



KSÜ Tarım ve Doğa Derg

KSU J. Agric Nat

e-ISSN : 2619-9149

T.C.

KAHRAMANMARAŞ

SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Journal of Agriculture and Nature

Cilt-Volume 25 Sayı-Number 5 Yıl-Year: 2022



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
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. Alptekin YASIM
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörü

Editörler / Editors

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

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

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

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

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

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

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

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

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

İngilizce Editörü/English Editor

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

İstatistik Editörü/Statistics Editor

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

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

Alan Editörü/Associate Editor

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

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

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



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGISİ

Uluslararası Danışmanlar Kurulu (International Advisory Board)

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

Ulusal Danışmanlar Kurulu (Advisory Board)

Doç.Dr. Tugay 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. Rüştu HATİPOĞLU Çukurova Üniversitesi, ADANA	Prof.Dr. Murat KÜTÜK Gaziantep Üniv. GAZİANTEP	Prof. Dr. Ramazan MERAL Bingöl Üniv. BİNGÖL
Prof.Dr. Yeşim Yalçın MENDİ, Çukurova Üniversitesi, ADANA	Prof.Dr. Fatih SATIL Balıkesir Üniv. Balıkesir	Prof.Dr. Hüseyin SÜZEK Muğla Sıtkı Koçman Üniv. MUĞLA
Prof.Dr. Nazım ŞEKEROLU Kilis 7 Aralık Üniv. KİLİS	Prof. Dr. İbrahim YILMAZ Akdeniz Üniv. ANTALYA	Prof. Dr. Kadir YILMAZ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. KAHRAMANMARAŞ



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

İÇİNDEKİLER

ARAŞTIRMA MAKALESİ - RESEARCH ARTICLE

- Spirogyra aequinoctialis*'in Farklı Çözgenler ile Hazırlanan Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Etkileri 927-932
Antibacterial and Antifungal Effects of Extracts of *Spirogyra aequinoctialis* Prepared with Different Solvents
Köksal PABUÇCU, Tuğba DEMİRİZ YÜCER
- Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using White Propolis Extract as a Reduction Agent and Optimized by Box-Behnken Design 933 - 945
Gümüş Nanopartiküllerin Beyaz Propolis Ekstresi Kullanılarak Biyosentezi ve Box-Behnken Yöntemi ile Optimizasyonu
Nazan GÖKŞEN TOSUN, Özlem KAPLAN
- Anticancer, Antioxidant, Antimicrobial and Enzyme Inhibitory Activities of *Inula aucheriana* 946 - 954
Inula aucheriana'nın Antikanser, Antioksidan, Antimikrobiyal ve Enzim İnhibitör Aktiviteleri
Gülşen GÜÇLÜ, Merve ERGÜL, Esra UÇAR, Nuraniye ERUYGUR, Mehmet ATAS
Hüseyin Aşkın AKPULAT
- Investigation of the Biological Activities of *Alcea calvertii* 955 - 964
Alcea calvertii'nin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi
Mahmoud ABUDAYYAK, Şeyda KANBOLAT, Reyhan ERGENE, Şeyma BATUR
Rezzan ALİYAZICIOĞLU
- Bitki Ekstrelerinde Oksidatif Stres Biyobelirteçleri için Yöntem Performansının Değerlendirilmesi ve Biyolojik Varyasyonlar: Metot Validasyon Çalışması 965 - 973
Evaluation of Method Performance and Biological Variations for Oxidative Stress Biomarkers in Plant Extracts: A Method Validation Study
Erkan ÖNER, Ergül BELGE KURUTAS, İter DEMİRHAN, Meltem GÜNGÖR
- Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* Bitkisinin Akciğer Kanseri ve Beyin Glioma Hücre Hatlarında Antikanser, Antiproliferatif ve Apoptotik Hücre Ölümü Üzerine Etkilerinin Araştırılması 974 - 985
Investigation of Anticancer, Antiproliferative and Apoptotic Cell Death Effects of *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* in Lung and Brain Glioma Cell Lines
Sevgi GEZİCİ, Didem KOCUM, Fatih YAYLA, Nazım ŞEKEROĞLU
- Kentsel Peyzajda Kullanılan Odunsu Taksonların Arı Çekme Potansiyelleri Bakımından Değerlendirilmesi: Artvin Kent Merkezi Örneği 986 - 998
Assessment of Woody Taxa Used in Urban Landscape in terms of Bee Plants Attributes; Artvin City Example
Derya SARI
- Stellaria kotschyana* (Caryophyllaceae) Taksonomisine Katkılar ve Yeni Bir Sinonim 999 - 1006
Contributions to the Taxonomy of *Stellaria kotschyana* (Caryophyllaceae) and a New Synonym for This Species
Lütfi BEHÇET, Yakup YAPAR
- Macrofungi Determined in Ulukışla (Niğde-Turkey) District 1007 -1015
Ulukışla (Niğde-Türkiye) Yöresinde Belirlenen Makromantarlar
Osman BERBER, Yasin UZUN, Abdullah KAYA



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

- Erken Dönemde Lavanta Bitkisinden Alman Çeliklerin Bazı in Vivo ve in Vitro Ortamlarda Köklendirilmesi 1016 - 1022
Cuttings Taken From the Lavender Plant in The Early Period For Rooting in Some in Vitro and in Vivo Conditions
Sheida DANESHVAR ROYANDAZAGH, Sefer DEMİRBAŞ, Elif Ceren PEHLİVAN, Selen YATKIN, İbrahim UZ
- Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. Bitkisinin Çelikle Çoğaltılmasında Farklı Yetiştirme Ortamları ile Oksinlerin ve Konsantrasyonların Etkisi 1023 - 1027
The Effect of Different Growing Media, Auxins and Concentrations on the Propagation of the *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. by Cuttings
Bekir Erol AK, Adil FİDANCI, İbrahim H HATİPOĞLU
- Hizan İlçesi (Bitlis) Papilionoidea ve Hesperioidea Faunası 1028 - 1035
Papilionoidea and Hesperioidea Fauna of Hizan District (Bitlis)
Evren AKBABA, Kesran AKIN
- Determination of Lethal Effects of Some Entomopathogenic Fungi on Different Biological Stages of *Leptinotarsa decemlineata* Say 1036 - 1041
Bazı Entomopatojen Fungusların *Leptinotarsa decemlineata* Say'nin Farklı Biyolojik Dönemleri Üzerindeki Ölümcül Etkilerinin Belirlenmesi
Havva Merve UYSAL, Ozan DEMİRÖZER, Asiye UZUN
- Buğday Bitkisinde Üç *Pratylenchus thornei* Popülasyonunun *Fusarium culmorum* ile Interaksiyonu 1042 - 1050
Interaction of Three Populations of *Pratylenchus thornei* with *Fusarium culmorum* in Wheat Plant
Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR, Şerife Evrim ARICI, İbrahim Halil ELEKCİOĞLU
- Efficacy of Entomopathogenic Fungi, *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* and *Metarhizium anisopliae* Against Green Shield bug, *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae) 1051 - 1060
Entomopatojenik funguslar; *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* ve *Metarhizium anisopliae*'nin *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae)'ya karşı etkileri
Şeyma YİĞİT, İslam SARUHAN
- BGN-1 kodlu Türk Diatom Toprağının Alman Hamamböceği (*Blatella germanica* L.)'nin Erginlerine Karşı Ölüm Etkisi 1061 - 1067
Mortality Effects of Turkish Diatomaceous Earth Coded BGN-1 Against German Cockroach (*Blatella germanica*) Adults
Kadir ÖZCAN, Hasan TUNAZ
- Bazı *Meloidogyne* Türlerinin (*M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 ve *M. luci* (Carneiro ve ark. 2014) Popülasyonlarının Virülitliğinin Belirlenmesi 1068 - 1076
Determination of Virulence of Some *Meloidogyne* species (*M. incognita* (Kofoid and White, 1919) Chitwood, 1949, *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 and *Meloidogyne luci* Carneiro et al. 2014 Populations
Betül GÜRKAN, Ramazan ÇETİNTAŞ
- The Effect of *Talaromyces funiculosus* ST976 Isolated from *Pistacia vera* Rhizosphere on Phosphorus Solubility in Soil Samples with Different Physicochemical Properties 1077 - 1085
Fıstık Ağaçları (*Pistacia vera*) Rizosferinden İzole Edilen *Talaromyces funiculosus* ST976'nın Farklı Fizikokimyasal Özelliklere Sahip Toprak Örneklerinde Fosfor Çözünürlüğüne Etkisi
Şahimerdan TÜRKÖLMEZ, Abdullah EREN, Göksel ÖZER, Sibel DERViŞ



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

- Phoma tracheiphila*'ya Karşı Bazı Fungisitlerin Etkinliğinin Araştırılması 1086 - 1097
Investigation of the Effectiveness of Some Fungicides Against *Phoma tracheiphila*
Mukaddes KAYIM, Merve YEŞİL, Ali ENDES
- Investigation of the Biocontrol Effectiveness of Some Bacterial Strains on Eggplant Gray Mold Disease (*Botrytis cinerea*) in in vitro and in vivo conditions 1098 - 1108
Patlıcanda Kurşuni Küf Hastalığı (*Botrytis cinerea*) Üzerine Bazı Bakteriyel İzolatların in vitro ve in vivo Koşullarda Biyolojik Mücadele Etkinliklerinin Araştırılması
Alican AKÇA, Elif TOZLU
- Determination of Irrigation Lengths in Vertisol Soils Using the Two-Point Infiltration Method and Kostiakov-Lewis Equation 1109 - 1118
İki Nokta İnfiltrasyon Yöntemi ve Kostiakov-Lewis Denklemi Kullanılarak Vertisol Topraklarda Sulama Uzunluklarının Belirlenmesi
Barış BAHÇECİ
- Seralarda Bir Günlük Toplam Sıcaklığa Göre Yapılan Dinamik Kontrol Stratejisine Bağlı Enerji Tasarrufunun Belirlenmesi 1119 - 1126
Determination of Energy Savings Based on a Dynamic Control Strategy Based on One-Day Total Temperature in Greenhouses
Abdullah Nafi BAYTORUN, Sait ÜSTÜN
- The Effect of Some Meteorological Parameters on Wireless Data Transmission 1127 - 1133
Bazı Meteorolojik Parametrelerin Kablosuz Veri İletimi Üzerindeki Etkisi
Celil Serhan TEZCAN, Kemal Sulhi GÜNDOĞDU
- Using Gene Expression Programming (GEP) for Modelling the Drying Characteristics of Onion Slices (*Allium Cepa*) 1134 - 1145
Soğan Dilimlerinin Kuruma Özelliklerinin Modellenmesinde Gen İfade Programlamasının (GEP) Kullanımı (*Allium Cepa*)
İsmail BOYAR, Tuğba KOVACI, Erkan DİKMEN, Arzu ŞENCAN ŞAHİN
- Kastamonu'da Yetiştirilen Ala Erik ile Ala Erikten Elde Edilen Üryani Eriğinin Toplam Antioksidan Aktivite, Toplam Fenolik Bileşik ve Toplam Flavonoid Madde İçeriklerinin Karşılaştırılması 1146 - 1153
Comparison of Total Antioxidant Activity, Total Phenolic Compound and Total Flavonoid Contents of Ala Plum Grown in Kastamonu and Üryani Plum Obtained from Ala Plum
Deren TAHMAS KAHYAOĞLU
- Effect of Ultrasound Pre-treatment on the Physical Characteristics of Corn During Drying 1154 - 1162
Ultrases Ön İşleminin Mısırın Kurutma Sırasındaki Fiziksel Özelliklerine Etkisi
Zana KARABOĞA, Ali YILDIRIM
- Pestisit Kullanımının Bal Verimi Üzerine Etkisi; Panel Veri Analizi 1163 - 1167
The Effect of Pesticide Uses on Honey Yield; Panel Data Analysis
Güngör KARAKAŞ
- Türkiye'deki Kırmızı Et ve Yemlik Buğday Piyasaları Arasındaki Oynaklık Aktarımlarının Ampirik Olarak Ortaya Konulması 1168 - 1180
Empirically Eliciting the Volatility Transmission between Red Meat and Forage Wheat Markets in Turkey
Faruk URAK, Abdulkali BİLGİÇ, Vedat DAĞDEMİR, Hüseyin ÖZER



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

[Arsuz Ovası Topraklarında Borun Kimyasal Fraksiyonlarının Belirlenmesi](#)

1181 - 1190

Determination of Chemical Fractions of Boron in Arsuz Plain Soils

Tuğba AVCI, Necat AĞCA

[Bazı Baklagil Ağaç Yapraklarının Alternatif Yem Kaynağı Olarak Besin Madde İçerikleri ve Sindirilebilirliklerinin Belirlenmesi](#)

1191-1197

Determination of Nutrient Content and Digestibility of Some Leguminous Tree Leaves as Alternative Feed Sources

