlenmiştir (Çizelge 2).

Üreticilerin %82.7'si tarımla ilgili kurum ve kuruluşları ayda bir defa veya daha seyrek ziyaret ettiklerini belirtmişlerdir. Üreticilerin tarım kuruluşlarını ziyaret etme sebepleri incelendiğinde; genel olarak büyük bir kısmının (%67.3) resmi işlemler amacıyla bu kuruluşları ziyaret ettikleri belirlenmiştir (Çizelge 2).

Üreticilerin tarımsal eğitim faaliyetine katılma sıklığına ilişkin olarak elde edilen verilere göre; %45.2'sinin daha önce hiçbir tarımsal eğitim faaliyetine katılmadıkları belirlenmiştir. Araştırma sonucu bölgede tarımsal eğitim ve yayım faaliyetlerinin daha çok köy toplantıları ve üretici ziyaretleri şeklinde yürütüldüğü belirlenmiştir. Örtü altı üretimi yapan üreticilerin neredeyse yarısının (%45.2) daha önce tarımsal eğitim faaliyetleri konusunda herhangi bir eğitime katılmamış olması üretimin sürdürülebilirliği açısından düşündürücü bulunmuştur (Çizelge 2).

**Bilgi Kaynaklarının Sosyoekonomik Özellikler Bakımından Karşılaştırılması**

Araştırmada bilgi kaynaklarının sosyoekonomik



özellikler bakımından karşılaştırılmasında verilerin kodlanma şekline göre bağımsız iki örnek t-testi ve Ki-kare testi kullanılmıştır. T-testi sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir. Çizelgede öncelikle çiftçilerin kullanmakta oldukları bilgi kaynaklarının geleneksel ve modern olmak üzere iki kategoriye ayrılmış ve bu kategoriler sürekli değişken olarak ölçülen sekiz sosyoekonomik özellik bakımından karşılaştırılmıştır. Önem düzeyinin  $p \leq 0.05$  düzeyinde kabul edildiği bağımsız iki örnek t-testi karşılaştırmada iki değişken istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. İlk önemli değişken örtü altı alan büyüklüğü olup, örtü altı alanı daha geniş olan çiftçilerin modern bilgi kaynaklarını daha çok kullandıklarını göstermektedir. Araştırmanın bu bulgusu önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir (Boz ve Akbay, 2002; Boz ve ark. , 2002; Türkyılmaz ve ark. 2003). İkinci önemli değişken üreticilerin örtü altı tecrübe süresi olup bu süre arttıkça modern bilgi kaynaklarından faydalanma miktarının arttığı gözlenmiştir. Geleneksel ve modern bilgi kaynaklarının kullanım düzeyi diğer sosyoekonomik değişkenler bakımından herhangi bir fark göstermemiştir (Çizelge 3).

Üreticilerin bilgi kaynaklarının sosyoekonomik özelliklerden traktör varlığı, gelir kaynağı ve sosyal güvence durumu bakımından karşılaştırılmasında i-kare analizi yapılmış olup sonuçlar Çizelge 4'te verilmiştir. Çizelgeden bu üç değişkenden sadece traktör varlığı değişkenini istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir. Bu bulguya göre modern bilgi kaynaklarını daha çok kullanan üreticilerde traktöre sahip olma oranının geleneksel bilgi kaynaklarını daha çok kullanan üreticilere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. (Çizelge 4).

### Bilgi Kaynaklarının İletişim Davranışları ve Yakın-Uzak Çevre ile Olan İlişkiler Bakımından Karşılaştırılması

Üreticilerin örtü altı üreticilikte kullandıkları bilgi kaynaklarının iletişim davranışları ve yakın-uzak çevre ile olan ilişkileri bakımından karşılaştırılmıştır. Bu amaçla geleneksel bilgi kaynakları ve modern bilgi kaynakları ile radyo dinleme sıklığı, tarım kuruluşlarıyla görüşme sıklığı, il merkezine gitme sıklığı, ziraat mühendisleri ile görüşme sıklığı, başkalarının görüşüne başvurma durumu, tarımsal eğitime katılma durumu ve televizyon izleme sıklığı analiz edilmiştir.

Yapılan bağımsız iki örnek t-testi sonuçları Çizelge 5'te verilmiştir. Çizelgeden geleneksel bilgi kaynakları ve modern bilgi kaynaklarını daha çok kullanan üreticiler arasında radyo dinleme sıklığı, tarım kuruluşlarıyla görüşme sıklığı ve il merkezine gitme sıklığı bakımından önemli farklar olduğu görülmektedir. Geleneksel ve modern bilgi kaynakları ile tarım kuruluşlarını ziyaret sıklığı arasında da önemli bir ilişkinin olduğu, yani modern bilgi kaynağından faydalanan üreticilerin tarım kuruluşlarıyla görüşme sıklığı geleneksel bilgi kaynağından faydalanan üreticilere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer önemli ilişki üreticilerin il merkezine gitme sıklığında da belirlenmiştir. Bu konuda yapılan önceki çalışmalarda da üreticilerin şehir merkezine gitme sıklığının farklı bilgi kaynaklarını kullanma durumu (Taluğ, 1975) ve tarımsal yeniliklerin yayılması ve benimsenmesi üzerine etkili olduğu saptanmıştır (Aydın, 1992).

Çizelge3. Bilgi kaynaklarının sosyo-ekonomik özellikler bakımından karşılaştırılması (Bağımsız örneklem t-testi)  
Table3. Comparison of information sources in terms of socio-economic characteristics (Independent sample t-test)

Sosyo-Ekonomik Özellikler		N	Ort	SS	T	P
Örtü altı alanı büyüklüğü	Geleneksel bilgi kaynağı	44	1.134	1.258	-3.135	0.002
	Modern bilgi kaynağı	60	2.414	2.801		
Örtü altı yetiştiricilik tecrübesi	Geleneksel bilgi kaynağı	44	14.863	7.105	-2.518	0.013
	Modern bilgi kaynağı	60	18.100	5.973		
Aile nüfusu	Geleneksel bilgi kaynağı	44	5.886	1.819	1.916	0.058
	Modern bilgi kaynağı	60	5.250	1.558		
Kendi arazisi	Geleneksel bilgi kaynağı	44	33.000	24.172	1.538	0.127
	Modern bilgi kaynağı	60	25.534	24.836		
Eğitim düzeyi	Geleneksel bilgi kaynağı	44	2.150	0.480	-0.937	0.351
	Modern bilgi kaynağı	60	2.250	0.575		
Deneyim süresi	Geleneksel bilgi kaynağı	44	33.216	9.513	0.300	0.608
	Modern bilgi kaynağı	60	34.250	10.910		
Yaş	Geleneksel bilgi kaynağı	44	53.433	9.709	0.316	0.662
	Modern bilgi kaynağı	60	54.340	11.371		
Bitkisel üretim yüzdesi	Geleneksel bilgi kaynağı	44	89.166	13.566	0.068	0.946
	Modern bilgi kaynağı	60	88.977	14.289		

Çizelge4. Bilgi kaynakları ile sosyo-ekonomik özellikler bakımından karşılaştırılması (Ki-Kare Testi)  
Table4. Comparison of information sources with socio-economic characteristics (Chi-Square Test)

Sosyo-Ekonomik Özellikler	Geleneksel bilgi kaynağı		Modern bilgi kaynağı		$\chi^2$	P
Traktör varlığı	sayı	%	Sayı	%		
Evet	30	68.2	53	88.3	6.397	0.011
Hayır	14	31.8	7	11.7		
<b>Toplam</b>	<b>44</b>	<b>100</b>	<b>60</b>	<b>100</b>		
Gelir kaynağı	sayı	%	Sayı	%		
Tarım	31	70.5	50	83.3	2.444	0.118
Tarım ve tarım dışı	13	29.5	10	16.7		
<b>Toplam</b>	<b>44</b>	<b>100</b>	<b>60</b>	<b>100</b>		
Sosyal güvence	sayı	%	Sayı	%		
Yok	7	15.9	6	10.0	2.945	0.229
BAĞKUR	22	50.0	40	66.7		
SSK	15	34.1	14	23.3		
<b>Toplam</b>	<b>44</b>	<b>100</b>	<b>60</b>	<b>100</b>		

Çizelge 5. Bilgi kaynaklarının iletişim davranışları ve yakın-uzak çevre ile olan ilişkilerine ait veriler (T-Testi)  
Table 5. Communication behavior of information sources and their data with the near-far environment (T-Test)