Mustafa BOĞA, Barış Cem AVCI, Hatice Nur KILIÇ, Ayşe Gül CİVANER



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

HAKEMLER/Referees*

Dr. Nigusu ABERA	Salale Univ. Department Of Agricultural Economics, , ETHIOPIA
Prof. Dr. Hasan AKAN	Harran Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Şanlıurfa
Prof. Dr.Cuma AKBAY	KSÜ Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Kahramanmaraş
Prof. Dr.İzzet AKÇA	Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Samsun
Prof. Dr. Ebubekir ALTUNTAŞ	Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak. Biyosistem Müh. Böl. Tokat
Prof. Dr. Ebubekir ALTUNTAŞ	Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak. Biyosistem Müh. Böl. Tokat
Prof. Dr. Şerife Evrim ARICI	Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Isparta
Prof. Dr. Mehmet Atilla AŞKIN	Lefke Avrupa Üniv. Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fak. Lefke-KIBRIS
Doç. Dr. Tugay AYAŞAN	Osmaniye Korkut Ata Üniv. Kadirli Uygulamalı Bilimler Fak. Osmaniye
Prof. Dr. Erol BAYHAN	Dicle Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Diyarbakır
Prof. Dr. Sinan BAŞ	Ordu Üniv. Ziraat Fak. Zootekni Böl. Ordu
Doç. Dr. Sedat BOYACI	Kırşehir Ahi Evran Üniv. Ziraat Fak. Biyosistem Mühendisliği Böl. Kırşehir
Prof. Dr. İsmet BOZ	Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Samsun
Prof. Dr. Mehmet BOZOĞLU	Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Samsun
Prof. Dr. Mehmet BOZOĞLU	Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Samsun
Prof. Dr. Kenan BÜYÜKTAŞ	Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Yapılar ve Sulama Böl. Antalya
Dr. Öğr. Üyesi Özer ÇALIŞ	Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Antalya
Doç. Dr. Ali ÇAYLI	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Türkoğlu MYO Kahramanmaraş
Dr. Öğr. Üyesi Arzu COŞKUNTUNA	Tekirdağ Namık Kemal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Tekirdağ
Prof. Dr. Yusuf ÇELİK	Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Konya
Doç. Dr. Ömer Lütfü ÇORBACI	Recep Tayyip Erdoğan Üniv. Mühendislik ve Mimarlık Fak. Rize
Prof. Dr. Ali Rıza DEMİRKIRAN	Bingöl Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Bingöl
Doç. Dr. Ozan DEMİRÖZER	Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Isparta
Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ	Harran Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Şanlıurfa
Dr.Öğr.Üyesi Havva DİNLER	Uşak Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Uşak
Doç. Dr. Ziya DUMLUPINAR	KSÜ Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Kahramanmaraş
Dr. Salah <u>Said</u> Abd EL-GHANI	Agricultural Economic Department, National Research Centre, Giza, EGYPT
Prof. Dr. Mehmet Kubilay ER	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Kahramanmaraş
Doç. Dr. Engin EROĞLU	Düzce Üniv. Orman Fak. Peyzaj Mimarlığı Böl. Düzce
Prof. Dr. Can ERTEKİN	Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Tarım Makineleri ve Teknolojileri Müh.Böl. Antalya
Doç.Dr. Pembe EVCİ ÇÜRÜK	Osmaniye Korkut Ata Üniv. Kadirli Uygulamalı Bil.Fak. Gıda Tek.Böl. Osmaniye
Dr. Öğr. Üyesi F. Ebru FIRATLIGİL	İstanbul Teknik Üniv. Kimya-Metalurji Fak. Gıda Mühendisliği Böl. İstanbul
Doç.Dr. Sevgi GEZİCİ	Gaziantep Üniv. Tıp Fak. Temel Tıp Bilimleri Böl. Gaziantep
Doç.Dr. Sevgi GEZİCİ	Gaziantep Üniv. Tıp Fak. Temel Tıp Bilimleri Böl. Gaziantep
Prof. Dr. Uğur GÖZEL	Çanakkale Onsekiz Mart Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Çanakkale

* Soyada göre sıralanmıştır.



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Prof. Dr. Şadiye GÖZLEKÇİ

Doç.Dr. Celalettin GÖZÜAÇIK

Doç. Dr. Erdem GÜLÜMSER

Doç.Dr. Adem GÜNEŞ

Dr. Öğr. Üyesi Özlem GÜVEN

Dr. Öğr. Üyesi Abdussamat GÜZEL

Dr. Öğr. Üyesi Abdussamat GÜZEL

Prof. Dr. Ergin HAMZAOĞLU

Doç. Dr. İbrahim HÜSEYİNİ

Doç. Dr. Mesut ISIK

Prof. Dr. Memet İNAN

Doç. Dr. Şanlı KABAKTEPE

Prof. Dr. Harun KAMAN

Doç. Dr. Mustafa KAN

Prof. Dr. Salih KARABÖRKLÜ

Doç. Dr. Taki KARSLI

Dr. Öğr. Üyesi Elife KAYA

Doç. Dr. Kamuran KAYA

Doç. Dr. Mehmet KEÇECİ

Doç. Dr. Cumali KESKİN

Prof. Dr. Ünal KILIÇ

Doç. Dr. Dursun KISA

Prof. Dr. Fatma Neşe KÖK

Prof. Dr. Ömer İrfan KÜFREVİOĞLU

Prof. Dr. Kazım MAVİ

Prof. Dr. Abdul MEMON

Prof. Dr. Ferhad MURADOĞLU

Prof. Dr. Halil İbrahim OĞUZ

Doç. Dr. Adem ÖZARSLANDAN

Doç. Dr. Adem ÖZARSLANDAN

Prof. Dr. Sibel ÖZDEN

Dr. Öğr. Üyesi Aykut ÖZGÜR

Doç. Dr. Çağrı Özgür ÖZKAN

Prof. Dr. Emin ÖZKÖSE

Prof. Dr. Yasemin ÖNER

Prof. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ

Prof. Dr. Hülya Özgönen ÖZKAYA

Prof. Dr. Celaledin ÖZTÜRK

Prof. Dr. Kadir SALTALI

Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Antalya

Iğdır Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Iğdır

Bilecik Şeyh Edebali Üniv. Ziraat ve Doğa Bilimleri Fak. Tarla Bitkileri Böl. Bilecik

Erciyes Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Kayseri

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Kahramanmaraş

İnönü Üniv. Sağlık Hizmetleri MYO Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Böl. Malatya

İnönü Üniv. Sağlık Hizmetleri MYO Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Böl. Malatya

Gazi Üniv. Gazi Eğitim Fak. Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Böl. Ankara

Şırnak Üniv. İktisadi ve İdari Bilimler Fak. İktisat Böl. Şırnak

Bilecik Şeyh Edebali Üniv. Mühendislik Fak. Biyomühendislik Böl. Bilecik

Adıyaman Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Adıyaman

Malatya Turgut Özal Üniv. Battalgazi MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Malatya

Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Yapılar ve Sulama Böl. Antalya

Kırşehir Ahi Evran Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Kırşehir

Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Sakarya

Eskişehir Osmangazi Üniv. Ziraat Fak. Zootehni Böl. Eskişehir

KSÜ Teknik Bilimler MYO Gıda İşleme Böl. Kahramanmaraş

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

Malatya Turgut Özal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Malatya

Mardin Artuklu Üniv. Sağlık Hizmetleri MYO Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Böl. Mardin

Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat fak. Zootehni Böl. Samsun

Bartın Üniv. Fen Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl. Bartın

İTÜ Fen-Edebiyat, Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl. İstanbul

Atatürk Üniv. Fen Fak. Kimya Böl. Erzurum

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

Uşak Üniv. Fen Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl. Uşak

Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Bolu

Adıyaman Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Adıyaman

Mersin Üniv. Silifke Uygulamalı Teknoloji ve İşletmecilik Yüksekokulu Mersin

Mersin Üniv. Silifke Uygulamalı Teknoloji ve İşletmecilik Yüksekokulu Mersin

İstanbul Üniv. Eczacılık Fak. Eczacılık Meslek Bilimleri Bölüm

Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Artova MYO Veterinerlik Böl. Tokat

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Ziraat Fak. Zootehni Böl. Kahramanmaraş

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Ziraat Fak. Zootehni Böl. Kahramanmaraş

Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Zootehni Böl. Bursa

Bitlis Eren Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Bitlis

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Isparta

Selçuk Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Konya

KSÜ Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Kahramanmaraş



Doç. Dr. Burak SALTUK

Dr. Öğr.Üyesi Kamil SARP KAYA

Prof. Dr. Cengiz SAYIN

Dr. Öğr.Üyesi Erdem SEVEN

Prof. Dr. Soner SOYLU

Prof. Dr. Yurtsever SOYSAL

Dr. Öğr.Üyesi Akife DALDA ŞEKERCİ

Doç. Dr. Halit Deniz ŞİRELİ

Dr. Öğr.Üyesi Nuran TAPKI

Doç. Dr. Servet TEKİN

Prof. Dr. Ahmet Zafer TEL

Dr. Öğr.Üyesi Aslihan TIRNAKÇI

Prof. Dr. Rüveyde TUNÇTÜRK

Doç. Dr. Gökhan İsmail TUYLU

Prof. Dr. İbrahim TÜRKEKUL

Prof. Dr. İbrahim TÜRKEKUL

Prof. Dr. Mehmet Rifat ULUSOY

Prof. Dr. Dürdane YANAR

Prof. Dr. Yusuf YANAR

Doç. Dr. Gülsüm YALDIZ

Dr. Öğr.Üyesi Ersel YILMAZ

Dr. Öğr.Üyesi Gülçin YILDIZ

Dr. Öğr.Üyesi Tuncay YILMAZ

Prof. Dr. Emel YİĞİT

Alanya Alaaddin Keykubat Üniv. Rafet Kayış Mühendislik Fak. Alanya

Karabük Üniv. Orman Fak. Orman Mühendisliği Böl. Karabük

Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Antalya

Batman Üniv. Turizm Fak. Gastronomi ve Mutfak Sanatları Böl. Batman

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

Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Biyosistem Mühendisliği Böl. Hatay

Erciyes Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Kayseri

Dicle Üniv. Ziraat Fak. Zootekni Böl. Diyarbakır

Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Hatay

KSÜ Ziraat Fak. Biyosistem Mühendisliği Böl. Kahramanmaraş

Iğdır Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Iğdır

Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniv. Mühendislik-Mimarlık Fak. . Nevşehir

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

Harran Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Yapılar ve Sulama Böl. Şanlıurfa

Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Tokat

Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Tokat

Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Adana

Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Tokat

Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Tokat

Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Bolu

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

Iğdır Üniv. Turizm Fak. Gastronomi ve Mutfak Sanatları Böl. Iğdır

Manisa Celâl Bayar Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Manisa

İnönü Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Malatya

Spirogyra aequinoctialis'in Farklı Çözgenler İle Hazırlanan Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Etkileri

Köksal PABUÇCU¹, Tuğba DEMİRİZ YÜCER²

¹Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü, Erzincan, ²Karabük Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Karabük.

¹<https://orcid.org/0000-0002-4473-8002>, ²<https://orcid.org/0000-0002-2494-4511>

✉: tugbayucer@karabuk.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, sucul ortamlardan alınıp laboratuvar ortamına getirilerek izole edilen ve teşhis yöntemleri kullanarak tür tanımlaması yapılmış olan alg türü *Spirogyra aequinoctialis* ekstraktların çeşitli mikroorganizma türleri üzerinde antibakteriyal ve antifungal etkileri araştırılmıştır. *Spirogyra* ekstraktları, 0.5 M Tris-HCL pH:8.00, N-butanol ve Etanol ile hazırlanmıştır. Antimikrobiyal aktivite testleri, disk difüzyon yöntemi ile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Escherichia coli* O 157:H7, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Candida albicans* ATCC 10239 mikroorganizmaları üzerinde denenmiştir. Antibakteriyal aktivite testleri ile, *S. aequinoctialis*'in tampon ekstraktının, *Escherichia coli* O 157:H7 üzerinde oldukça etkili antibakteriyal özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşunun en duyarlı mikroorganizma, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşunun ise en dirençli mikroorganizma olduğu; en etkili çözücünün 0.5 M Tris-HCL pH:8.00 olduğu kaydedilmiştir. Antifungal aktivite testleri ile *S. aequinoctialis*'in etanol ekstraktının, *Candida albicans* ATCC 10239 üzerinde oldukça etkili antifungal özelliğe sahip olduğu görülmüştür.

Biyoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 05.08.2021

Kabul Tarihi : 07.10.2021

Anahtar Kelimeler

Spirogyra aequinoctialis

Antibakteriyal aktivite

Antifungal aktivite

Disk difüzyon metodu

Antibacterial and Antifungal Effects of Extracts of *Spirogyra aequinoctialis* Prepared with Different Solvents

ABSTRACT

In this study, the antibacterial and antifungal effects of algae species *Spirogyra aequinoctialis* extracts, which were taken from aquatic environments and brought to the laboratory environment and isolated by using diagnostic methods, on various microorganism species were investigated. *Spirogyra* extracts were prepared with 0.5 M Tris-HCL pH:8.00, N-butanol and Ethanol. Antimicrobial activities of the extracts were tested on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Escherichia coli* O 157:H7, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC, *Candida albicans* ATCC 10239 by disc diffusion method. As a result, it was determined that the buffer extract of *S. aequinoctialis* had highly effective antibacterial properties on *Escherichia coli* O 157:H7. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain was identified as the most susceptible microorganism, while *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 strain was the most resistant microorganism. It was also noted that the most effective solvent was 0.5 M Tris-HCL pH: 8.00. Antifungal activity tests showed that the ethanol extract of *S. aequinoctialis* had highly effective antifungal properties on *Candida albicans* ATCC 10239.

Biology

Research Article

Article History

Received : 05.08.2021

Accepted : 07.10.2021

Keywords

Spirogyra aequinoctialis

Antibacterial activity

Antifungal activity

Disc diffusion method

Atıf Şekli:	Pabuçcu K, Demiriz Yücer T 2022. <i>Spirogyra aequinoctialis</i> 'in farklı çözümler ile hazırlanan ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal etkileri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 927-932. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.979361
To Cite :	Pabuçcu K, Demiriz Yücer T 2022. Antibacterial and Antifungal effects of extracts of <i>Spirogyra aequinoctialis</i> prepared with different solvents. KSU J. Agric Nat 25 (5): 927-932. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.979361

GİRİŞ

Algler, yapıları itibariyle tek hücreli mikroskobik formlardan, birkaç metre uzunluğa kadar değişik morfolojilerde bulunabilen, genellikle sucul habitatlarda çok geniş bir yayılım gösteren ototrof, fotosentetik ökaryotik organizmalardır (Pereira ve Magalhaes, 2014).

Doğada yaşayan tüm organizmaların kendine ait bir savunma sistemi vardır. Bazı bakteriler, mantarlar ve bitkiler bu savunma sisteminde görev alan çeşitli bileşikler üretirler (Rauha ve ark., 2000). Alglerde de bulunan bu bileşikler sayesinde, bu canlılar kendi koruma sistemlerini güçlendirmektedirler. Bu maddeler, insanların yararına olabilecek şekilde değerlendirilmektedir (Yoldaş ve ark., 2003). Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalarda, alglerden elde edilen moleküllerin antibiyotik, antiviral, antikanser, antifungal, antibakteriyal, antiinflamatuvar gibi pek çok etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Nabavi ve ark., 2013; Srivastava ve ark., 2017). Ayrıca bu çalışmalar arasında hipokolestrolemik, enzim inhibisyonu ve diğer bazı farmakolojik etkilerin de olduğu da görülmüştür (Dvir ve ark., 2009). Alglerdeki bu doğal ürünler, ilaç sanayinde hammadde olarak kullanılmaya başlanmış ve aynı zamanda sentetik moleküllerin üretiminde de yapısal bir molekül olarak tercih edilmiştir (Quinn ve ark., 1993).

Algler, sahip oldukları karakteristik özelliklere göre özellikle kahverengi, kırmızı ve yeşil alglerin oluşturduğu makroalgler ile mikroalgler olarak hem birer doğal ürün hem de sentetik moleküllerin yapımında yapısal birer ajan olarak da rol almaktadırlar (Guiry ve Nic, 2001).

Algler geniş ve verimli antibakteriyel aktiviteye sahip antibiyotiklerin önemli bir kaynağıdır. Bu mikroorganizmaların antimikrobiyal aktivitesi, yağ asitleri, akrilik asitler, halojenlenmiş alifatik bileşikler, terpenoidler, steroller, sülfür içerikli heterosiklik bileşikler, karbonhidratlar, asetogenerler ve fenoller gibi bileşiklerin sentezlenme yeteneğine bağlıdır. Mikroalg ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi lipid bileşimi ile ilgilidir. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* gibi insan patojenlerine karşı alglerin antimikrobiyal aktivitesi, γ -linolenik asit, eikosapentaenoik asit, heksadekatrienoik asit, dokosaheksaenoik asit, palmitoleik asit, lorik asit, oleik asit, laktik asit ve arasidonik asit içerikleri ile bağlantılıdır (Demorais ve ark., 2015).

Bu çalışmada, *Spirogyra aequinoctialis*'in çeşitli çözümler ile hazırlanmış olan ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Alglerin İzolasyonu ve Kültürü

Yeşilirmak Nehri (Tokat) bentik ve pelajik habitatlarından su örneği alındıktan sonra laboratuvarında mekanik izolasyon ve mikro-enjeksiyon yöntemleri ile mevcut türler izole ve teşhis edildi. Çalışmada kullanılmak üzere *Spirogyra aequinoctialis* türü belirlendi ve daha sonra, Allen, BG11 medium ile Sanyo MLR 351 marka iklim kabininde 26 ° C'de (155 μ mol / m² /saat, L: D periyotta) sıvı kültürü yapıldı (Andersen, 2004). Akselik kültür aşamasında alg türü, önce Eppendorf ve Falkon tüplerinde, daha sonra erlenmayerlerde çoğaltılarak hasat edildi. Hasat işleminden sonra, antibakteriyal ve antifungal testlerde kullanılmak üzere kültür koleksiyonunda -86 ° C dondurucuda saklandı (Ripka ve ark., 1979; Lobban ve ark., 1988).

Antibakteriyal ve Antifungal Aktivite testleri için ekstrakt hazırlama

Alg türü -86 ° C dondurucudan çıkarılıp sıvı azotla porselen havan yardımıyla ezildi. Daha sonra üzerine solventler (0,5 M Tris-HCL pH:8,00, N-butanol, Etanol) ilave edilerek ekstraktlar oluşturuldu (Moniharapon ve Hashinaga, 2004; Sharma ve ark., 2004) ve aktivite testleri için hazırlandı.

Mikroorganizma Türleri

Elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerini araştırmak amacıyla 7 farklı test mikroorganizması seçildi. Bunlar; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Escherichia coli* O 157:H7, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445 ve *Candida albicans* ATCC 10239'dır. Hazırlanan mikroorganizma süspansiyonu, daha önce hazırlanmış olan 0.5 McFarland standardı ile karşılaştırılarak süspansiyonun bulanıklığı homojenize edildi (Şenol ve ark., 2007). Mikroorganizma kültürlerinden koloniler elde etmek amacıyla agar ortamına ekilmiş, 37 ° C'de 24 saat inkübasyondan sonra 4-5 adet iyi üreyen koloniden, öze yardımıyla %0,9'luk serum fizyolojik çözeltisine alındı. Hazırlanan mikroorganizma süspansiyonu,

daha önce hazırlanmış olan 0,5 McFarland standardı ile karşılaştırılarak süspansiyonun bulanıklığı ayarlandı.

Bakteriyal mikroorganizmalar, Nutrient Agar (NA) besiyerinde 37 °C'de 1 gece inkübe edilen bakteri süşlarından tek koloni alınarak 5 ml Nutrient Broth'a aşılandı ve 37 °C'de 18 saat inkübe edilen kültürler antibakteriyel etkinin tespit edilmesi amacıyla kullanıldı. Bakteri süşlerinin saflaştırılıp çoğaltılmasında ve antibakteriyel etkinin belirlenmesinde Nutrient Agar (NA) kullanıldı.

Antifungal Aktivite testinde kullanılan mikroorganizma

Antifungal aktivite testi için *Candida albicans* ATCC 10239 suşu kullanıldı.

Candida albicans, çeşitli virülans faktörlerine sahip olup, bunları konak savunma sistemleri tarafından yok edilmelerini önlemek için kullanmaktadır. Virülans faktörleri yardımıyla mikrobiyal flora ile rekabet ederek konağın farklı bölgelerinde enfeksiyonlara neden olmaktadır (Çerikçioğlu 2012).

Fungal mikroorganizmanın saflaştırılıp çoğaltılmasında ve antifungal etkinin belirlenmesinde Malt Extract Agar kullanıldı.

Disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel ve antifungal aktivite testleri

Disk difüzyon yönteminde, antimikrobiyal madde içeren kâğıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan süspansiyonun yayıldığı agar plakların yüzeyine belirli mesafelerde yerleştirildi. Çözünür ekstraktlar kültür ortamı içine nüfuz edip ve her mikroorganizma için uygun inkübasyon süresinden sonra, mikrobik büyüme disklerin etrafındaki inhibisyon zonu ile ölçüldü ve kaydedildi. Diskteki antimikrobiyal madde mikroorganizmaya etkili olduğu düzeylerde üremeyi inhibe etmektedir. Sonuç olarak, disk çevresinde mikroorganizma üremesinin inhibe edildiği dairesel bir inhibisyon alanı (zonu)

oluşturdu. İnhibisyon alanının çapı, mikroorganizmanın duyarlılığı ile direkt olarak ilişkilidir. Bu alanın çapı ölçülerek duyarlılık sınırı değerleriyle karşılaştırıldı. İnhibisyon alanının büyüklüğüne göre duyarlı, orta duyarlı veya dirençli olacak şekilde duyarlılık kategorileri belirlendi (Pérez, 2016).

Mikroorganizma süspansiyonuna steril eküvyon çubuğu daldırıldıktan sonra, besiyerinin her yerine yayıldı (Silici ve Koç, 2006). Alg ekstraktının emdirildiği diskler, besiyeri yüzeyine yerleştirildi. Bakteriler 37 °C'da 24 saat süre ile, *Candida albicans* 30°C'da 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda oluşan inhibisyon zonları ölçülüp, zon çapları mm (milimetre) olarak kaydedildi.

Kontrol grubu

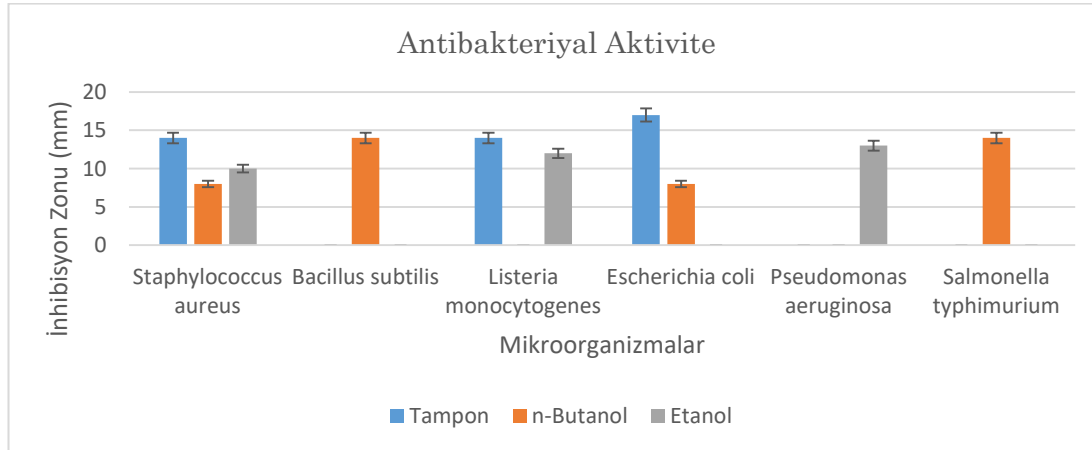
Pozitif kontrol grubu olarak, standart antibiyotik diskler ve negatif kontrol grubu olarak da çözgen (0.5 M Tris-HCL pH:8.00, n-Butanol, Etanol) emdirilmiş diskler kullanıldı. İnkübasyon sonucunda oluşan inhibisyon zon çapları mm (milimetre) ölçülerek karşılaştırmalar bu zon çap değerlerine göre yapıldı.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel aktivite testleri ile, *S. aequinoctialis*'in tampon ekstraktının, *Escherichia coli* O 157:H7 üzerinde oldukça etkili antibakteriyel özelliğe sahip olduğu tesbit edilmiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşunun en duyarlı mikroorganizma, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşunun ise en dirençli mikroorganizma olduğu; en etkili çözücünün 0.5 M Tris-HCL pH:8.00 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1).

Test mikroorganizmalarının tümü *S. aequinoctialis*'den elde edilen ekstraktlardan değişen oranlarda etkilenmiştir. Bu alg türünün test mikroorganizmalarına karşı etkili olduğu inhibisyon zon çapları mm (milimetre) değerlendirilerek tespit edildi.

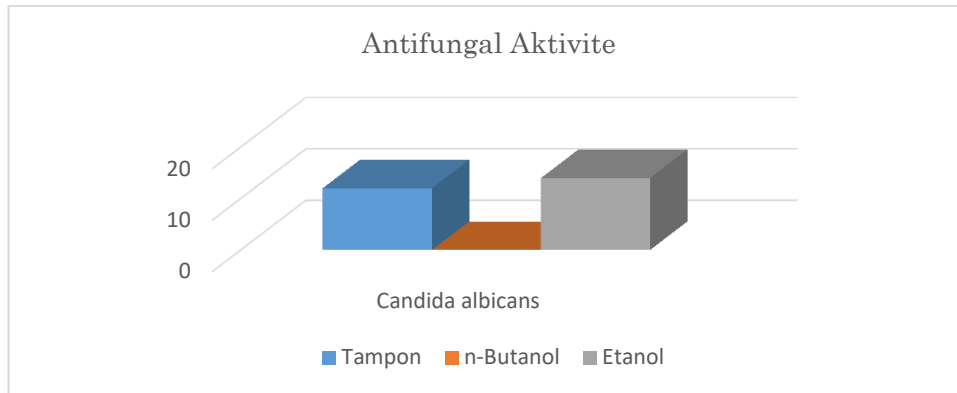


Şekil 1. *S. aequinoctialis*'e ait ekstraktların test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çap değerleri
Figure 1. Inhibition zone diameter values formed by extracts of *S. aequinoctialis* on test bacteria

Antifungal Aktivite

Antifungal aktivite testleri ile *S. aequinoctialis* in etanol ekstraktının, *Candida albicans* ATCC 10239 üzerinde oldukça etkili antifungal özelliğe sahip

olduğu ancak n-Butanol ekstraktının ise *Candida albicans* ATCC 10239 üzerinde antifungal etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *S. aequinoctialis* e ait ekstraktların test fungusu üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çap değerleri
Figure 2. Inhibition zone diameter values formed by the extracts of *S. aequinoctialis* on the test fungus

Pozitif kontrol

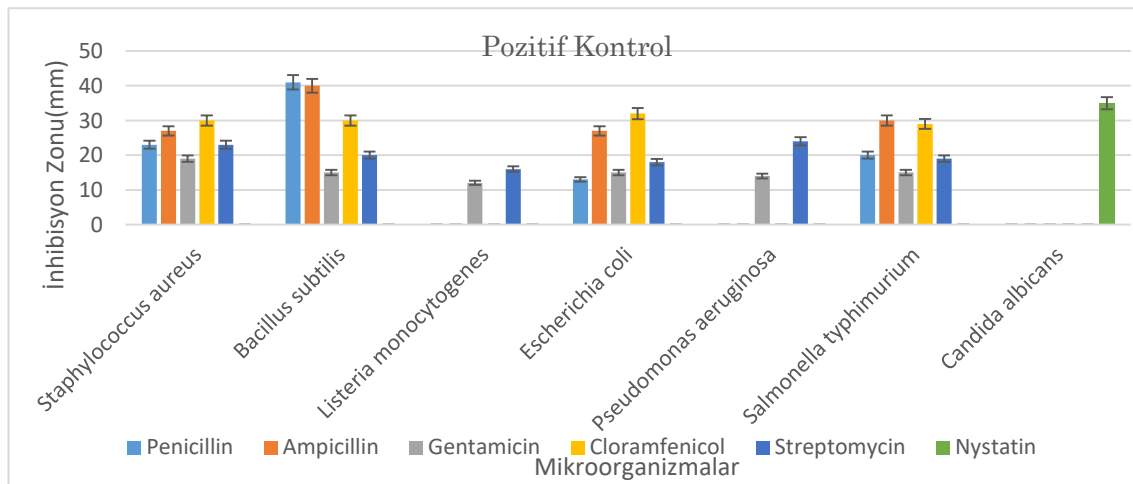
Pozitif kontrol çalışmaları sonucunda her mikroorganizmanın etkilendiği ya da duyarlı olduğu antibiyotik disklerle karşı bir inhibisyon zonu oluşturduğu görüldü (Şekil 3).

Negatif kontrol

Negatif kontrol çalışmalarında herhangi bir inhibisyon zonu oluşmadığı gözlemlendi.

Çalışmanın antimikrobiyal aktivite sonuçları irdelendiğinde; kullanılan çözücüler (0.5 M Tris-HCL

pH:8.00, N-butanol, Etanol) içerisinde en yüksek aktiviteyi tampon çözeltisi ile hazırlanan ekstraktlar; en düşük aktiviteyi ise N-butanol ile hazırlanan ekstraktlar gösterdi. Kullanılan test mikroorganizmaları içerisinde *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* O 157:H7 ve *Candida albicans* ATCC 10239 duyarlı, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445 ise orta derecede duyarlı bulundu.