İletişim Davranışları ve Yakın Uzak Çevreyle Olan İlişkiler	N	Ort	SS	t	P	
Radyo dinleme sıklığı	Geleneksel bilgi kaynağı	44	0.613	1.602	-2.524	0.013
	Modern bilgi kaynağı	60	1.566	2.094		
Tarım kuruluşlarıyla görüşme sıklığı	Geleneksel bilgi kaynağı	44	1.886	0.841	-2.399	0.018
	Modern bilgi kaynağı	60	2.316	0.982		
İl merkezine gitme sıklığı	Geleneksel bilgi kaynağı	44	2.477	1.355	-2.264	0.026
	Modern bilgi kaynağı	60	3.083	1.344		
Ziraat mühendisiyle görüşme sıklığı	Geleneksel bilgi kaynağı	44	2.045	0.987	-1.485	0.141
	Modern bilgi kaynağı	60	2.333	0.968		
Tarımsal eğitime katılma	Geleneksel bilgi kaynağı	44	0.659	0.775	-1.224	0.224
	Modern bilgi kaynağı	60	0.850	0.798		
Televizyon izleme sıklığı	Geleneksel bilgi kaynağı	44	5.818	0.390	1,141	0.256
	Modern bilgi kaynağı	60	5.616	1.121		
İlçe merkezine gitme sıklığı	Geleneksel bilgi kaynağı	44	4.886	1.185	0.332	0.740
	Modern bilgi kaynağı	60	4.816	0.947		

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Tarımda modern bilgi kaynaklarının kullanımı üreticilere birçok avantajlar sağlamaktadır. Üreticiler modern bilgi kaynaklarından yararlanarak, kendi sosyal sistemleri dışında gelişen teknolojilerden daha kolay haberdar olmakta ve bu teknolojilerin yararlarını daha kısa sürede idrak etmektedir. Modern bilgi kaynaklarını kullanmayan üreticiler ise çoğu zaman değişime daha geç ayak uydurmaktadır. Üreticilerin bu iki kaynakların hangisini daha çok kullandıkları ise sosyoekonomik özelliklerine göre değişiklikler gösterebilmektedir. Modern bilgi kaynaklarını kullanan üreticilerin sosyoekonomik özelliklerden örtü altı alanı genişliği, örtü altı yetiştiricilik deneyimi ve traktör varlığı bakımından daha avantajlı oldukları ortaya çıkmıştır. Özellikle örtü altı alanı ve traktör varlığı üreticilerin ekonomik olanakları ile ilgili olup bu faaliyetin uzun dönemli olarak yapılmasına bir gösterge teşkil edebilir. Ayrıca üreticilerin örtü altı yetiştiricilik deneyimleri arttıkça örtü altı yetiştiricilik konusunda daha çok modern bilgi kaynaklarına duyulan ihtiyacın da artabileceği varsayımı yapılabilir. Bütün bu özellikler modern bilgi kaynaklarını daha çok kullanan üreticilerin örtü altı

yetiştiriciliğinden istikrarlı bir gelir elde etme arzusunda olduklarına birer gösterge kabul edilebilir. Bu bağlamda üreticilerin modern bilgi kaynaklarını daha çok kullanarak üretim ve pazarlama konularında güncel bilgilerini yenilemek, bu bilgileri işletmelerine uyarlamak ve kırsal alanda sürdürülebilir bir örtü altı işletmecisi olma arzusunda oldukları söylenebilir.

Araştırma bölgesinde yer alan üreticilerin kitle iletişimden yararlanma ve yakın-uzak çevre ile olan ilişkileri bakımından profili ortaya konduğunda; gazete okuma ve radyo dinleme eğilimi düşük olan, günde bir kaç saat televizyon izleyen, internet kullanımını kısıtlı, haftada en az bir defa ilçe merkezini ziyaret eden, en az ayda bir defa il merkezini ziyaret eden, en az ayda bir defa ziraat mühendisiyle görüşen, en az ayda bir defa tarım kurum yada kuruluşlarını ziyaret eden, tarımsal eğitimlere katılımı düşük ve tarımsal konularda başkalarının görüşlerine başvuran kişiler oldukları belirlenmiştir. Modern bilgi kaynaklarını kullanan üreticilerin iletişim davranışlarından radyo dinleme sıklığı, il merkezine gitme sıklığı ve tarım kuruluşlarıyla görüşme sıklığı bakımından daha avantajlı oldukları ortaya çıkmıştır. Üreticilerin özellikle il merkezine gitme sıklığı ve

tarım kuruluşlarıyla görüşme sıklığı göz önünde bulundurulduğunda üreticilerin daha kozmopolit bir yapıda oldukları ve aktif bir biçimde tarımsal bilgiyi aradıkları söylenebilir. Dolayısıyla araştırma bölgesinde yer alan örtü altı sebze üretimi yapan üreticilere yönelik olarak yapılacak eğitim ve yayım programlarında başarının artırılması için, üreticilerin kitle iletişim davranışları ve yakın-uzak çevre ile olan ilişkilerinin göz önünde bulundurulması gerekir. Özellikle yenilikler konusunda çiftçilerde farkındalık yaratmak açısından televizyon ve radyonun etkin bir şekilde kullanımı yararlı olabilir. Diğer taraftan yeniliklerin değerlendirme ve benimseme aşamalarında ise yayım elemanlarının köylere yapacakları ziyaretler ve işletmelerde kurulacak çeşitli demonstrasyon çalışmalarının çok daha yararlı olacağı söylenebilir. Burada çiftçilerin yayım kuruluşları ve yayım elemanları ile olan görüşme saatlerinin artması son derece önemlidir.

### TEŞEKKÜR

Bu makale Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Anabilim Dalında Yasin Alparlan KURT tarafından tamamlanan Yüksek Lisans Tezinden hazırlanmış olup, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca kabul edilen PYO.ZRT.1904.19.015 nolu proje kapsamında desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı ilgili kuruma teşekkür ederiz.

### Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Tüm yazarlar makalelerinde, sonuçları veya yorumları etkileyebilecek herhangi bir maddi veya diğer asli çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### KAYNAKLAR

Akarsu G 2012. Samsun İli Çarşamba Ovasında Zirai İlaç Kullanımı ve Üreticilerin Duyarlılıkları. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 91 sy.

Anonim 2018. Çarşamba Nüfusu. [https://www.nufusu.com/ilce/carsamba\\_samsun-nufusu](https://www.nufusu.com/ilce/carsamba_samsun-nufusu) (Erişim Tarihi: 01.01.2020)

Anonim 2019. TÜİK. <http://www.tuik.gov.tr/veri-tablolari>. (Erişim Tarihi:05.01.2020)

Aydın R 1992. Tokat İlinde Seçilmiş Bir Yörede Tarımsal Yeniliklerin Benimsenmesinde ve Uygulanmasında Etkili Olan Başlıca Sosyo-Ekonomik Faktörler Üzerine Bir Araştırma. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı. Yayınlanmamış Doktora

Tezi, 60sy.

- Boz I 2002. Does early adoption affect farmers' use of the extension service. *Journal of International Agricultural and Extension Education*, 9(3): 77-82.
- Boz İ, Akbay C, Orhan E 2002. Mısır Üretiminde Kahramanmaraş'ta Benimsenmesi ve Yayılmasını Etkileyen Faktörler, Türkiye V. Tarım Ekonomisi Kongresi 18-20 Eylül, Erzurum, s. 440-448.
- Boz İ, Akbay C, Orhan E, Candemir S 2004. Üreticilerin Tarımsal Faaliyetlerde Kullandıkları Bilgi Kaynaklarının Belirlenmesi ve Tarımsal Yayım Açısından Değerlendirilmesi. Türkiye VI. Tarım Ekonomisi Kongresi 16-18 Eylül 2004, Tokat, s.596-603.
- Boz I, Ozcatalbas O 2010. Determining information sources used by crop producers: A case study of Gaziantep province in Turkey. *African journal of agricultural research* 5(10):980-987.
- Cinemre H A, Kılıç O 2015. Tarım Ekonomisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Kitabı No:11, (5.baskı), Samsun.
- Deliktaş M 2003. Kumluca İlçesinde Örtü altılarda Üreticilerin Kullandıkları Bilgi Kaynakları, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 37 sy.
- Kutlar I 2019. Analysis of the sources of agricultural information available to greenhouse tomato growers in Turkey. *FEB-Fresenius Environmental Bulletin*, 6825.
- Özcan N. 2005. Ankara İli Gölbaşı İlçesi Kırsal Kesiminde Kadınların Tarımsal Bilgi Kaynakları ve Bilgi İhtiyaçları Üzerine Bir Araştırma, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 114 sy.
- Özcatalbaş O, Gürgen Y 1992. Aşağı Seyhan Sulama Proje Alanındaki Mısır Üreticilerinin Bilgi Edinme Kaynakları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 7,(2):63-78.
- Sevgican A 2002. Örtüaltı sebzeçiliği. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:528, İzmir.
- Taluğ C 1975. Tarımda Teknolojik Yeniliklerin Yayılması ve Benimsenmesi Üzerine Bir Araştırma, A.Ü. Ziraat Fakültesi Tarım Politikası ve Yayım Kürsüsü, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Ankara.
- Torun E 2011. Organik Tarımda Üreticilerin Bilgi Kaynakları (Kocaeli İli Kartepe İlçesi Örneği). *KSÜ Doğa Bil. Dergisi* 14(4):53-62.
- Türkyılmaz M K, Bardakçioğlu H E, Nazlıgül, A 2003. Aydın İli Süt Sığırcılık İşletmelerinde Yeniliklerin Benimsenmesine Etkili Olan Sosyo-Ekonomik Faktörler, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 27(6):1269-1275.
- Ünlü T 2017. Antalya İlinde Nar Yetiştiricilerinin Bilgi Kaynakları ve Danışmanlık Hizmetlerinden Yararlanma Durumunun Saptanması, Akdeniz

- Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 84sy.
- Yalçın M, Boz İ 2007. Kumluca İlçesinde Örtü altılarda Üreticilerin Kullandıkları Bilgi Kaynakları. Bahçe Dergisi 36(1-2): 1-10.
- Yamane T 2001. Örneklem Yöntemleri (Çeviri): Esin A, Aydın C, Bakır M A, Gürbüzler E. Gazi Üniversitesi fen-Edebiyat Fak. İstatistik Bölümü. Ankara
- Yavuz O, Gürbüz B 2001. Bursa İli Karacabey İlçesinde Arazi Toplulaştırması Yapılan Köylerde Sosyo-Ekonomik Yapı ve Yeniliklerin Benimsenmesi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bilimsel Araştırmalar ve İncelemeler Seri No:24, s.63-68.
- Yılmaz H, Demircan V, Gül M 2009. Üreticilerin Kimyasal Gübre Kullanımında Bilgi Kaynaklarının Belirlenmesi ve Tarımsal Yayım Açısından Değerlendirilmesi. SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 4 (1):31-44.



## Yetiştirici Koşullarındaki Kıvırcık Koyunlarında Meme Özelliklerinin Belirlenmesi

Hilal AKGÜN<sup>1</sup>, Mehmet KOYUNCU<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Ziraat Yüksek Mühendis, Balıkesir, <sup>2</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Bursa

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-5563-9205>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-0379-7492>

✉: koyuncu@uludag.edu.tr

### ÖZET

Bu araştırma ile yetiştirici koşullarındaki Kıvırcık koyunlarında meme özellikleri, linear meme puanları ve bu özelliklerin birbirleri ile ilişkisini ortaya konmuştur. Araştırmada yaşları 3-5 arasında değişen toplam 38 baş Kıvırcık koyunu kullanılmıştır. Meme özellikleri olarak meme çevresi, meme yüksekliği, meme uzunluğu, iki meme arası uzaklık, meme başı genişliği ve meme başı uzunluğu değerleri sırasıyla; 37.2 cm, 17.1 cm, 22.8 cm, 16.5 cm, 18.8 mm ve 27.3 mm olarak bulunmuştur. Linear meme özellikleri olarak meme başı yerleşimi, meme derinliği, ayrılma derecesi ve meme bağlantı derecesi ortalamaları sırasıyla; 4.6, 8.0, 3.4 ve 6.9 olarak puanlanmıştır. Değerlendirmeye alınan meme özellikleri üzerine kontrol dönemleri ve koyunların canlı ağırlığının etkisi önemli ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), doğum tipinin etkisi önemsiz bulunmuştur. Linear meme özelliklerine koyunların canlı ağırlığı ve doğum tipinin etkisi önemsiz bulunmuştur.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 17.09.2020

Kabul Tarihi : 23.11.2020

#### Anahtar Kelimeler

Koyun

Kıvırcık

Meme Özellikleri

Linear Meme Puanı

## Determination of Udder Characteristics in Kıvırcık Sheep under the Breeder Conditions

### ABSTRACT

This study was conducted to determine udder characteristics, linear udder scores and the relationship of these characteristics with each other of Kıvırcık sheep in breeder conditions. A total of 38 heads of Kıvırcık ewes were used in the study. Udder morphology characteristics of the traits including udder circumference, udder height, udder length, teat distance, teat width and teat length values were measured as 37.2 cm, 17.1 cm, 22.8 cm, 16.5 cm, 18.8 mm and 27.3 mm respectively. Linear scores including teat placement, udder depth, degree of separation and degree of suspension of the udder were scored as 4.6, 8.0, 3.4 and 6.9, respectively. The effect of the control periods and live weight of the sheep were significant on the udder characteristics ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), and the effect of the type of birth was insignificant. The effects of the live weight and type of birth on the linear scores udder characteristics were insignificant.

### Research Article

#### Article History

Received : 17.09.2020

Accepted : 23.11.2020

#### Keywords

Sheep

Kıvırcık

Udder traits

Linear udder scores

**Atıf İçin** : Akgün H, Koyuncu M 2021. Yetiştirici Koşullarındaki Kıvırcık Koyunlarında Meme Özelliklerinin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (4): 904-913. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.796314.

**To Cite** : Akgün H, Koyuncu M 2021. Determination of Udder Characteristics in Kıvırcık Sheep Under the Breeder Conditions. KSU J. Agric Nat 24 (4): 904-913. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.796314.

### GİRİŞ

Türkiye’de koyun yetiştiriciliğinin ağırlıklı olarak ekstansif koşullarda sürdürülmesi elde edilen sütün miktar ve kalitesine etki yapabilmektedir. Kaliteli bir süt için öncelikle koyunların sağlıklı bir memeye sahip olmalarının yanında sağım sonrası sütün maruz kaldığı çevresel koşullar da büyük önem taşımaktadır. Sağlıklı bir meme yapısı, süt üretimi ve kalitesinin yanında yavruların beslenmesi açısından önemlidir. Türkiye’de küçükbaş sağımının genellikle elle yapıyor olması ve sağım sırasında sağım yapanların

kendilerini hayvanın meme yapısına göre ayarlaması meme şeklini önemli bir hale getirmektedir. Diğer taraftan son yıllarda makine ile sağımın yaygınlaşması ile meme yapısı sağım performansını direkt olarak etkileyen bir özellik olarak da öne çıkmaktadır. Süt verimi yönünde ıslah edilen hayvanlarda memenin vücuda bağlantısını sağlayan meme merkez bağının kuvvetli olması ki bunun zayıf olduğu durumlarda sağımın ilerleyen dönemlerinde memelerde sarkmalar ortaya çıkmasına neden olabilmekte (Kumlu, 1999), ayrıca sarkık yapıdaki memelerde yaralanma ve çevresel patojenlere maruz

kalma ve buna bağlı mastitis riski de artmaktadır (Uzmay ve ark., 2003).

Süt koyunları için süt verimi ve bileşimi ana seleksiyon hedefi olmakla birlikte, son yıllarda sağımın teknolojik yönleri, üretim kalitesi, fonksiyonel uzun ömürlülük ve hayvan refahı ile bağlantılı özellikler modern ıslah programlarında daha önemli hale gelmiştir. Makineli sağımın süt koyunculğunda daha yaygın kullanılması ile birlikte, kolay ve birörnek bir sağım rutini sağlamak için yetiştiriciler ve bilim insanları tarafından memenin morfolojik ve fonksiyonel özelliklerine ilginin artmasını sağlamıştır. Koyun memesinin mekanik sağım için ideal morfolojisi Labouisière (1988) tarafından tanımlanmıştır. Bir memenin yaralanmasına yol açmayacak şekilde makineli sağımının verimliliğini artırmak için, bazı meme morfolojisi özelliklerinin yeni seçim kriterleri olarak uygulanma olasılıkları temelinde sağılabilirlik ile bağlantılı olarak ele alınmaktadır. İspanya (De la Fuente ve ark., 1996; Serrano ve ark., 2002) ve Fransa'da (Marie-Etancelin ve ark. 2005) çeşitli süt koyunu ırklarında memenin nitelendirmesinde doğrusal puanlar kullanılmaktadır. Fernández ve ark., (1997), Serrano ve ark., (2002) ve Legarra ve Ugarte (2005), meme tipi özellikleri için orta düzeyde bir kalıtım derecesi elde ederlerken, bu yönde koyunlara uygulanacak bir seleksiyondan iyi yanıt alınabileceğini ortaya koymuşlardır.

Koyunlar farklı meme tiplerine sahiptirler (Epstein, 1985). Koyunların damızlık seçiminde meme tipinin süt verimine etkisi olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur. Meme başlarının memede buldukları yer ve meme genişliklerinin istenilenin dışında olması süt akışını ve sağımı zorlaştırabilmekte bu da sütte kalitenin bozulmasına neden olabilmektedir. Bu konudaki çalışmalar, süt koyunlarında süt veriminin meme ve meme başı özellikleriyle pozitif yönde ilişkili olduğunu göstermektedir (İzadifard ve Zamiri, 1997; Iniguez ve ark., 2009). Bununla birlikte Mavrogenis ve ark., (1989), süt üretim seviyeleri ile meme özellikleri arasında düşük bir korelasyon olduğunu belirtmiştir. Ayrıca meme yapısını genotip (Martinez ve ark., 2011), laktasyon sayısı (Gelasakis ve ark., 2012) ve süt verimi (Fernandez ve ark., 1995) gibi sağımı etkileyebilecek birçok faktör olduğu da unutulmamalıdır.