Şekil 3. Antibakteriyel ve Antifungal Pozitif kontrol test sonuçları
Figure 3. Antibacterial and Antifungal Positive control test results

Dayuti (2018) yapmış olduğu çalışmada, bir kırmızı alg türü olan *Gracilaria verrucosa* nın çeşitli çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktlarının antibakteriyel etkisini araştırmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, tüm ekstraktlar arasındaki en yüksek inhibisyon aktivitesinin metanol ekstraktında ve *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium*'a karşı

olduğunu bildirmiştir. Spirogyra ile yapılan çalışma ve Dayuti'nin çalışmasında, etkileyici organizmalar farklı olsa da etkilenen mikroorganizma türleri arasında bir benzerlik görülmektedir. Bu organizmaların, algal biyoaktif bileşiklerden etkilendiği gözlenmektedir.

Mansuya ve ark. (2010), yeşil alglerden; *Cladophora*

glomerata, *Ulva lactuca*, *Ulva reticulata*, kırmızı alglerden; *Gracilaria corticata*, *Kappaphycus alvarezii* ve kahverengi alglerden; *Sargassum wightii* ekstraktlarının disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktivitesini araştırmışlar ve maksimum aktiviteyi (45 mm) *Ulva reticulata* su ekstraktının 200 mg'ı *Salmonella typhi*ye karşı, minimum aktiviteyi (9 mm) ise *Ulva lactuca* su ekstraktının 50 mg'ı *Streptococcus pyogenes*'e karşı kayıt etmişlerdir. Metanol ekstraktlarının su ekstraktlarından daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Maksimum aktivite (40 mm) *Escherichia coli* ve *Streptococcus pyogenes*'e karşı *Ulva reticulata*'nın metanol ekstraktının 200 mg'ında belirlenmiştir. Alglerin tamamının ham metanol ekstraktları tüm test patojenlerine karşı inhibe edici etki göstermiş ve *Ulva reticulata* ekstraktının en etkili tür olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, *Ulva reticulata*'nın su ekstraktının *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı inhibe edici etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada da *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşunun en dirençli mikroorganizma olduğu bulgusu benzerlik göstermektedir.

Saleh ve Al-Mariri (2017)'nin yaptıkları çalışmada, *Halimeda* sp.'nin antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Çalışmada kullanılan algin metanol ekstraktının, Gram pozitif bakteriler (*B. subtilis*, *S. aureus* ve *B. cereus*), Gram negatif bakteriler (*P. aeruginosa*, *E. coli*), maya (*C. albicans*) ve küflere (*A. niger*) karşı antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. *Halimeda* sp.'nin *B. subtilis*, *S. aureus* ve *B. cereus*'un büyümesini inhibe ettiğini gözlenmiştir. Sonuçların bu çalışmadaki aktivite ile bir benzerlik gösterdiği kaydedilmiştir.

Ulva reticulata'nın biyolojik aktivite çalışmasında, çözen olarak n-butanol kullanılmış ve *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus* ve *Listeria monocytogenes* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. *Ulva reticulata* n-butanolik ekstraktının, test edilen bakteri suşlarına karşı önemli bir antibakteriyel aktivite gösterdiği ifade edilmiştir. Test edilen tüm konsantrasyonlarda (25-100 mg/ml) maksimum antibakteriyel aktivite *Escherichia coli* (12 mm) ve *Bacillus cereus* (13 mm)'a karşı ortaya çıkmıştır (Ravikumar ve ark., 2016). Bu çalışmada da diğer bakteri suşlarına nazaran, *Escherichia coli* O 157:H7'nin en duyarlı bakterilerden olduğu tespit edilmiştir.

Patra ve Baek (2016) tarafından yapılan çalışmada, yenilebilir bir deniz yosunu olan *Ulva linza* (yeni adı *Enteromorpha linza*)'dan elde edilen uçucu yağın gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyel etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda 25

mg/disk'teki *U. linza* yağının, *Bacillus cereus* (12.3–12.7 mm inhibisyon bölgesi) ve *Staphylococcus aureus*'a (12.7–13.3 mm inhibisyon bölgesi) karşı oldukça aktif olduğu görülmüştür. *U. linza* yağının minimum inhibitör ve minimum bakterisidal konsantrasyon değerlerinin 12.5-25 mg mL⁻¹ arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise *Spirogyra aequinoctialis*'in etki oranları, *Staphylococcus aureus*'a (8.0–14.0 mm inhibisyon bölgesi) ve *Bacillus subtilis*'e (14.00 mm inhibisyon bölgesi) karşı oldukça aktif olduğu görülmüştür.

Kaushik ve ark. (2008)'nin bir *Cyanobacteria* olan *Nostoc commune* ile yaptıkları çalışmada test bakterileri olarak pek çok Gram (+) ve Gram (-) bakteri kullanılmış ve en fazla inhibisyon zonu Gram pozitif bir bakteri olan *Staphylococcus aureus*'a karşı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada ise en duyarlı mikroorganizma *Staphylococcus aureus* olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar Kaushik ve ark. (2008)'nin bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Okunowo ve ark. (2017)'nin *Spirogyra setiformis* ve *Navicula* alglerini kullanarak yaptığı çalışmada, mikroorganizma olarak *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Candida albicans* ve çözücü olarak metanol kullanılmıştır. *S. setiformis*'in metanol ekstraktının, *S. typhi* ve *C. albicans* dışında diğer tüm test mikroorganizmaları üzerinde iyi inhibitör aktivite gösterdiği; *Navicula* spp. ekstraktının, tüm mikroorganizmaları inhibe ettiğini ifade edilmiştir. Bu çalışmada ise, en etkili çözücünün 0.5 M Tris-HCL pH:8.00 olduğu ve kullanılmış olan mikroorganizmaları değişen oranlarda inhibe ettiği görülmüştür. Bu açıdan bulgular paralellik göstermiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bakteri ve mantar enfeksiyonları toplumda sık görülen hastalıklardan olup, tedavileri uzun ve bazı durumlarda da yüksek maliyet gerektirmektedir. Bu gibi enfeksiyonlar, hastaların günlük yaşam kalitesini düşürmekte ve ciddi oranda mortalite ve morbiditeye neden olabilmektedir. Bu enfeksiyonların tedavisi için kullanılan antibakteriyel ve antifungaller sınırlı kalmakta ve yeni bileşiklerin tanımlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada kullanılan *S. aequinoctialis*'in antibakteriyel ve antifungal özellikleri açısından yararlı bir organizma olduğu görülmüş ve bu etkilerden sorumlu metabolitlerin izolasyonu için aksenik ve kitlesel üretimlerinin gerektiği; bu aşamalardan sonra, farmasötik bir ürüne dönüştürülebileceği 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

- Andersen R A 2004. Algal Culturing Techniques. Elsevier Academic Press, Phycological Society, New York, 356 sy.
- Çerikçioğlu N 2012. Mantarlarda virulans faktörleri. ANKEM Dergisi 26(2): 261-269.
- Dayuti S 2018. Antibacterial Activity of Red a Algae (*Gracilaria verrucosa*) Extract Against *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing 137 (1):012074.
- Demorais MG, Silvavaz BD, Morais E G, Vieira Costa J A 2015. Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. Laboratory of Microbiology and Biochemistry, J. Nat. Prod. 75 (3): 311-335.
- Dvir I, Stark AH, Chayoth R, Madar Z, Arad SM 2009. Hypocholesterolemic Effects of Nutraceuticals Produced from the Red Microalga *Porphyridium* sp. in Rats. Nutrients 1(2): 156-167.
- Guiry MD, Nic Dhonncha E 2001. Algae Base. Online document at: www.algaebase.org.
- Kaushik P, Chauhan A, Chauhan G, Goyal P 2008. Evaluation of *Nostoc commune* for Potential Antibacterial Activity and UV-HPLC Analysis of Methanol Extract. Int J Microbiol. 5(1): 1-5.
- Lobban CS, Chapman DJ, Kremer BP 1988. Experimental Phycology A Laboratory Manua. Chambridge Univ.Press, 2941 sy.
- Mansuya P, Aruna P, Sridhar S, Kumar JS, Babu S 2010. Antibacterial Activity and Qualitative Phytochemical Analysis of Selected Seaweeds from Gulf of Mannar Region. Journal of Experimental Sciences 1(8):23-26.
- Moniharapon E, Hashinaga F 2004. Antimicrobial Activity of Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk) Fruit Extract. Pakistan Journal of Biological Sciences 7(6): 1057-1061.
- Nabavi SF, Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Jafari N, Yazdanpanah S 2013. Biological Activities of Freshwater Algae, *Spirogyra singularis* Nordstedt. Journal of Aquatic Food Product Technology 22:58-65.
- Okunowo WO, Oyedeji AO, Ilesanmi JA, Afolabi LO, Umunmakwe IE 2017. Antimicrobial, Antioxidant Potential and Chemical Composition of the Methanolic Extracts of *Spirogyra setiformis* and *Navicula* species. Journal of Scientific Research and Development 17(1): 15-20.
- Patra JK, Baek KH 2016. Antibacterial Activity and Action Mechanism of the Essential Oil from *Enteromorpha linza* L. against Foodborne Pathogenic Bacteria. Molecules 21(3): 388.
- Pérez M J, Falqué Eand Domínguez H 2016. Antimicrobial Action of Compounds From Marine Seaweed. Mar. Drugs 14 (3): 52.
- Pereira L, Magalhaes J 2014. Neto, Marine Algae, Biodiversity, Taxonomy, Environmental Assessment and Biotechnology. CRC Press, 398sy.
- Quinn J, Li HH, Singer J, Morimoto B, Mets L, Kindle K, Merchant S 1993. The Pastocyanin-Deficient Phenotype of *Chlamydomonas reinhardtii* Ac-208 Results From a Frame-shift Mutation in the Nuclear Gene Encoding Preapoplastocyanin. J. Biol. Chem. 268 (1): 7832-7841.
- Rauha J, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kahkonen M, Kujala T, Pihlaja K, Vuorela H, Vuorela P 2000. Antimicrobial Effects of Finnish Plant Extracts Containing Flaconoids and Other Phenolic Compounds. Intern. J. Food Microbiol. 56: 3-12.
- Ravikumar S, Anburajan L, Meena B 2016. Antibacterial Activity of *Ulva reticulata* from Southwest Coast of Kanyakumari. India. Journal of Coastal Life Medicine 4 (3): 246-247.
- Rippka R, Deruelles J, Waterbury JB, Herdman M, Stanier RY 1979. Generic Assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria. J. Gen. Microb. 111: 1-61.
- Saleh B, Al-Mariri A 2017. Antimicrobial Activity of the Marine Algal Extracts Against Selected Pathogens. J Agric Sci Tech. 19:1067-1077.
- Sharma N, Gruszewski H A, Park S W, Holm D G, Vivanco J M 2004. Purification of an Isoform of Patatin with Antimicrobial Activity Against *Phytophthora infestans*. Plant Physiology and Biochemistry 42: 647-655.
- Silici S, Koc AN 2006. Comparative Study of *In vitro* Methods to Analyse the Antifungal Activity of Propolis Against Yeasts Isolated from Patients with Superficial Mycoses. Letters in Applied Microbiology 43 (3):318-324.
- Srivastava N, Sueela MR, Toppo K, Lawrence R, 2017. Antimicrobial Activity of Some Potential Green Algal Strains Isolated from Bundelkhand Region Uttar Pradesh. International Journal of Medicine and Pharmaceutical Science (IJMPS) 7(4):15-26.
- Şenol G, Kirakli C, Halilçolar H 2007. In vitro Antibacterial Activities of Oral Care Products Against Ventilator-Associated Pneumonia Pathogens. American Journal of Infection Control 35(8): 531-535.
- Yoldaş MA, Katırcıoğlu H, Beyatlı Y 2003. Bazı Mavi- Yeşil Alglerin (Cyanophyta- Cyanobacteria) Poli-β-hidroksibütirat (PHB) Üretimi ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 20 (3): 467-471.

Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using White Propolis Extract as a Reduction Agent and Optimized by Box-Behnken Design

Nazan GÖKŞEN TOSUN^{1*}, Özlem KAPLAN²

¹Department of Biomaterials and Tissue Engineering, Institute of Graduate Studies, Tokat Gaziosmanpaşa University, Tokat, Türkiye,

²Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science, Istanbul University, Istanbul, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-5269-1067>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3052-4556>

✉: nazan.goksen5418@gop.edu.tr

ABSTRACT

In this study, it was aimed to optimize the biosynthesis of silver nanoparticles with a Box-Behnken design. The white propolis extract was utilized as the reduction and stabilizing agent. The synthesized silver nanoparticles using white propolis extract solution were optimized by Box-Behnken design considering the effect of certain independent variables such as microwave power, time, and concentration of AgNO₃ (silver nitrate). A quadratic polynomial model was used in mathematical modeling and response surface analysis was performed to determine the independent variable-response relationship. The optimum synthesis conditions were determined as 10 mM of AgNO₃ concentration, 0.3 of VExt/VAg, 150 watts of microwave power, and 35 seconds. The optimized silver nanoparticles were characterized using FTIR (Fourier Infrared) spectroscopy, UV-VIS (Ultraviolet visible) spectrophotometry, and DLS (Dynamic Light Scattering). In addition, the antibacterial activity of the optimized silver nanoparticles was tested against *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), and *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) strains. It was observed that synthesized silver nanoparticles had higher antibacterial activity compared to propolis extract.

Biology

Research Article

Article History

Received : 31.05.2021

Accepted : 01.10.2021

Keywords

Biosynthesis
Box-Behnken Design
Green Synthesis
Propolis
Silver Nanoparticles

Gümüş Nanopartiküllerin Beyaz Propolis Ekstresi Kullanılarak Biyosentezi ve Box-Behnken Yöntemi ile Optimizasyonu

ÖZET

Bu çalışmada gümüş nanopartiküllerin biyosentezinin Box-Behnken yöntemi ile optimize edilmesi amaçlandı. Beyaz propolis özütü, bir indirgeme ve stabilize edici ajan olarak kullanıldı. Beyaz propolis özüt çözeltisi kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküller, mikrodalganın gücü, zaman, AgNO₃ (gümüş nitrat) konsantrasyonu ve beyaz propolis özüt çözeltisinin hacminin AgNO₃ hacmine oranı gibi farklı faktörlerin etkisi dikkate alınarak Box-Behnken yöntemi ile optimize edildi. Matematiksel modellemede ikinci dereceden polinom modeli kullanıldı ve bağımsız değişken-yanıt ilişkisini belirlemek için yanıt yüzey analizi yapıldı. Optimum koşullar 10 mM AgNO₃ konsantrasyonu, oran: 0.3, 150-watt mikrodalga gücü ve 35 saniye olarak belirlendi. Optimize edilmiş gümüş nanopartiküller, FTIR (Kızılötesi) spektroskopisi, UV-VIS (Ultraviyole görünür bölge) spektrofotometri ve DLS (Dinamik ışık saçılımı) kullanılarak karakterize edildi. Ek olarak, optimize edilmiş gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitesi *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ve *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) suşlarına karşı test edildi. Gümüş nanopartiküllerin bakteriler üzerinde propolis ekstraktına göre daha etkili olduğu gözlemlendi.

Biyoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 31.05.2021

Kabul Tarihi : 01.10.2021

Anahtar Kelimeler

Biyosentez
Box-Behnken Dizayn
Yeşil sentez
Propolis
Gümüş nanopartikül

- To Cite :** Gökşen Tosun N, Kaplan Ö, 2022. Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using White Propolis Extract as a Reduction Agent and Optimized by Box-Behnken Design. KSU J. Agric Nat 25 (5): 933-945. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.945859>.
- Atf İçin:** Gökşen Tosun N, Kaplan Ö, 2022. Gümüş Nanopartiküllerin Beyaz Propolis Ekstresi Kullanılarak Biyosentezi ve Box-Behnken Yöntemi ile Optimizasyonu. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 933-945. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.945859>.

INTRODUCTION

The nanoparticle-based investigation has been sustained widely because of its potential applications, especially in the interdisciplinary sciences and nanotechnology field (Antoine et al., 2016). Metallic nanoparticles have attracted great interest in nanomedicine due to their unique properties such as surface area, particle size, and effective biological activities. Metallic nanoparticles can be synthesized using physical, chemical, and biological methods. All these methods have advantages and disadvantages. For example, chemical methods are expensive because they require special chemical agents, and most of them are very toxic. (Mohanpuria, Rana, and Yadav, 2008). The physical methods often require high temperature or pressure. On the other hand, natural resources used in biological methods have low toxicity and the reaction can occur at room temperature. The biological methods can be applied in microbiology because natural resources are safe, eco-friendly, and cheap (Padalia, Moteriya, and Chanda, 2015). In this context, numerous plant extracts have been utilized as a biological reduction agent in the synthesis of silver nanoparticles (Cho et al., 2005; Khadri et al., 2013; Joy Prabu and Johnson, 2015; Garibo et al., 2020). As an antimicrobial and anti-cancer agent, silver nanoparticles are utilized in several applications such as in cosmetics, water purification, medical diagnostic (Kaplan et al., 2021), and textile (Li, Mathew, and Mao, 2012). Silver nanoparticles are important biomaterials thanks to their antimicrobial activity and can also help overcome antimicrobial resistance (Khatoun et al., 2018).

Propolis, which is produced and used by bees to build honeybee comb, is used by humans as a supplementary food (Burdock, 1998; Banskota, Tezuka, and Kadota, 2001). Silver nanoparticles synthesized using Brazilian propolis have been reported to exhibit effective antimicrobial activity (Barbosa et al., 2019). On the other hand, synthesized silver nanoparticles using Brazilian green propolis have been executed to show antifungal activity and lower cytotoxic effects (Kischkel et al., 2020). Propolis extract produced in Romania has been used to reduce Ag⁺ and synthesized silver nanoparticles have been shown to exhibit an antibacterial effect on *S. aureus* and *P. aeruginosa* (Corciová et al., 2019). Silver nanoparticles synthesized using propolis produced by *Apis mellifera* honey have been revealed to inhibit some bacterial strains (Ghramh et al., 2019). The

white propolis is Turkish propolis and has been used for years as a medicine in folk medicine (Katircio and Mercan, 2006). White propolis has various biological properties such as antimicrobial and antioxidant activity (Ozdal et al., 2019).

This study aims to optimize the biosynthesis of silver nanoparticles by using white propolis extract solution. In the literature, some researchers have reported the use of the Box-Behnken design (BBD) to optimize the synthesis of silver nanoparticles (Gökşen Tosun and Kaplan, 2021; Yadav, Gupta and Sharma, 2021). The BBD has been widely used in many scientific fields such as formulation development and analytical chemistry (Kumar Nayak, Saquib Hasnain and Malakar, 2013; Nayak, Kalia and Hasnain, 2013; Malakar, Das and Nayak, 2014; Hasnain et al., 2016). In this study, the synthesis of silver nanoparticles was optimized using BBD and the produced silver nanoparticles were characterized. In addition, antimicrobial activities of nanoparticles produced under optimized conditions were tested on gram-negative and gram-positive bacteria. The obtained results are comprehensively presented to support the hypothesis of the study based on the green synthesis of nanoparticles using white propolis extract solutions.

MATERIAL and METHOD

Materials

The white propolis was purchased from MADEVA (Ankara, Turkey). Silver nitrate (AgNO₃) (Carlo Erba), sodium hydroxide (NaOH), the filter discs, and nutrient agar were obtained from Sigma Aldrich Chemicals (Istanbul, Turkey). Deionized water was used in all stages, from the nanoparticle's synthesis to its purification. The sterilized water was used for antimicrobial studies.

Preparation of White Propolis Extract

The white propolis (15 mL) was dissolved in 15 mL of distilled water. After that, the obtained extract was stored at 4 °C for further studies.

Synthesis of Silver Nanoparticles Using White Propolis Extract

For the synthesis of silver nanoparticles, a certain volume of AgNO₃ (5-10 mM) solution was added to a certain volume of extract so that the VExt/VAg was within a certain range (0.1 - 0.5) and the solution was stirred using a magnetic stirrer. Finally, the solution

was diluted with 0.1 M NaOH solution to adjust the pH to 10.6 (Kischkel et al., 2020). The solution was heated by microwave (10 s-60 s) and in a certain power range of 150 - 800 watts. The reduction process of silver ions was observed by the color change from yellowish to brownish or deep brown depending on the reaction conditions. The synthesized silver nanoparticles were centrifuged at 15000 rpm for 15 minutes and washed twice with deionized water, dried, and stored at 4 °C in the dark.

Optimization of Silver Nanoparticles

The optimization of silver nanoparticles was realized via BBD by using Design Expert® ver. 12.0 software. Four effective factors including the power of microwave (power), time, AgNO₃ concentration, and the ratio of the volume of white propolis extract solution to a volume of AgNO₃ (VExt/VAg) were selected as independent factors for optimization at three different levels which were changed dependent

of the factors. A total of 29 experiments calculated by the design were recommended as shown in Table 1.

The formation of silver nanoparticles was confirmed by the observed peak between 350-450 nm (Kischkel et al., 2020). The absorbance data of the synthesized silver nanoparticles were measured by a UV-vis spectrophotometer. The % yield was determined as the maximum measured absorbance value of 100 and the other data were calculated accordingly, and the particle formation was defined as the % yield at a range of 350-450 nm, and these values were placed in BBD as responses. After placing the data in the BBD, mathematical modeling was created to evaluate the results. The quadratic model was determined by ANOVA along with other parameters such as correlation coefficient (r²), adjusted r², predicted r², and predicted residual squares. Ideal circumstances for the synthesis of silver nanoparticles have been optimized by numerical desirability function and graphical optimization technique.

Table 1. The BBD of matrix illustrating trial runs carried out for optimization of synthesized silver nanoparticles using white propolis extract solution.

Çizelge 1. Beyaz propolis özü çözültüsü kullanılarak sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin optimizasyonu için gerçekleştirilen deneme çalışmalarını gösteren matrisin Box-Behnken Tasarımı.

Run	Concentration of AgNO ₃ (mM)	The volume of AgNO ₃ / Volume of extract	Power(Watt)	Time (sec.)	%Yield
1	5	0.3	475	10	28.2114
2	7.5	0.1	475	10	62.6016
3	7.5	0.5	800	35	64.065
4	5	0.3	150	35	30.813
5	7.5	0.1	800	35	51.3821
6	5	0.1	475	35	48.6179
7	10	0.5	475	35	65.6098
8	7.5	0.3	475	35	89.9187
9	7.5	0.1	475	60	54.4715
10	10	0.1	475	35	63.8211
11	7.5	0.3	475	35	89.9187
12	7.5	0.3	150	10	61.1382
13	10	0.3	475	60	68.6179
14	7.5	0.3	800	60	51.7073
15	10	0.3	150	35	100
16	7.5	0.1	150	35	86.9919
17	7.5	0.3	475	35	89.9187
18	7.5	0.5	475	60	55.8537
19	7.5	0.5	475	10	43.4146
20	7.5	0.3	475	35	89.9187
21	7.5	0.3	475	35	89.9187
22	10	0.3	800	35	46.9919
23	5	0.3	475	60	44.5528
24	10	0.3	475	10	66.0976
25	5	0.3	800	35	56.9919
26	7.5	0.5	150	35	55.2846
27	5	0.5	475	35	20.813
28	7.5	0.3	150	60	78.4553
29	7.5	0.3	800	10	56.4228

Characterization of Optimized Silver Nanoparticles Using White Propolis Extract

The formation of silver nanoparticles was determined by scanning the 200-500 nm range using a Nanodrop

DeNovIX spectrophotometer (Wilmington, USA). The synthesized silver nanoparticles were also chemically characterized by using an FTIR spectroscope (Jasco FT/IR 4700, Germany). Zeta potential and size

distribution of optimized silver nanoparticles were measured by dynamic light scattering method using HORIBA SZ-100 Nanoparticle Analyzer.

Antibacterial Activity of White Propolis Extract And Silver Nanoparticles

To determine the antibacterial activity of the optimized silver nanoparticles, white propolis extract and optimized silver nanoparticles were tested against *S. aureus* (ATCC 25923), *K. pneumoniae* (ATCC 1538and 0), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), and *E. faecalis* (ATCC 29212) strains using disc diffusion method. Firstly, bacterial strains were seeded in nutrient broth and incubated overnight at 210 rpm, 37 °C. At the end of the incubation time, the cultured bacterial suspension was adjusted to 1×10^8 CFU / mL and seeded on the medium-loaded petri dish. After those sterile blank discs, which are used generally for the disc diffusion method, were placed on the petri dish. One of the discs was loaded with 20 µL of white propolis extract and the other was loaded with 20 µL of the silver nanoparticles solution then the petri dish was incubated overnight at 37 °C. Subsequently, zone diameters of inhibition were measured. Three replicates were made for each substance.

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of White Propolis Extract And Silver Nanoparticles

MIC assay of silver nanoparticles and white propolis extract were analyzed as indicated in our previous study (Kaplan and Gökşen Tosun, 2021). Briefly, the nutrient broth was added to each well of the 96-well plate for serial dilution of white propolis and silver nanoparticles. The bacterial suspensions were adjusted to 1×10^8 CFU / mL and seeded in each well after that the plates were incubated overnight at 37 °C. The plates were measured at 600 nm by using Plate Reader. Three replicates were made for each substance.

Statistical Analysis

Statistical analysis and comparable data sets were $\%Yield = 89.92 + 15.09 * A - 5.24 * B - 7.09 * C + 2.98 * D + 7.40 * AB - 19.80 * AC - 3.46 * AD + 11.10 * BC + 5.14 * BD - 5.51 * CD - 21.61 * A^2 - 17.63 * B^2 - 9.22 * C^2 - 17.80 * D^2$

Factor-response relationship and response surface mapping

Response surface analysis (RSA) was obtained using 3D response surface plots and 2D contour plots, which elucidated the existence of interactions among the factors and their impacts on the response factor. The RSA plots for a percentage of yields of silver nanoparticles were shown in Figure 2. The relationship between AgNO₃ concentration and VExt/VAg was shown in Figure 2(A). In cases where VExt/VAg was particularly above 0.4 and AgNO₃

evaluated using GraphPad Prism 8.1 software with a two-way ANOVA test. Probability values of $p < 0.05$ were considered statistically significant.

RESULTS and DISCUSSION

Synthesis of silver nanoparticles using white propolis extract

Numerous studies have shown that various plant extracts have been used for the green synthesis of silver nanoparticles in the last few years (Lin et al., 2010; Roy and Barik, 2010; Raghunandan et al., 2011; Bansal et al., 2020). In this paper, the biosynthesis method was preferred to produce silver nanoparticles using white propolis extract. White propolis extracts were used as a reduction agent in the synthesis of silver nanoparticles because of their important biological ingredients used to treat various diseases (Nagai et al., 2003).

Optimization of Silver Nanoparticles

To optimize the synthesis procedure of silver nanoparticles, the BBD method of the Design Expert® ver. 12.0 software was used (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA). To calculate the percentage yield of particle formation, their absorbance values were measured by UV-Vis at 350-500 nm and optimized as responses. Power, time, AgNO₃ concentration, and VExt/VAg were determined as factors at three different levels which were changed depending on the factors. The acquired data coincided with the quadratic polynomial model and various statistical parameters were utilized to fit the analysis. After that, the model demonstrated the existence of interaction, the curvature effect was performed, and the polynomial equation was generated for the response factor. The parameter of coefficient of correlation was calculated as perfectly in the range between 0.9915 along with great values of predicted and adjusted r^2 , and low values of PRESS. Additionally, model diagnostic graphs for response are shown in Figure 1, showing that the data is parallel to the selected model.

concentration was between 5 mM and 6 mM, the percentage yield of particle formation tends to be minimal. However, at the medium and low levels of VExt/VAg, the increase in AgNO₃ concentration showed a sharp rising pattern to high levels. In addition, the effect of VExt/VAg on the particle formation efficiency showed a decreasing trend at around 0.4 to 0.5 levels. The 3D graph and 2D plot of the relationship between AgNO₃ concentration and power were indicated in Figure 2(B).

When the relationship between AgNO₃ concentration

and power was evaluated, it was observed that the effect of these two parameters on the particle formation efficiency was inversely proportional. As the power was at a minimum and AgNO_3 concentration was at a maximum level, the percentage of particle formation was determined at its highest. Moreover, the relationship between AgNO_3 concentration and the time was similar to the relationship between AgNO_3 concentration and VExt/VA,g and its 3D response surface plots and 2D contour plots were depicted in Figure 2(C). The relationship between power and VExt/VAg was

indicated in 3D response surface plots and 2D contour plots in Figure 3(A). When VExt/VAg was between 0.1 and 0.4 and power was below 400 watts, it was determined that the particle formation percentage was over 90%. In addition, the relationship between VExt/VAg and time showed that when both were at a medium level, the particle formation percentage was seen to be high (Figure 3(B)). Lastly, the relationship between time and power was determined and the high level of the percentage of particle formation was observed over 25 seconds and less than 670 watts, as shown in Figure 3(C).