Linear (doğrusal) puanlama meme parametreleri, seleksiyonda dikkate alınan bir özellik olup, veri toplamayı basitleştirmekte büyük sürülerde meme özelliklerinin pratik olarak değerlendirilmesini sağlamaktadır. Linear meme özelliklerine göre skalada optimum seviyeyi geçebilen hayvanlar sürüde kalmakta, böylelikle sürü sürekli bir seleksiyona tabi tutulabilmektedir. Böylece, sütçü hayvan sürülerinde etkili ve kolay uygulanabilir bir ıslah programının uygulanabilme koşulları da yaratılmış olmaktadır (Trimberger ve ark., 1992; Prpić ve ark. 2012;

Makovický ve ark., 2013).

Bu çalışmanın amacı, yetiştirici koşullarındaki Kıvrıcık ırkı koyunlarda meme ölçüleri, meme puanlama ve parametreleri ile bu özelliklerin birbirleriyle olan ilişkilerini araştırmaktır. Elde edilecek sonuçların özellikle meme tipleri bakımından yerli koyun ırkları ile yapılan sınırlı sayıdaki araştırmaya katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## MATERYAL ve METOD

Araştırmada Balıkesir ili Balya ilçesinde bulunan özel bir koyunculuk işletmesinde, 3-4. laktasyon döneminde olan 38 baş Kıvrıcık koyununun meme ölçüleri değerlendirilmiştir. İşletmedeki koyunculuk faaliyeti ağırlıklı olarak ekstansif yetiştirme şeklinde sürdürülmekte olup, ilkbahar ve yaz aylarında herhangi bir ek yemleme yapılmaksızın sadece meraya dayalı bir yetiştirme sistemi uygulanmaktadır. Mart-Ağustos ayları arasında koyunlar ağıla sabah ve akşam sadece sağım için getirilmekte ve geriye kalan zamanda ise merada otlatılmaktadırlar. Eylül-Kasım aylarında ise koyunlar merada yayılmaya devam etmektedir. Aralık-Şubat ayları arasında gebeliğin son dönemi ve doğumun yaklaşmasından dolayı meraya ilave olarak koyunlara ek yemleme yapılmaktadır. Koyunların doğumları Ocak ayı sonunda başlayıp Şubat ayının sonuna kadar devam etmektedir.

Koyunların canlı ağırlık gibi sürekli varyasyon gösteren faktör kesikli hale getirilmiştir. Bu amaçla ana canlı ağırlığı için ortalama değer 54.0 kg olarak belirlenmiş, ortalamanın altında kalan (<54) ve ortalamanın üstünde olanlar (≥54) olarak gruplandırılmıştır.

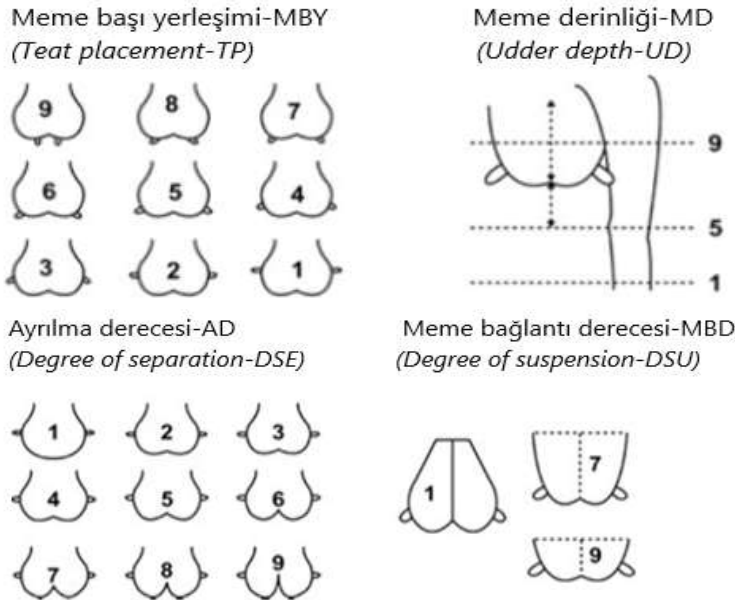
Meme ölçümleri koyunlar meradan gelip bir süre dinlendirildikten sonra akşam saatlerinde sağım öncesi yapılarak Mart-Temmuz ayları arası 14 gün aralıklar ile 9 kez alınmıştır (Şekil 1).

Koyunların meme tiplerinin belirlenmesine doğum yaptıktan sonraki dönem içinde doğrusal bir skala ile memenin morfolojik olarak değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu işlem memelerin fotoğrafları çekilmek suretiyle bilgisayar ekranına aktararak uygulanmıştır. Bu değerlendirmede, koyun memelerinin morfolojik olarak belirlemek için birden dokuza kadar olan (1-9) bir skala kullanılmıştır (Şekil 2), (Casu ve ark., 2006).

Memenin morfolojik olarak değerlendirilmesinde dikkate alınan kriterler: Meme başı yerleşimi (MBY), Meme derinliği (MD), İki yarının ayrılma derecesi (AD) ve Meme bağlantı derecesi (MBD) dir. Bu değerlendirme, koyun memelerinin fotoğrafı çekilmek suretiyle, bilgisayar ekranından puanlanmasına dayanmaktadır (Casu ve ark., 2006, Koyuncu ve Altınçekiç 2016).



Şekil 1. Meme ölçülerine ait değerlendirme (Kızılay 1983)  
Figure 1. Evaluation of udder size



Şekil 2. Meme özelliklerine ait linear ölçüler (Casu ve ark. 2006)  
Figure 2. Linear udder measurements

### İstatistik Analizler

Elde edilen veriler Minitab 17.0 paket programı ile aşağıdaki matematik model kullanılarak değerlendirilmiştir (Minitab 2014). Gruplar arasındaki farklılıkların belirlemek için Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

$$Y_{ijkl} = m + a_i + b_j + c_k + e_{ijkl}$$

$Y_{ijkl}$  = i. dönemdeki j. doğum tipindeki, k. canlı ağırlığındaki ölçülen değer

m = popülasyonun beklenen ortalamasını

$a_i$  = i. dönemin etkisini ( $d_1, d_2, d_3, d_4, d_5, d_6, d_7, d_8, d_9$ )

$b_j$  = j. doğum tipinin etkisini (tekiz, ikiz)

$c_k$  = k. canlı ağırlığının etkisini (<54, ≥54)

$e_{ijkl}$  = Ortalaması sıfır standart sapması  $\sigma_e^2$  olan hata etkisini göstermektedir.

İnteraksiyonlar ilk önce modele dâhil edilmiştir ancak önemli bulunmadıkları için çıkarılmıştır.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Meme özellikleri için tanımlayıcı değerler Çizelge 1'de verilmiştir. Meme özellikleri kapsamında meme çevresi (MÇ), meme yüksekliği (MY), meme uzunluğu (MU), iki meme arası uzaklık (İMAU), meme başı genişliği (MBG) ve meme başı uzunluğu (MBU) için bulunan ortalama değerler  $37.2 \pm 0.27$ ,  $17.1 \pm 0.12$ ,  $22.8 \pm 0.16$ ,  $16.5 \pm 0.08$ ,  $18.8 \pm 0.21$  ve  $27.3 \pm 0.31$ cm olarak sıralanmaktadır.

Çizelge 1. Meme özellikleri için tanımlayıcı istatistikler  
Table 1. Descriptive statistics for udder characteristics

Özellikler (Parameters)	N	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	SD	CV%	Min.	Max.
MÇ (UD)	342	37.2±0.27	4.92	22.0	13.23	49.0
MY (UH)	342	17.1±0.12	2.26	10.0	13.23	32.0
MU (UL)	342	22.8±0.16	2.99	13.0	13.14	32.0
İMAU (TD)	342	16.5±0.08	1.51	10.0	9.13	20.0
MBG (TW)	342	18.8±0.21	3.87	10.5	20.64	31.8
MBU (TL)	342	27.3±0.31	5.65	1.61	20.75	45.3

MÇ/UD: Meme çevresi/Udder circumference, MY/UH: Meme yüksekliği/Udder height, MU/UL: Meme uzunluğu/Udder length, İMAU/TD: İki meme başı arası uzaklık/Teat distance, MBG/TW: Meme başı genişliği/Teat width, MBU/TL: Meme başı uzunluğu/Teat length.

Kıvırcık koyunlarında meme özelliklerine ait değerlere kontrol dönemleri, canlı ağırlık ve doğum tipinin etkisi ve bu faktörlere ait en küçük kareler ortalamaları Çizelge 2'de verilmiştir. İyi ve sağlıklı olarak değerlendirilen bir meme; büyük hacimli ve karna doğru kavis yapan, meme başları belirgin, meme sarnıcına dokunulduğunda dokunun yumuşak ve elastik olduğu hissedilmeli, meme orta yükseklikte olmalı dize kadar inmemeli, meme bağ dokusu belirgin, meme başları orta uzunluk ve genişlikte olmalı, yere dik olarak uzanmalıdır. Bu kapsamda laktasyon süt verimi üzerine tüm meme özelliklerinin önemli düzeyde etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir (Gallego ve ark. 1983; Fernandez ve ark. 1995).

Değerlendirilen meme özelliklerinden meme çevresi ortalama 37.2 cm bulunmuş olup, laktasyon döneminin etkisi önemlidir (P<0.01). Koyunların canlı ağırlık değeri sürü ortalamasından yüksek olanların (38.3 cm), düşük olanlardan (35.7 cm) meme çevresi daha yüksek olup aralarındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır (P<0.01). İkiz doğuran koyunların tekiz doğuranlara göre meme çevresi yaklaşık 1 cm daha büyük bulunmuştur. Banhero ve ark. (2004), ikiz doğuran koyunlar tekiz doğuranlara göre daha büyük memelere sahip olduğunu belirtmiştir. Bunun nedeni çoklu fetüs taşıyan koyunların gebelik sırasında daha yüksek plasenta ağırlığına, daha yüksek serum progesteronuna ve daha fazla plasental laktojen hormonuna sahip olduğu şeklinde belirlenmiştir (Butler ve ark. 1981; Schoknecht ve ark. 1991). Sonuç olarak, meme bezleri gebelik ve doğum sırasında daha iyi gelişir. Bu da meme bezlerinin ikizler tarafından tekiz kuzulara göre daha sık emildiği anlamına gelebilir.

Koyuncu ve Altınçekiç (2011) meme çevresini Tahirova, Kıvırcık ve Karacabey Merinosu ırkı koyunların sırasıyla 43.00, 35.82 ve 34.34 cm; Sezenler ve ark. (2016) Bandırma koyununda ise bu değeri 45.9 cm olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada farklı dönemlerde tekrarlanarak ölçümler alındığından, yapılan çalışmalarda ölçümlerin hangi dönemlerde alındığından hareket ile farklılıkların veya

benzerliklerin olduğu görülmektedir.

Kıvırcık koyunlarında ortalama meme yüksekliği 17.1 cm bulunmuştur. Laktasyon dönemlerinin meme yüksekliğine etkisi önemli bulunmuştur (P<0.05). Canlı ağırlığın sürü ortalaması üzerinde olan koyunların meme çevresi daha yüksek olup aralarındaki farklılık önemlidir (P<0.01). Doğum tipinin meme çevresi üzerine etkisi ise önemsiz bulunmuştur. Kıvırcık koyunlarındaki bu sonuç, Doğan ve ark. (2013) Anadolu Merinosu koyunlarla buldukları 18.86 cm değerinden düşük olmakla beraber, Mundan ve Özbeyaz (2004) tarafından Akkaraman, Kıvırcık x Akkaraman ve Sakız x Akkaraman koyunlarda sırasıyla; 14.64, 13.29 ve 15.98 cm olarak buldukları değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Meme uzunluğu ortalama 22.8 cm olup, dönemlerinin meme uzunluğuna etkisi önemli bulunmuştur (P<0.01). Koyunların canlı ağırlık gruplarının da meme uzunluğuna etkisi önemli (P<0.01) olup, canlı ağırlığı ortalamadan yüksek olan koyunların meme çevresi değerleride yüksektir. Doğum tipinin meme uzunluğuna etkisi önemsizdir. Koyuncu ve Altınçekiç (2011) Tahirova, Kıvırcık ve Karacabey Merinosu ırkı koyunlarda sırasıyla 23.02, 22.11 ve 21.33 cm olarak buldukları meme uzunluğu değerleri araştırma sonuçları ile oldukça benzerdir. Meme uzunluğunun fazla olması istenen bir durum olmayıp, meme uzunluğu ne kadar fazla olursa memede yaralanma veya enfeksiyon problemlerine yakalanma riski o kadar yüksek olabilmektedir.

İki meme başı arası uzaklık çalışmada ortalama 16.5 cm olup, dönemin iki meme arasındaki uzaklığa olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.01). Ele alınan özelliğe canlı ağırlığın etkisi önemli (P<0.01), doğum tipinin etkisi ise önemsiz bulunmuştur. Laktasyonun boyunca meme çevresi, meme uzunluğu ve iki meme başı arası uzaklık birbirlerine benzer bir seyir izlemiştir. Laktasyonun sonuna doğru süt verimi azaldığı için meme hacmi, meme çevresi ve buna bağlı olarak iki meme başı arası uzaklık azalmaktadır.



Çizelge 2. Meme özelliklerini etkileyen faktörler

Table 2. Factors affecting udder characteristics

	N	Meme çevresi, cm ( <i>Udder circumference</i> )	Meme yüksekliği, cm ( <i>Udder height</i> )	Meme uzunluğu, cm ( <i>Udder length</i> )	İki meme başı arası uzaklık, cm ( <i>Teat distance</i> )	Meme genişliği, mm ( <i>Teat width</i> )	Meme başı uzunluğu, mm ( <i>Teat length</i> )
R <sup>2</sup> , %		51.92	15.33	24.86	21.48	24.03	17.11
Önemlilik ( <i>Significance</i> )		**	*	**	**	**	**
Dönemler ( <i>Periods</i> )		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$
D1	38	41.2±0.57 a	17.6±0.29 a	24.5±0.49 a	17.7±0.21 a	19.3±0.60 ab	25.4±0.85 cd
D2	38	41.7±0.52 a	17.6±0.37 a	24.1±0.44 a	17.4±0.24 a	20.9±0.68 a	28.7±1.02 ab
D3	38	40.7±0.47 a	16.5±0.23 ab	23.7±0.38 a	17.0±0.22 ab	20.7±0.44 a	29.6±0.88 a
D4	38	37.6±0.57 b	16.7±0.25 ab	23.0±0.41 abc	16.2±0.22 bc	19.2±0.70 ab	29.5±1.07 a
D5	38	38.1±0.70 b	17.6±0.28 a	23.1±0.41 ab	16.3±0.20 bc	18.3±0.58 bc	27.8±0.82 abc
D6	38	35.3±0.53 c	17.4±0.47 a	22.1±0.54 bcd	15.7±0.21 c	19.0±0.53 ab	27.4±0.76 abc
D7	38	33.0±0.60 d	17.1±0.47 b	21.5±0.46 cd	15.7±0.23 c	17.3±0.54 c	25.2±0.96 d
D8	38	33.5±0.67 cd	17.7±0.49 a	22.0±0.48 bcd	16.1±0.27 c	18.7±0.59 b	26.8±0.92 abcd
D9	38	33.3±0.67 d	16.0±0.26 b	21.0±0.46 d	16.3±0.19 bc	16.5±0.57 c	25.8±0.70 bcd
Canlı ağırlık ( <i>Live weight</i> )		**	**	**	**	**	**
<54	14	35.7±0.33 b	16.4±0.20 b	21.7±0.25 b	16.0±0.13 b	17.4±0.32 b	25.2±0.49 b
≥54	24	38.3±0.24 a	17.8±0.15 a	23.7±0.18 a	16.7±0.09 a	19.9±0.24 a	28.7±0.37 a
Doğum tipi ( <i>Birth type</i> )		ÖD-NS	ÖD-NS	ÖD-NS	ÖD-NS	ÖD-NS	ÖD-NS
Tekiz ( <i>Single</i> )	27	36.6±0.22	16.6±0.14	22.3±0.17	16.4±0.09	18.2±0.22	26.6±0.34
İkiz ( <i>Twin</i> )	11	37.5±0.35	17.5±0.22	23.1±0.27	16.4±0.14	19.2±0.35	27.3±0.53
Genel ( <i>Overall</i> )	342	37.2±0.27	17.1±0.12	22.8±0.16	16.5±0.08	18.8±0.21	27.3±0.31

\* P<0.05, \*\* P<0.01, ÖD: Önemli değil, NS: Non significant

Ayadi ve ark. (2011) Sicilo-Sarde ırkı koyunlarla iki meme başı arası mesafeyi 7.5 cm; Yardımcı ve Özbeyaz (2001) Akkaraman ve Sakız x Akkaraman melezi koyunlarda 15.88 ve 16.16 cm olarak buldukları değerler bu araştırma sonucundan düşüktür. İki meme başı arası mesafe laktasyon dönemindeki hayvanlar için önemlidir. Bu mesafenin istenilen değerlerin dışında olması özellikle sağım ve kuzuların emme dönemlerinde problemlere yol açabilmektedir.

Meme başı genişliği sürüde ortalama 18.8 mm bulunmuştur. Kontrol dönemlerinin meme başı genişliğine etkisi önemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Meme başı genişliği kontrolün başladığı ilk dönemlerde 19-20 mm civarında bulunurken, sonunda 16.5 mm'ye kadar düşmüştür. Koyunların canlı ağırlık değeri de meme başı genişliği üzerine etkisi önemli olup ( $P<0.01$ ), iki grup arasındaki farklılık 2.5 cm' ye ulaşmaktadır. Doğum tipi açısından ikiz doğuranların tekizlerden 1 cm daha geniş bir meme başı değerine sahip olmasına karşılık bu fark önemsiz bulunmuştur. Legaz ve ark. (2011) Assaf koyunlarında meme başı genişliğini 1.74 cm, Emediato ve ark. (2008) Bergamasca koyunlarında 2.28 cm; Özyürek ve ark. (2016) Morkaraman, Tuj ve İvesi koyunlarda sırasıyla 2.27, 2.30 ve 2.78 cm olarak belirlenmiştir. Meme başı genişliği süt verimi yönünde koyunların damızlık seçiminde önemli bir kriter olmanın yanında, meme başının dar veya geniş olması kuzularda emme sorunları yaratabilmektedir.