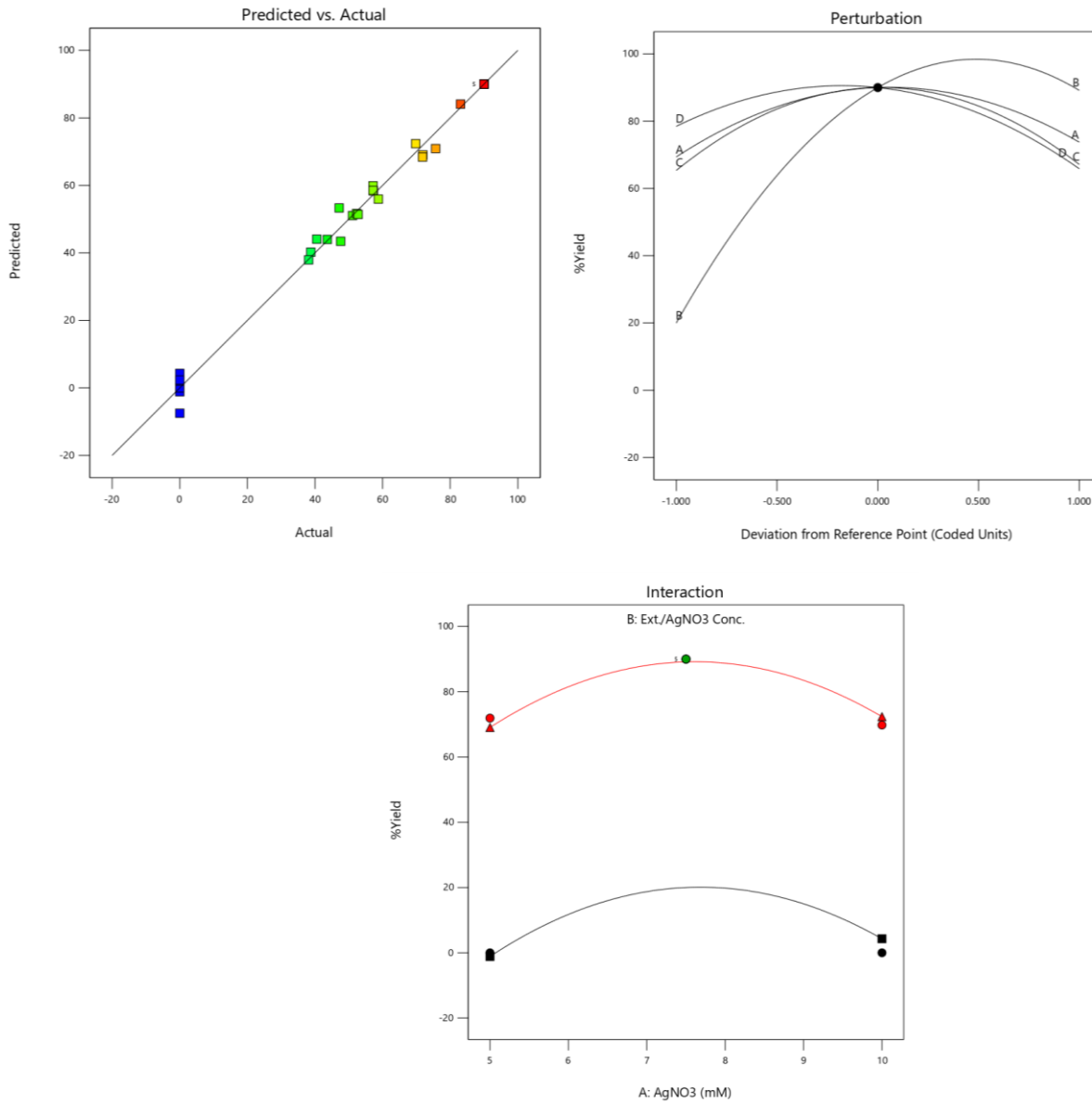


Figure 1. The graphs indicating 'Predicted vs. Actual plot', perturbation chart, and interaction plot for response values

Şekil 1: Grafikler, elde edilen cevaplar için tahmin edilen değere karşı gerçekleşen değer grafiğini, pertürbasyon tablosu ve etkileşim grafiğini göstermektedir.

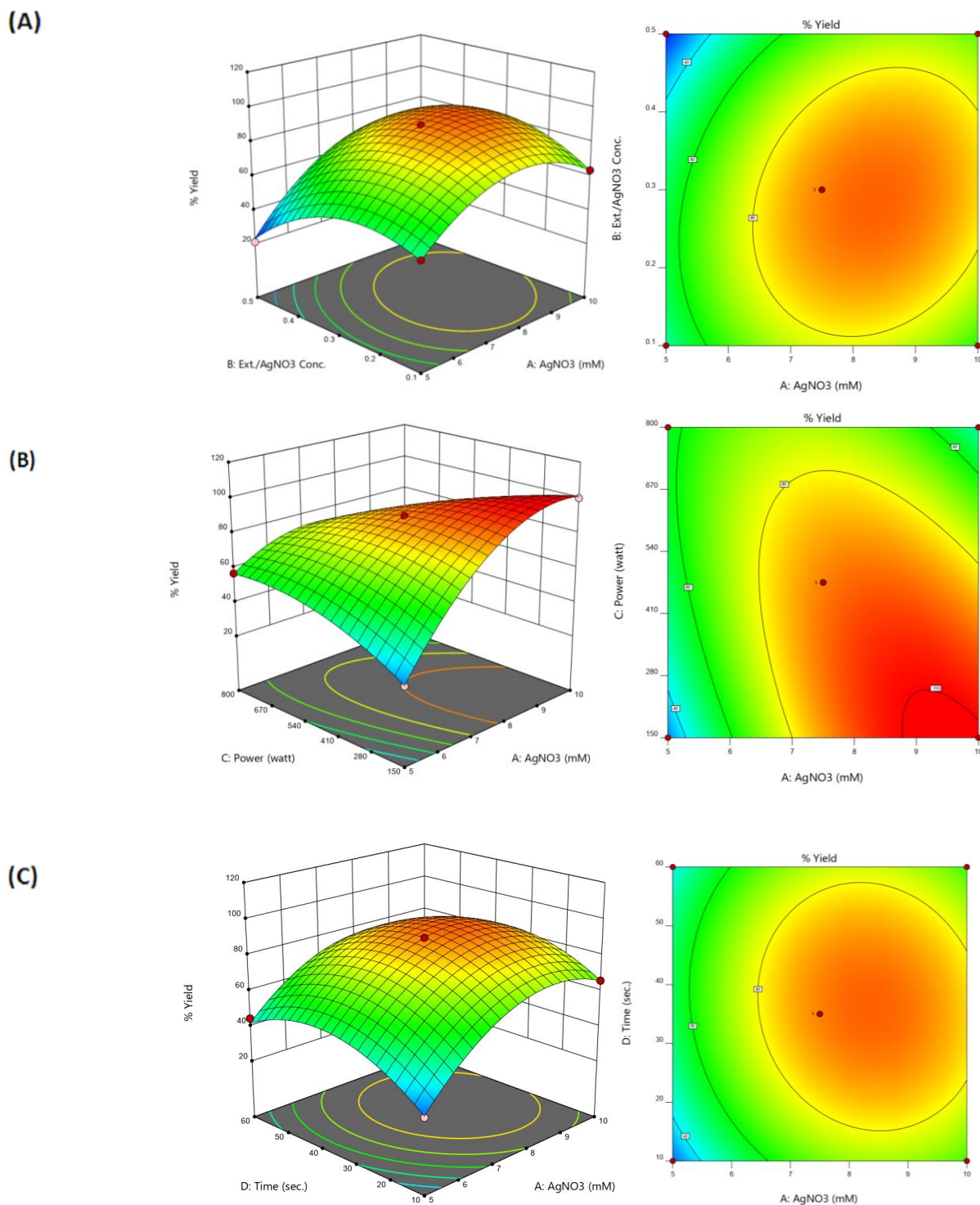


Figure 2. The graphs indicate the impact of factors like A: AgNO₃ concentration, B: VExt/VAg, C: Power, and D: time on the percentage of particle formation (%Yield) of synthesized silver nanoparticles using white propolis extract solution as the response factor.

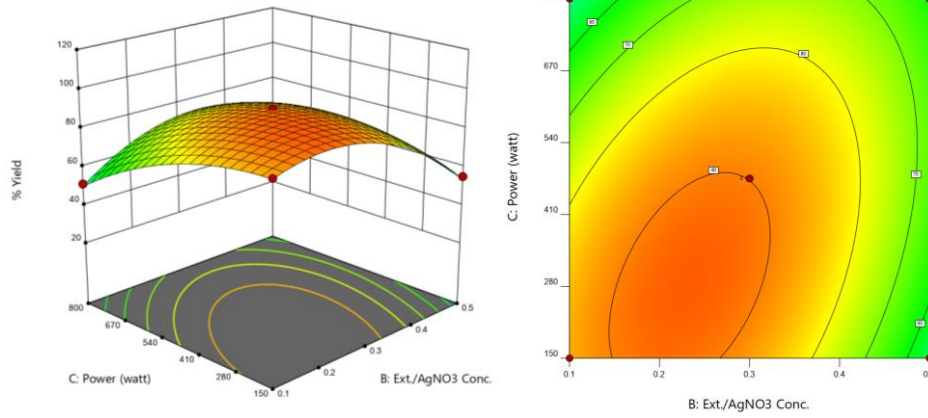
Şekil 2. A: AgNO₃ konsantrasyonu, B: oranı, C: Mikrodalganın gücü ve D: zaman gibi faktörlerin, yanıt faktörü olarak beyaz propolis ekstresi çözeltisi kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin partikül oluşum yüzdesi (% Verim) üzerindeki etkisini gösteren grafikler.

Optimum conditions for silver nanoparticle synthesis

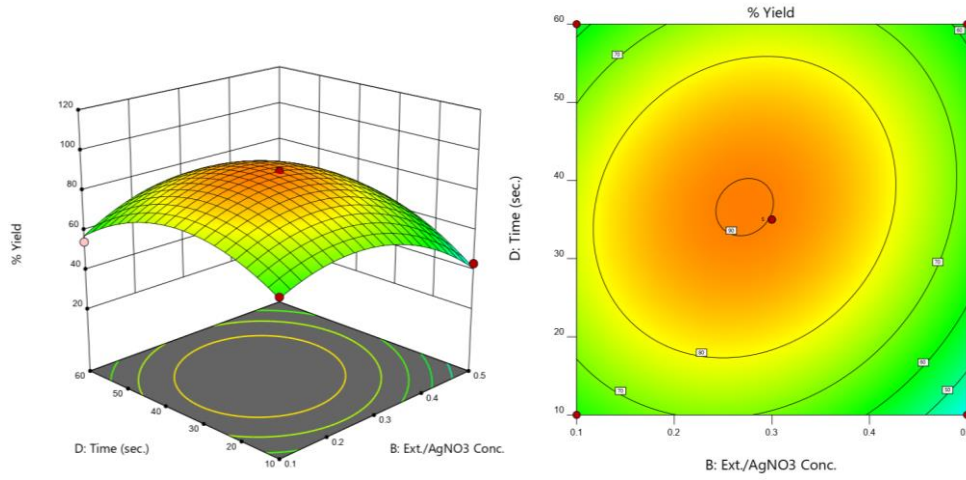
To identify with numerical optimization, the silver nanoparticles were optimized and evaluated. It was observed that the desirability function value was close to 1.0 and the goal for the response variable was achieved. As the optimized silver nanoparticles

synthesis setting, the overlay plot indicated the yellow color area as the optimized area along with the flagged point displaying 10 mM concentration of AgNO₃, power at 150-watt, time at 35 seconds, and 0.3 of the VExt/VAg (Figure 4).

(A)



(B)



(C)

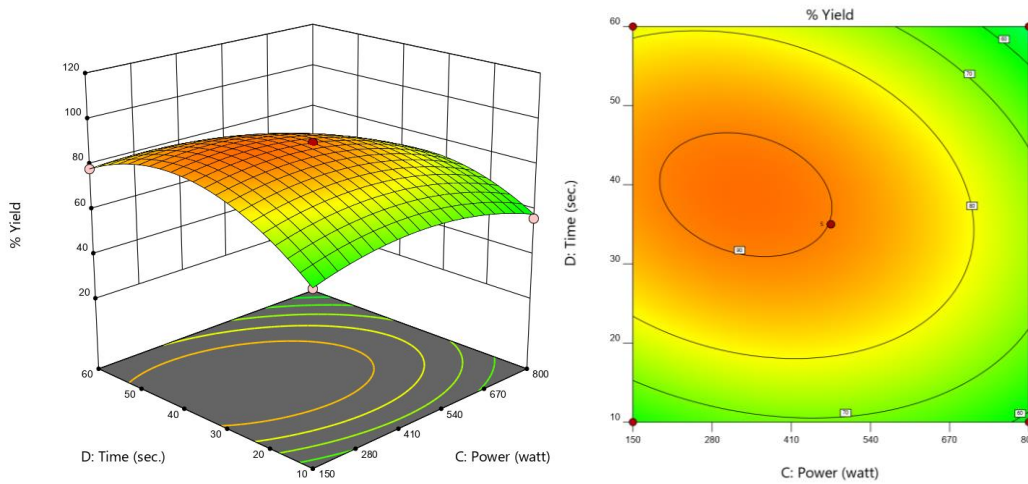


Figure 3. The graphs indicate the impact of factors like B: VExt/VAg, C: Power, and D: time on the percentage of particle formation (%Yield) of synthesized silver nanoparticles using white propolis extract solution as the response variable.

Şekil 3. B: VExt/VAg oranı, C: Mikrodalganın gücü ve D: zaman gibi faktörlerin, yanıt faktörü olarak beyaz propolis ekstresi çözeltisi kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin partikül oluşum yüzdesi (% Verim) üzerindeki etkisini gösteren grafikler.