Meme başı uzunluğu koyunlarda ortalama 27.3 mm bulunmuştur. Farklı kontrol dönemlerinin meme başı uzunluğuna etkisi önemlidir ( $P<0.01$ ). Yüksek canlı ağırlık grubundaki koyunların meme başı uzunluğu düşük canlı ağırlık grubundan yaklaşık 3.5 mm daha yüksek olup, bulunan farklılık önemlidir ( $P<0.01$ ). İkiz doğuran koyunların meme başı uzunluğu tek doğuranlarda çok az bir farklılık göstermiş olmakla birlikte doğum tipinin etkisi önemsiz bulunmuştur.

Özyürek ve ark. (2016)'ın Morkaraman, Tuj ve İvesi ırkı koyunlarda meme başı uzunlukları sırasıyla; 2.63, 2.59 ve 2.43 cm; Thomas ve ark. (2000) %75 Doğu Friz, Doğu Friz ve Lacaune ırkı koyunlarda sırasıyla; 2.7, 2.9 ve 2.5 cm olarak bulunmuştur. Meme başlarının çok uzun ya da kısa olması istenmeyen bir durumdur. Çünkü meme başları uzun olduğunda meme yere

yakın olacağından enfeksiyon kapma riski yüksek olmanın yanında, meme başı çok kısa olduğunda ise kuzuların emmesi güç olduğu gibi sağım esnasında zorluklar yaşanabilmektedir.

Linear meme özellikleri, hayvanların sütçülük özelliklerini belirli bir puanlama esasına dayandırarak sütçü hayvanların seçilmesinde kolaylık sağlaması bakımından çok önemlidir. Linear meme özelliklerine göre değerlendirme yapılarak seleksiyon ile genetik ilerlemenin çok daha güvenli bir şekilde yapılması mümkün olmaktadır (Trimberger ve ark. 1992). Koyunlarda linear meme özelliklerin tanımlanması, ıslah ve işletmenin verimliliği açısından da önemlidir. Aynı zamanda linear meme özelliklerinin değerlendirilmesi, koyunculuk işletmelerinin verimliliğini doğrudan ilgilendiren bir öneme sahiptir (Koyuncu ve Altınçekiç 2011). Kıvırcık koyunlarında linear meme özellikleri için tanımlayıcı istatistikler Çizelge 3'de verilmiştir.

Linear meme özellikleri (meme başı yerleşimi, meme derinliği, ayrılma derecesi, meme başı derinliği) ile koyunların canlı ağırlıkları, kuzulama tipleri ve canlı ağırlık x doğum tipi değişkenleri arasındaki varyans analizi Çizelge 4'te verilmiştir.

Sadeghi ve ark. (2014) Ghezel, Ghezel x Arkhar Merinos ve Moghani x Arkhar Merinos ırkı koyunlarla yapılan meme başı puanlaması sırasıyla; 4.49, 5.40 ve 4.90, Şeker ve ark. (2000) İvesi ve Ost-Friz x İvesi melezlerinde sırasıyla; 4.56 ve 6.10; Koyuncu ve Altınçekiç (2011) Tahirova, Kıvırcık ve Karacabey Merinosu koyunlarında 4.36, 5.06, 5.19 olarak buldukları değerler çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Koyunlarda meme başlarının yerleşimi emzirme ve sağım süresi açısından büyük bir öneme sahiptir. Doğum döneminde kuzuların doğru pozisyonda emmesi süttten yeterli bir şekilde faydalanması gerekmektedir. Meme başları istenilen konumda olmazsa emme sorunları meydana gelebilmektedir. Bu özelliğe yönelik uygulanacak seleksiyon çalışmalarında, meme başlarının konumunu dikkate alan ideal bir puanlama ile sonraki generasyonlarda istenilen meme yapısına sahip koyunların elde edilebilmesi ile sürüde iyileştirme yapılabilir.

Çizelge 3. Linear meme ölçüleri için tanımlayıcı istatistikler

Table 3. Descriptive statistics for linear udder sizes

Özellikler (Parameters)	N	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	SD	CV%	Min.	Max.
MBY	38	4.58±0.21	1.31	28.60	1	7
MD	38	7.95±0.29	1.79	22.52	5	9
AD	38	3.42±0.24	1.46	42.69	1	6
MBD	38	6.90±0.48	2.98	43.19	1	9

MBY/TP: Meme başı yerleşimi/Teat placement, MD/UD: Meme derinliği/Udder depth, AD/DSE: İki yarının ayrılma derecesi/Degree of seperation, MBD/DSU: Meme bağlantı derecesi/Degree of suspension

Çizelge 4. Linear meme özelliklerini etkileyen faktörler

Table 4. Factors affecting linear udder characteristics

	N	Meme başı yerleşimi (Teat placement)	Meme derinliği (Udder depth)	Ayrılma derecesi (Deg. of seperation)	Meme bağlantı derecesi (Deg. of suspension)
R <sup>2</sup> , %		4.54	2.58	4.02	3.67
Canlı ağırlık (Live weight)		ÖD-NS	ÖD-NS	ÖD-NS	ÖD-NS
<54	14	4.8±0.43	8.0±0.60	3.4±0.49	6.7±0.99
≥54	24	4.3±0.29	7.8±0.40	3.3±0.32	7.1±0.66
Doğum tipi (Birth type)		ÖD-NS	ÖD-NS	ÖD-NS	ÖD-NS
Tekiz (Single)	27	4.7±0.26	8.1±0.36	3.5±0.29	6.8±0.60
İkiz (Twin)	11	4.4±0.45	7.6±0.62	3.3±0.51	7.0±1.03
Genel (Overall)	38	4.6±0.21	8.0±0.29	3.4±0.24	6.9±0.48

ÖD: Önemli değil, NS: Non significant

Koyunlardan elde edilen meme derinliği puanı ortalama 8.0 olarak bulunmuştur. Meme derinliğinin arka diz eklemine yakın ve ortalama 6-7 puan arasında olması ideal kabul edilmektedir (Koyuncu ve Altınçekiç 2016). Casu ve ark. (2010) Sarda x Lacaune melezi koyunlarda bu özellik için değeri 6.63 bulmuşlar; Margetin ve ark. (2012) 381 baş koyunun linear meme derinliği 5.04 olarak tespit etmişlerdir. Meme derinliği Tahirova, Kıvırcık ve Karacabey Merinosu koyunlarında sırasıyla; 6.77, 6.60 ve 6.49 bulunmuştur (Koyuncu ve Altınçekiç 2011). Bu araştırmada meme derinliği için bulunan değer diğer çalışmalara göre yüksek ve ideal olarak belirtilen değerlerin dışındadır.

Koyunların iki meme başının bağlanma noktaları arasındaki ayrılma derecesi ortalama 3.4 olarak belirlenmiştir. Salaris ve ark. (2014) Sardunya ırkı koyunlarda yapılan linear meme puanlamasında ayrılma derecesi 6.74, Gelasakis ve ark. (2012) Sakız ırkı koyunlarla yaptığı çalışmada 3.83 ve Koyuncu ve Altınçekiç (2011) Tahirova, Kıvırcık ve Karacabey Merinosun bu değerleri sırasıyla; 3.42, 3.74 ve 3.43 olarak bulmuşlardır. Koyunlarda ayrılma derecesi düşük olan memelerde sarkmalar, laktasyonun ilerleyen dönemlerinde veya ilerleyen doğumlarda ortaya çıkabilir. Bu durum dikkate alınarak sütçü koyunlarda seleksiyon uygulamasının gerçekleştirilmesi gerekir. Aksi takdirde laktasyon veya yaş ile birlikte memedeki sarkmalardan dolayı meme sağlığı ile ilgili problemlerin ortaya çıkması kaçınılmazdır bu da sürüde ayıklama hızını artıracaktır.

Kıvırcık koyunlarında meme bağlantı derecesi puanı ortalaması 6.9 olarak bulunmuştur. Fernando de la Fuente ve San Primitivo (1996) Churra ırkı koyunlarda bu değeri 5.14; Koyuncu ve Altınçekiç (2011) Tahirova, Kıvırcık ve Karacabey Merinosu ırklarında ise 8.22, 7.23 ve 7.65 olarak tespit etmişlerdir. Özellikle memenin alt karın bölgesine yapmış olduğu bağlanma açısı hayvanların laktasyon

dönemlerinin uzun ya da kısa olmasını etkilemektedir. Bağlantısı zayıf olan memeler üçüncü veya dördüncü laktasyondan sonra aşırı derecede sarkmakta, bu tip memeye sahip koyunlar her türlü etkene açık hale gelmektedir (Şahin 2011; Koyuncu ve Altınçekiç 2016).