Characterization of optimized silver nanoparticles

The synthesized silver nanoparticles were

characterized by UV-VIS spectrophotometry and the result was shown in Figure 5.

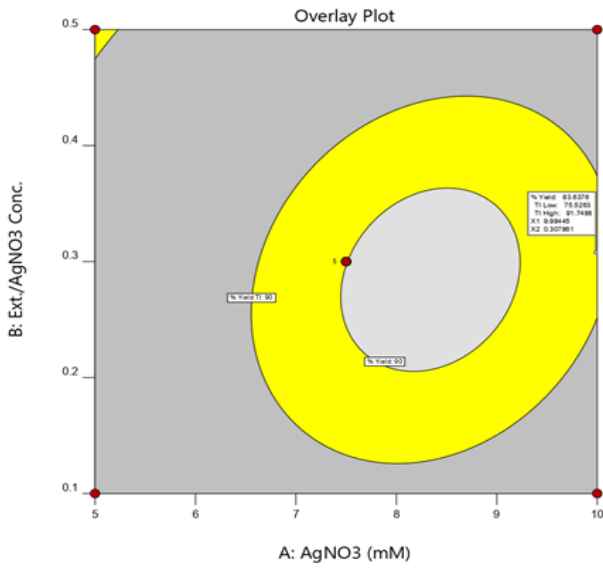


Figure 4. The graphs show a yellow color area as the optimized area and a flagged point as the optimized synthesized silver nanoparticles using white propolis extract.

Şekil 4. Grafik, sarı renkli alanı, optimize edilmiş alan olarak ve işaretlenmiş noktayı ise beyaz propolis özütü kullanılarak optimize edilmiş sentezlenmiş gümüş nanopartiküller olarak göstermektedir.

While the spectrum peak of the white propolis extract was determined as 302 nm, the spectrum peak of the silver nanoparticles synthesized under optimum

conditions was observed at 420 nm. This result was fitting with the brownish color of the nanoparticles and confirmed the synthesis of silver nanoparticles (Kischkel et al., 2020). At the same time, the study was carried out by changing the volume of white propolis extract solution, AgNO_3 concentration, and power. Comparing the literature, the spectrum peaks were observed at nearly the same wavelengths such as 480 nm (Corciovă et al., 2019) and 421 nm (Barbosa et al., 2019) but wavelength ranges were wider. However, when $V_{\text{Ext}}/V_{\text{Ag}}$ was greater than 0.3, it was observed that the absorption peaks shifted towards a higher wavelength and the wavelength range of the peak increased.

FTIR spectrum of the optimized silver nanoparticles was shown in Figure 6. The significant absorption bands for silver nanoparticles were observed at 2985.27, 1636.3, and 1330.64. The optimized silver nanoparticles exhibited a wide absorption band of –OH groups at 3279.36. The absorption band at 2985.27 was associated with C–H stretching of aliphatic –CH, –CH₂ groups. The absorption peaks at 1636 and 1330 were assigned to the asymmetrical and symmetrical –COO stretching of carboxylate compounds in white propolis. The absorption peak at 1085 was associated with the C–O stretch.

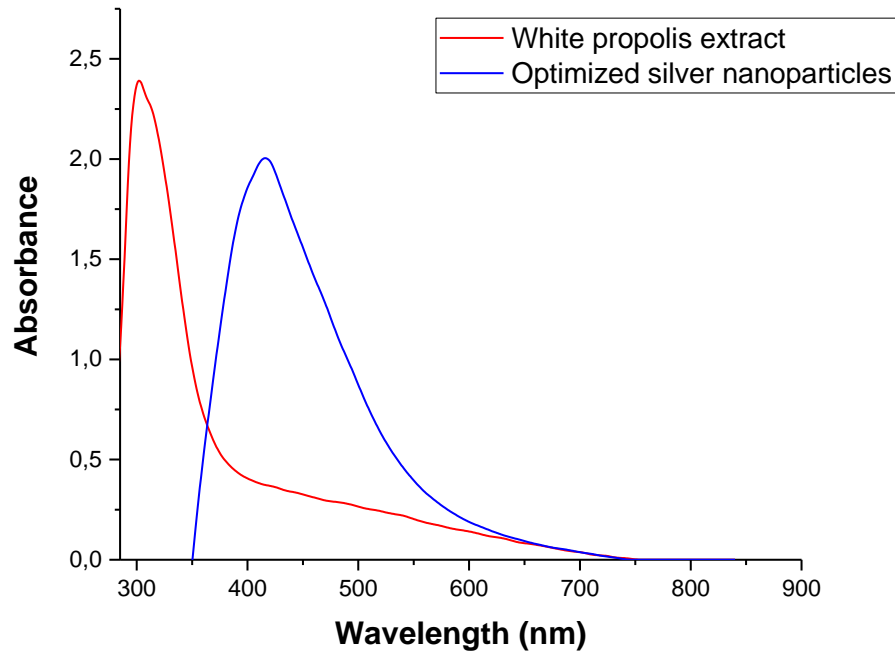


Figure 5. UV-Visible spectra of optimized silver nanoparticles prepared using white propolis extract and white propolis extract

Şekil 5. Beyaz propolis ekstresi kullanılarak optimize edilmiş gümüş nanopartiküllerin ve beyaz propolis ekstresinin UV-Vis spektrum piki

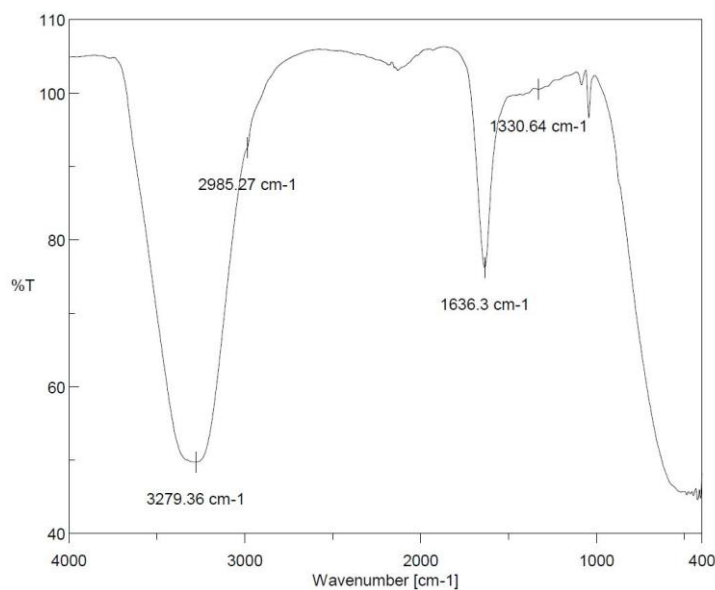


Figure 6. FTIR spectra of optimized silver nanoparticles prepared using white propolis extract

Şekil 6. Beyaz propolis ekstresi kullanılarak optimize edilmiş gümüş nanopartiküllerin FTIR spektrumu

The particle size distribution of optimized silver nanoparticles was determined with the DLS method and shown in Figure 7. The size of silver nanoparticles was measured as 108.2 nm. The zeta potential provides information about the charges and stabilities of nanoparticles (Dhiman et al., 2021). The zeta potential of optimized silver nanoparticles was measured as -22.3 mV and PDI (polydispersity index) value was measured as 0.224 which correlates with monodispersity since when the PDI value is bigger than 0.7, the particle size distribution is not uniform (Khorrami et al., 2018).

Antibacterial activity of silver nanoparticles

It has been known that silver nanoparticles have an antibacterial effect. They affect both Gram-positive bacteria and Gram-negative bacteria (Dada et al., 2018). In this study, the antibacterial effect of optimized silver nanoparticles was examined on *S. aureus* (ATCC 25923), *K. pneumoniae* (ATCC 15380), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) and *E. faecalis* (ATCC 29212) by using Disc Diffusion Method (Figure 8).

The antibacterial effects of white propolis extract on the same bacteria were studied to compare with the silver nanoparticle form and inhibition zones were measured and shown in Table 2.

Since the standard antimicrobial blank discs have diameter of 6.0 mm, the inhibition zone value must be higher than 6.0 mm to prove the sample has antimicrobial activity. As the results of DISC assay were evaluated while optimized silver nanoparticles using white propolis extract exhibited antibacterial activity, it was observed that white propolis had no antibacterial effect on any bacteria. Corciovă et al. (2019) reported that inhibition zone values of the synthesized silver nanoparticles using propolis

extract on *S. aureus* and *P. aeruginosa* were determined as 10.0 mm, and 2.0 mm respectively. However, inhibition zone diameter values of synthesized silver nanoparticles in this study were higher. The MIC method is generally used to determine the minimum inhibition concentration value of the active component. To evaluate MIC values of the optimized silver nanoparticles and white propolis extract, crude data were obtained using Plate Reader and calculated by GraphPad 8.1 Software as shown in Table 3. Moreover, the percentage of inhibition curve of the optimized silver nanoparticles and the percentage of inhibition values of white propolis extract solution were tested to determine the effectiveness of the silver nanoparticle as shown in Figure 9. Both graphs were also plotted by using MIC data.

MIC analysis was also performed to determine the minimum inhibitory concentration of the optimized silver nanoparticles and white propolis extract. While the optimized silver nanoparticles using white propolis extract exhibited antibacterial effect even at minimum concentration, white propolis extract exhibited antibacterial activity at maximum concentration.

The efficacy of silver nanoparticles synthesized under optimized conditions and white propolis extract on bacteria were evaluated and, the difference between MIC values was tested statistically with two-way ANOVA. *p*-value was calculated as $p = 0.0001$ for all bacterial species, and this *p*-value was considered significant because $p < 0.005$.

MIC values of obtained silver nanoparticles against *S. aureus*, *P. aeruginosa*, and *E. faecalis* were measured as 25.1 µg/mL, 26.2 µg/mL, 18.2 µg/mL, 18.2 µg/mL, respectively (Figure 8). In literature, the MIC value of

the produced silver nanoparticles using propolis hydroalcoholic extract was reported as 8 µg/mL and it was smaller than that using white propolis because

this synthesis was carried out with ethanol extract (Barbosa et al., 2019).

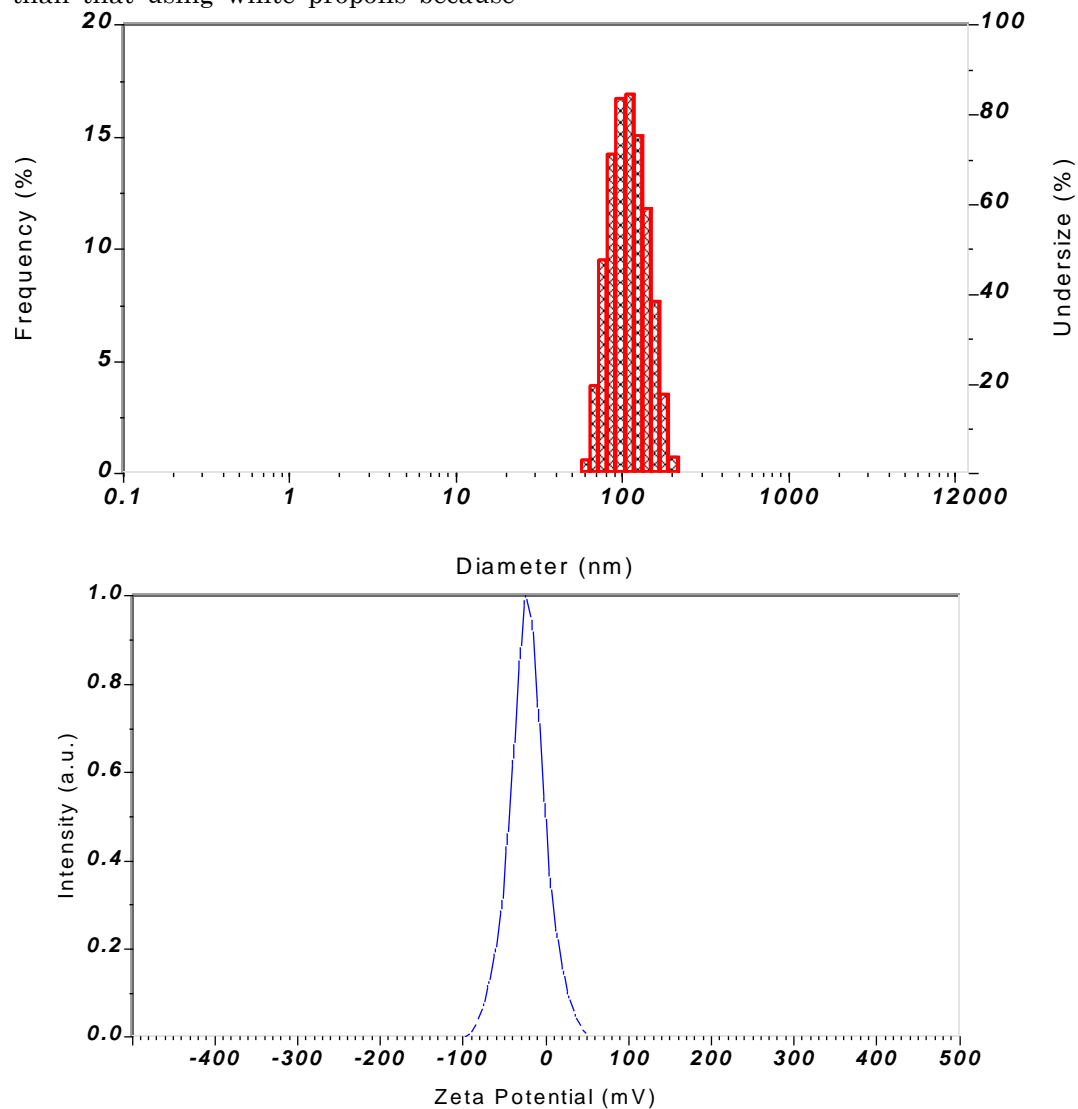


Figure 7. DLS and zeta potential values of optimized silver nanoparticles prepared using white propolis extract, DLS (A) and zeta potential (B)

Şekil 7. Beyaz propolis ekstresi kullanılarak optimize edilmiş gümüş nanopartiküllerin DLS ve zeta potansiyel değerleri, DLS (A), zeta potansiyeli (B)

Table 2. The inhibition zone diameter (mm) of silver nanoparticles was determined by the DISC Method.