Koyunlarda memesi büyük olanların süt veriminin daha yüksek olduğu (Labussiere ve ark. 1981), günlük ve laktasyon süt verimleri ile meme çevresi (Mundan ve Özbeyaz 2004), meme hacmi, meme başları arası mesafe, meme genişliği, uzunluğu ve derinliği arasında (Labussiere ve ark. 1981) pozitif korelasyon olduğu ifade edilmektedir. Kızılay (1983) tarafından yapılan bir araştırmada, meme yüksekliği, genişliği, derinliği ve çevresi ile süt verimi arasında yüksek düzeyde pozitif korelasyonlar olduğu (P<0.05; P<0.01), meme başlarına ait fenotipik özellikler söz konusu olduğunda ise korelasyonların negatif ve düşük düzeylerde kaldığı bildirilmiştir.

Koyunlarda MBU-MBY, MBU-AD arasında negatif yönde bir korelasyon bulunmaktadır (P<0.05). Bu durumda MBY ve AD azaldıkça, MBU'nun arttığı söylenebilir. Araştırma esnasında yapılan gözlemlerde MBY ve AD laktasyonun sonuna doğru azaldığı buna karşın MBU'nun arttığı belirlenmiştir. Diğer taraftan MBD-MU, MBD-İMAU ve MB-MBG arasında pozitif yönlü bir korelasyon söz konusudur (P<0.05). Morfolojik meme özellikleri arasında (MC-MY, MC-MU, MC-İMAU, MC-MBG, MY-MU, MY-İMAU, MY-MBG, MY-MBU, MU-İMAU, MU-MBG, İMAU-MBG) yüksek ve pozitif yönlü korelasyonlar bulunmaktadır (P<0.01). Bu da özelliklerden birinin diğeriyle aynı yönde artacağı ya da azalacağını ifade etmektedir (Çizelge 5).

Koyuncu ve Altınçekiç (2011), üç farklı ırkta yaptıkları çalışmada linear meme özelliklerinden meme bağlantı derecesi ile meme derinliği arasındaki fenotik korelasyonu Tahirova koyunu için (0.714), (P<0.01); Kıvırcık koyunu için 0.357 ve Karacabey Merinosu koyunu için 0.343, (P<0.05) olarak bulmuşlardır. Özellikle yüksek puanlı meme bağlantı derecesine

sahip hayvanlardan daha fazla süt elde edildiği ve damızlık seçiminde bu özelliklerin göz önünde bulundurulması gerektiği belirtilmektedir. Memenin sarkık yapıda olması askı ligamentlerinin gevşemesi sonucu meme başlarının yere yakın olması sonucunu doğurmakta bu durumdaki koyunlarda sağım ve kuzular tarafından emilmeye problemler çıkarabilmektedir. Emediato ve ark. (2008) meme

ölçüleri ile süt verimi arasındaki korelasyonun ancak yavrular süttten kesildikten sonra yüksek düzeyde ve pozitif yönde seyrettiğini, öncesinde hayvanların memelerinin sütle dolu olmasına rağmen içgüdüsel olarak sütlerini yavrularına ayırıp vermediklerini bu nedenle strese girdiklerini ve dolayısıyla da meme ölçüleri ile süt verimi arasındaki korelasyonların düşük ve negatif çıktığını bildirmişlerdir.

Çizelge 5. Morfolojik meme özellikleri ve linear meme değerlendirilmesi arasındaki korelasyonlar<sup>a</sup>  
Table 5. Correlations between morphological udder characteristics and linear udder evaluation<sup>a</sup>

	MBY (TP)	MD (UD)	MBD (DSU)	AD (DSE)	MÇ (UD)	MY (UH)	MU (UL)	İMAU (TD)	MBG (TW)
MD (UD)	-0.06								
MBD (DSU)	-0.22	-0.14							
AD (DSE)	0.11	-0.28	-0.03						
MÇ (UD)	-0.12	-0.02	0.31	0.10					
MY (UH)	-0.29	0.07	0.30	-0.03	0.56**				
MU (UL)	-0.24	-0.05	0.36*	0.03	0.71**	0.84**			
İMAU (TD)	-0.15	0.02	0.37*	-0.15	0.65**	0.48**	0.52**		
MBG (TW)	-0.39	0.18	0.33*	-0.20	0.45**	0.45**	0.47**	0.50**	
MBU (TL)	-0.38*	0.28	0.26	-0.37*	0.26	0.52**	0.41*	0.41*	0.83**

\*P<0.05, \*\*P<0.01, <sup>a</sup>: 9 dönemin ortalaması,

MBY/TP: Meme başı yerleşimi/Teat placement, MD/UD: Meme derinliği/Udder depth, AD/DSE: İki yarının ayrılma derecesi/Degree of seperation, MBD/DSU: Meme bağlantı derecesi/Degree of suspension, MÇ/UD: Meme çevresi/Udder circumference, MY/UH: Meme yüksekliği/Udder height, MU/UL: Meme uzunluğu/Udder length, İMAU/TD: İki meme başı arası uzaklık/Teat distance, MBG/TW: Meme başı genişliği/Teat width, MBU/TL: Meme başı uzunluğu/Teat length.

Memeye ait morfolojik özelliklerin kendi aralarındaki fenotipik korelasyonlar linear meme özelliklerinden farklı olarak ağırlıklı olarak pozitif ve önemli bulunmuştur. Sarı ve ark. (2015), Tuj koyununda meme özelliklerinin kendi aralarında yüksek korelasyona sahip olduklarını ve bunun 0.32 ile 0.68 arasında değiştiğini, özellikle meme genişliği ile meme çevresi ve meme derinliği arasındaki korelasyon katsayılarını 0.68 ve 0.54 olarak bildirmişlerdir. Benzer şekilde Tahirova, Kıvrıkcık ve Karacabey Merinosu koyunlarında meme morfolojik özellikleri ile linear özellikler arasında pozitif ve önemli ilişkiler saptanmıştır (Koyuncu ve Altınçekiç 2011).

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada yetiştirici koşullarında Kıvrıkcık koyunlarında meme ölçüleri ve linear meme skorlaması yapılmıştır. Çalışmanın yetiştirici koşullarındaki mevcut durumu ortaya koyması açısından ayrı bir önemi bulunmaktadır. Doğrusal skor, meme morfolojisini olabildiğince kesin olarak karakterize etmelidir, ancak sistemin çok karmaşık olmaması ve uygulamada çok zaman alıcı olmaması için sınırlı ölçek ve sayıda kriter kullanılması gerekir. Meme morfolojisinin bireysel özellikleri arasındaki ilişkilerin bilgisi, bunların toplam seçim indekslerine dahil edilmesi veya meme morfolojisi için kısmi seçim indekslerinin oluşturulması için de önemlidir ve süte

yönelik seçim şemalarında gelecekteki ilişkili yanıtları tahmin etmeyi mümkün kılar. Seçim indeksi yapısı için özellikler arasındaki genetik korelasyonlara ihtiyaç vardır, ancak genetik korelasyonların makul tahmini büyük ve iyi yapılandırılmış veriler gerektirir. Araştırmada ele alınan meme özellikleri ve meme şeklinin özellikle meraya dayalı süt koyunu yetiştiriciliği yapan işletmeler açısından önemli bir seleksiyon kriteri olarak kullanılabilirliğini, ayrıca meme özelliklerinin sağım performansı ve verimle ilgisi olduğu gösteren korelasyon değerleri elde edilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Bu makale Hilal Akgün'ün yüksek lisans tezinin bir bölümünden hazırlanmış olup, araştırmayı destekleyen Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna (HDP(Z) 2017/4) teşekkür ederiz.

## Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.



## KAYNAKLAR

- Ayadi M, Such X, Ezzehizi N, Zouari M, Najar T, M Rad, MB, Casals R 2011. Relationship Between Mammary Morphology Traits and Milk Yield of Sicilo-Sarde Dairy Sheep in Tunisia. *Small Ruminant Research*, 96: 41–45.
- Banchero GE, Quintans G, Martin GB, Lindsay DR, Milton JTB 2004. Nutrition And Colostrum Production in Sheep. 1. Metabolic And Hormonal Responses To A High-Energy Supplement In The Final Stages Of Pregnancy. *Reproduction, Fertility and Development*, 16: 1–11.
- Butler WRSM, Cappiello LA, Handwerger S 1981. The Relationship Between Breed and Litter Size in Sheep And Maternal Serum Concentrations Of Placental Lactogen, Estradiol And Progesterone. *Journal of Animal Science*, 53:1077-1081.
- Casu S, Pernazza I, Carta, A 2006. Feasibility Of A Linear Scoring Method of Udder Morphology For The Selection Scheme Of Sardinian Sheep. *Journal of Dairy Science*, 89: 2200-2209.
- Casu S, Sech S, Salaris SL, Carta A 2010. Phenotypic and Genetic Relationships Between Udder Morphology And Udder Health In Dairy Ewes. *Small Ruminant Research*, 88: 77–83.
- De la Fuente LF, Fernandez G, San Primitivo F 1996. A Linear Evaluation System For Udder Traits of Dairy Ewes. *Livestock Production Science*, 45, 171-178.
- Doğan Ş, Aytekin İ, Boztepe S 2013. Anadolu Merinosu Koyunlarında Meme Tipleri İle Meme Özellikleri, Süt Verimi Ve Bileşenleri Arasındaki İlişkiler. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10 (2): 58-69.
- Emediato RMS, Siqueira ER, Stradiotto MM, Maest'á SA, Fernandes S 2008. Relationship Between Udder Measurements and Milk Yield in Bergamasca Ewes in Brazil. *Small Ruminant Research*, 75: 232–235.
- Epstein H 1985. The Awassi Sheep With Special Reference To The Improved Dairy Type. *FAO Animal Production and Health Paper 57*, Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome.
- Fernandez G, Alvarez P, San Primitivo F, De la Fuente LF 1995. Factors Affecting Variation of Udder Traits of Dairy Ewes. *Journal of Dairy Science*, 78, 342–849.
- Fernando de la Fuente LG, San Primitivo F 1996. A Linear Evaluation System for Udder Traits of Dairy Ewes. *Livestock Production Science*, 45: 171-178.
- Gallego L, Caja G, Torres A 1983. Estudio De La Tipología Y Características Morfológicas De Las Ubres De Ovejas De Raza Manchega Desde El Parto. In: 3rd International Symposium on Machine Milking of Small Ruminants. Sever-Cuesta, Valladolid, Spain. pp. 100-116.
- Gelasakis AI, Arsenos G, Valergakis GE, Oikonomou G, Kioussis E, Fthenakis GC 2012. Study of Factors Affecting Udder Traits and Assessment of Their Interrelationships With Milking Efficiency in Chios Breed Ewes. *Small Ruminant Research*, 103:232–239.
- Iniguez L, Hilali M, Thomas DL, Jesry G 2009. Udder Measurements and Milk Production in Two Awassi Sheep Genotypes and Their Crosses. *Journal of Dairy Science*, 92:4613-4620.
- Izadifard J, Zamiri MJ 1997. Lactation Performance of Two Iranian Fat-Tailed Sheep Breeds. *Small Ruminant Research*, 24: 69-76.
- Kızılay E 1983. Beyaz Alman x Malta (F<sub>1</sub>) Keçilerinde Meme Özellikleri ve Süt Verimleriyle İlişkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, No: 461.
- Koyuncu M, Öziş Altınçekiç Ş 2011. Kıvrıkcık, Tahirova ve Karacabey Merinosu İrki Koyunlarda Linear Meme Özellikleri, Meme Ölçüleri Ve Süt Verimi Arasındaki İlişkiler. 7. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, 14-16 Eylül 2011. Adana.
- Koyuncu M, Öziş Altınçekiç Ş 2016. Saanen X Kıl Melez Keçilerinde Linear Meme Özellikleri ve Somatik Hücre Sayısı Arasındaki İlişkiler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33 (3): 148-156.
- Kumlu S 1999. Damızlık ve Kasaplık Sığır Yetiştirme. *Setma Matbaacılık*, Ankara, 166 sy.
- Labussiere J, Dotchewski D, Combaud JF 1981. Caracteristiques Morphologiques De La Mamelle Des Brebis Lacaune. *Methodologie Pour L'optention Des Donnees. Relations avec l'aptitude a la traite. Ann. Zootech.*, 30: 115-136.
- Legarra A, Ugarte E. 2005 Genetic Parameters of Udder Traits, Somatic Cell Score, and Milk Yield in Latxa Sheep. *Journal of Dairy Science*, 88:2238–2245.
- Legaz E, Cervantes I, Pérez-Cabal MA, Fernando de la Fuente L, Martínez R, Goyachee F, Gutiérrez JP 2011. Multivariate Characterisation of Morphological Traits in Assaf (Assaf.E) Sheep. *Small Ruminant Research*, 100: 122– 130.
- Makovický P, Nagy M, Makovický P 2013. Comparison of External Udder Measurements of The Sheep Breeds Improved Valachian, Tsigai, Lacaune And Their Crosses. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 73(4) October-December.
- Margetín M, Oravcová M, Apolen D, Milerski M 2012. Genetic Parameters for Udder Traits in Slovak Dairy Sheep and Their Crosses With Specialized Breeds. *Journal of Life Sciences*, 6: 1363-1370.
- Marie-Etancelin C, Astruc JM, Porte D, Larroque H, Robert-Granie C 2005. Multiple-Trait Genetic Parameters And Genetic Evaluation of Udder-Type Traits in Lacaune Dairy Ewes. *Livestock Production Science*, 97: 211– 218.
- Martínez ME, Calderón C, Barra RD, Fernando de la Fuente L, Gonzalo C 2011. Udder Morphological Traits and Milk Yield of Chilota and Suffolk Down Sheep Breeds. *Chilean Journal of Agricultural*

- Research, 71(1):90-95.
- Mavrogenis AP, Papachristoforou C, Lysandrides P, Roushias A 1989. Environmental and Genetic Effects of Udder Characteristics and Milk Production in Damascus Goats. *Small Ruminant Research*, 2(4): 333-343.
- Minitab Inc. 2014. MINITAB release 17: statistical software for windows. Minitab Inc, USA.
- Mundan D, Özbeyaz C 2004. Akkaraman, Kıvrıkcık X Akkaraman G<sub>1</sub> ve Sakız X Akkaraman G<sub>1</sub> Koyunlarda Süt Verim Özellikleri İle Kuzularda Büyüme ve Yaşama Gücü. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 44(2): 23-35.
- Özyürek S, Türkyılmaz D, Yaprak M, Esenbuga N 2016. Determination of Morphological and Linear Udder Traits in Morkaraman, Tuj and Awassi Sheep. *Indian Journal of Animal Research*, 52 (3): 424-430.
- Prpić Z, Mioč B, Vnućec I, Vrdoljak J, Pavić V 2012. Morphology of Wheat and Milk Fat of Goat's Sheep. 47th Croatian and 7th International Symposium on Agriculture. February 13 – 17, 2012. Opatija, Croatia.
- Sadeghi S, Rafat A, Bohlouli M 2014. Effect of Crossbreeding on Linear Udder Scores and Their Phenotypic Relationships in Iranian Fat-Tailed Ewe's. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 30 (1): 61-77.
- Salaris S, Casu S, Carta A 2014. Investigating The Relationship Between The Prion Protein Locus and Udder Morphology Traits and Milk Yield in Sardinian sheep. *Jornal of Animal Science*, 2007. 85:2840–2845.
- Sarı M, Yılmaz İ, Önk K 2015. Effects of Lactation Stage, Lactation Order and Udder Types on Udder Traits and Composition of Milk in Tuj Ewes. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 62: 313-318.
- Schoknecht PA, Nobrega SN, Petterson JA, Ehrhardt RA, Slepetic R, Bell AW 1991. Relations Between Maternal and Fetal Plasma Concentrations of Placental Lactogen and Placental and Fetal Weights in Well-Fed Ewes. *Journal of Animal Science*, 69:1059-1063.
- Serranoa M, Pe´rez-Guzma MD, Montoro V, Jurado JJ 2002. Genetic analysis of udder traits in Manchega ewes. *Livestock Production Science*, 77: 355–361.
- Sezenler T, Ceyhan A, Yüksel MA, Önalı AT, Yıldırım M 2016. Effect of Parity and Type of Lambing on Performance and Udder Traits of Bandırma Ewes. *Indian Journal of Animal Science*, 86 (5): 572–577.
- Şahin O 2011. Süt Sığırlarında Tip Sınıflandırması Ve Vücut Kondisyonu Değerlendirme. TDSYMB Yayınları, Akyazı Matbaası, Ankara, 112 sy.
- Şeker İ, Kul S, Bayraktar M 2000. İvesi ve Ost-Friz X İvesi Melezi (F<sub>1</sub>) Koyunlarda Linear Meme Özellikleri ve Bunlar ile Süt Verimi Arasındaki İlişkiler. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 40 (2): 45-55.
- Thomas DL, Berger YM, McKusick BC, Gottfredson RG 2000. Comparison of East Friesian-Crossbred and Lacaune-Crossbred Ewe Lambs for Dairy Sheep Production. *Proceedings of the 6th Great Lakes, Dairy Sheep Symposium*, November 2-4, 2000, Guelph, Ontario, Canada.
- Trimberger GW, Etgen M, Galton DM 1992. *Dairy Cattle Judging Techniques*. Fourth Edition, Waveland Press, Inc. Prospect Heights, Illinois, U. S. A. 350 sy.
- Uzmay C, Kaya İ, Akbaş Y, Kaya A 2003. Siyah Alaca İneklerde Meme ve Meme Başı Formu ile Laktasyon Sırası ve Laktasyon Döneminin Subklinik Mastitis Üzerine Etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27: 695-701.
- Yardımcı M, Özbeyaz C 2001. Akkaraman, Sakız X Akkaraman Melezi F<sub>1</sub> Koyunlarının Süt Verimi ve Meme Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 41(2): 63 – 77.