Çizelge 2. DISC yöntemi ile gümüş nanopartiküllerin inhibisyon zon çapının (mm) belirlenmesi

Microorganisms	Inhibition zones diameter (mm)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
<i>Enterococcus faecalis</i>	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	13

Table 3. MIC values of the optimized silver nanoparticles and white propolis extract.

Çizelge 3. Optimize edilen gümüş nanopartiküller ve beyaz propolis ekstresinin MIC değerleri

Microorganisms	MIC values (µg/mL)	
	Optimized silver nanoparticles	White propolis extract
<i>S.aureus</i>	25.1 ± 0.0002	250 ± 0.0002
<i>P. aeruginosa</i>	26.2 ± 0.0001	250 ± 0.0002
<i>K. pneumoniae</i>	18.2 ± 0.0002	250 ± 0.0002
<i>E. faecalis</i>	17.9 ± 0.0002	500 ± 0.0001

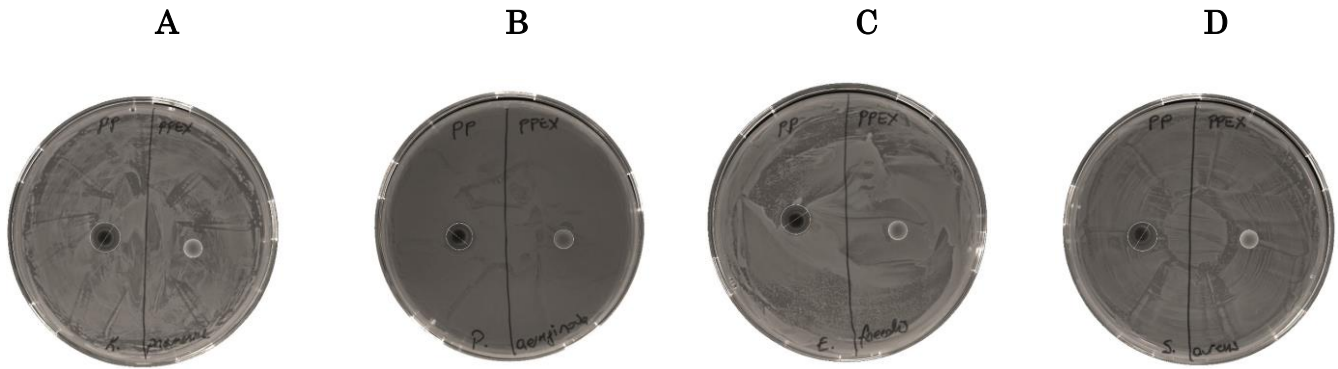


Figure 8. Antibacterial activity assay of white propolis extract and optimized silver nanoparticles against *K. pneumoniae* (ATCC 15380) (A), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *E. faecalis* (ATCC 29212), and *S. aureus* (ATCC 25923) (D)

Şekil 8. *K. pneumoniae* (ATCC 15380) (A), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *E. faecalis* (ATCC 29212), and *S. aureus* (ATCC 25923) (D) bakteri suşlarına karşı beyaz propolis ekstresi kullanılarak optimize edilen gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitesinin analizi

Comparing the inhibition values of silver nanoparticles and white propolis extract, while white propolis extract at the concentration of 500 µg/mL

inhibited nearly 70% of all strains, lower silver nanoparticles amount was enough for inhibition of all strains as shown in Figure 9.

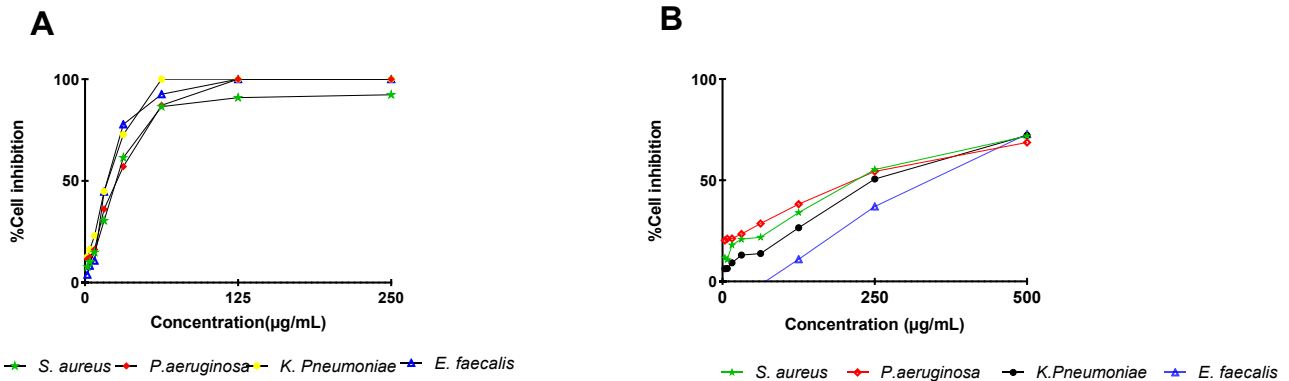


Figure 9. % Cell Inhibition values on the bacteria of optimized silver nanoparticles (A) and white propolis extract (B)

Şekil 9. Beyaz propolis ekstresi kullanılarak optimize edilen gümüş nanopartiküllerin (A) ve beyaz propolis ekstresinin (B) bakteriler üzerindeki % hücre inhibisyon değerleri

CONCLUSION

In presenting this paper, a biological approach was used for the synthesis of silver nanoparticles and white propolis extract solution was preferred as a biological reduction agent. The synthesized silver nanoparticles were systematically optimized by BBD utilizing Design Expert® ver. 12.0 software depending on the influence of different factors. The optimized silver nanoparticles exhibited antimicrobial activities with the proper size, zeta potential, and PDI index. These findings imply that optimized silver nanoparticles using white propolis extract solution may subscribe as a prospective antibacterial agent in

cosmetic and therapeutic applications.

Researchers' Contribution Rate Declaration Summary

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

Conflicts of Interest Statement

Authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

Antoine TE, Hadigal SR, Yakoub AM, Mishra Y K, Bhattacharya P, Haddad C 2016. Intravaginal zinc oxide tetrapod nanoparticles as novel

- immunoprotective agents against genital herpes. *The Journal of Immunology*, 196(11): 4566–4575.
- Bansal M, Bansal A, Sharma M, Kanwar P, June M 2020. Green synthesis of gold and silver nanoparticles. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, 6(1710): 1710–1716.
- Barbosa VT, Souza JKC, Alvino V, Meneghetti MR, Florez-Rodriguez PP, Moreira RE 2019. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using Brazilian propolis. *Biotechnology Progress*, 35(6): e2888.
- Cho KH, Park JE, Osaka T, Park SG 2005. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. *Electrochimica Acta*, 51(5): 956–960.
- Corciovă A, Mircea C, Burlec AF, Cioancă O, Tuchilus C, Fifere A 2019. Antioxidant, antimicrobial, and photocatalytic activities of silver nanoparticles obtained by bee propolis extract assisted biosynthesis. *Farmacia*, 67(3): 482–489.
- Dada AO, Inyinbor AA, Idu EI, Bello OM, Oluyori AP, Adelani-Akande TA 2018. Effect of operational parameters, characterization and antibacterial studies of green synthesis of silver nanoparticles using *Tithonia diversifolia*. *PeerJ*, 6: 1–17.
- Dhiman M, Sharma L, Singh A, Sharma MM 2021. Biogenic fabrication of silver nanoparticles using *Sterculia urens* Roxb. And assessment of their antimicrobial efficiency. *Materials Today: Proceedings*, 43(5): 3206-3210.
- Garibo D, Borbón-Nuñez HA, de León JND 2020. Green synthesis of silver nanoparticles using *Lysiloma acapulcensis* exhibit high-antimicrobial activity. *Scientific Reports*, 10(1):12805.
- Ghramh HA, Khan KA, Ibrahim EH, Ansari MJ 2019. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using propolis extract, their characterization, and biological activities. *Science of Advanced Materials*, 11(6): 876–883.
- Gökşen Tosun N, Kaplan Ö 2021. Optimization of the green synthesis of silver nanoparticles with Box-Behnken design: using Aloe vera plant extract as a reduction agent. *Sakarya University Journal of Science*, 25(1): 200–211.
- Hasnain MS, Siddiqui S, Rao S, Mohanty P, Jahan Ara T, Beg S 2016. QbD-driven development and validation of a bioanalytical LC-MS method for quantification of fluoxetine in human plasma. *Journal of Chromatographic Science*, 54(5): 736–743.
- Joy Prabu H, Johnson I 2015. Plant-mediated biosynthesis and characterization of silver nanoparticles by leaf extracts of *Tragia involucrata*, *Cymbopogon citronella*, *Solanum verbascifolium* and *Tylophora ovata*. *Karbala International Journal of Modern Science*, 1(4): 237–246.
- Kaplan Ö, Gökşen Tosun N 2021. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Teucroside* and investigation of its antibacterial activity. *Cumhuriyet Science Journal*, 42(1): 60–67.
- Kaplan Ö, Gökşen Tosun N, Özgür A, Erden Tayhan S, Bilgin S, Türkekul İ, Gökçe İ 2021. Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles using crude extracts of *Boletus edulis* and *Coriolus versicolor*: characterization, anticancer, antimicrobial, and wound healing activities. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 64: 102641.
- Khadri H, Alzohairy M, Janardhan A, Kumar AP, Narasimha G 2013. Green synthesis of silver nanoparticles with high fungicidal activity from olive seed extract. *Advances in Nanoparticles*, 02(03): 241–246.
- Khatoun A, Khan F, Ahmad N, Shaikh S, Rizvi SMD, Shakil S 2018. Silver nanoparticles from leaf extract of *Mentha piperita*: Eco-friendly synthesis and effect on acetylcholinesterase activity. *Life Sciences*, 209(May): 430–434.
- Khorrami S, Zarrabi A, Khaleghi M, Danaei M, Mozafari MR 2018. Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties. *International Journal of Nanomedicine*, 13: 8013–8024.
- Kischkel B, Castilho PF de, de Oliveira KMP, Rezende PST, Bruschi ML, Svidzinski TIE, Negri M 2020. Silver nanoparticles stabilized with propolis show reduced toxicity and potential activity against fungal infections. *Future Microbiology*, 15(7): 521–539.
- Kumar Nayak A, Saquib Hasnain M, Malakar J 2013. Development and optimization of hydroxyapatite-ofloxacin implants for possible bone delivery in osteomyelitis treatment. *Current Drug Delivery*, 10(2): 241–250.
- Li D, Mathew B, Mao C 2012. Biotemplated synthesis of hollow double-layered core/shell titania/silica nanotubes under ambient conditions. *Small*, 8(23): 3691–3697.
- Lin L, Wang W, Huang J, Li Q, Sun D, Yang X 2010. Nature factory of silver nanowires: Plant-mediated synthesis using broth of *Cassia fistula* leaf. *Chemical Engineering Journal*, 162(2): 852–858.
- Malakar J, Das K, Nayak AK 2014. In situ cross-linked matrix tablets for sustained salbutamol sulfate release - formulation development by statistical optimization. *Polymers in Medicine*, 44(4):221-230.
- Mohanpuria P, Rana NK, Yadav SK 2008. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(3): 507–517.
- Nagai T, Inoue R, Inoue H, Suzuki N 2003. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chemistry*, 80(1): 29–33.

- Nayak AK, Kalia S, Hasnain MS 2013. Optimization of aceclofenac-loaded pectinately (vinyl pyrrolidone) beads by response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, (62): 194–202.
- Padalia H, Moteriya P, Chanda S 2015. Green synthesis of silver nanoparticles from marigold flower and its synergistic antimicrobial potential. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(5): 732–741.
- Raghunandan D, Mahesh BD, Basavaraja S, Balaji SD, Manjunath SY, Venkataraman A 2011. Microwave-assisted rapid extracellular synthesis of stable bio-functionalized silver nanoparticles from guava (*Psidium guajava*) leaf extract. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(5): 2021–2028.
- Roy N, Barik A 2010. Green synthesis of silver nanoparticles from the unexploited weed resources. *International Journal of Nanotechnology and Applications*, 4(2): 95–101.
- Yadav A, Gupta U, Sharma R 2021. *Nano Drug Delivery Strategies for the Treatment of Cancers*. Nano drug delivery strategies for the treatment of cancers. Academic Press.

Anticancer, Antioxidant, Antimicrobial and Enzyme Inhibitory Activities of *Inula aucheriana*

Gülşen GÜÇLÜ^{1*}, Merve ERGÜL², Esra UÇAR³, Nuraniye ERUYGUR⁴, Mehmet ATAŞ⁵
Hüseyin Aşkın AKPULAT⁶

¹Health Services Vocational School, Department of Health Care Services, Sivas Cumhuriyet University, Sivas, Türkiye, ²Faculty of Pharmacy, Pharmacology Department, Sivas Cumhuriyet University, Sivas, Türkiye, ³Sivas Vocational School, Department of Crop and Animal Production, Sivas Cumhuriyet University, Sivas, Türkiye, ⁴Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, University of Selçuk, Konya, Türkiye, ⁵Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Microbiology Department, Sivas Cumhuriyet University, Sivas, Türkiye, ⁶Department of Biology, Faculty of Science, Cumhuriyet University, Sivas, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-3599-213X>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4661-8087>, ³<https://orcid.org/0000-0001-6327-4779>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-4674-7009>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-9425-0080>, ⁶<https://orcid.org/0000-0001-8394-2746>

*✉: gulsenguclu@cumhuriyet.edu.tr

ABSTRACT

The *Inula aucheriana*, of the Asteraceae family, is widespread in Turkey. The aim of this study was to investigate different biological properties and thereby reveal the pharmacological potential of this plant, which is already known to be used in the treatment of various diseases. Following the preparation of 80% ethanol extract from *I. aucheriana*, qualitative and quantitative methods were used to investigate the chemical composition (Q-TOF analysis), antioxidant (spectrophotometric analysis), inhibitory enzyme (Ellman's method), antimicrobial (MIC concentration value), and anti-cancer (XTT analysis) activities. The results showed that 80% ethanol extract from *I. aucheriana* was a potent antioxidant, with anti-cancer and enzyme inhibitor effects. In the chemical composition analysis, the primary compound of the extract was determined to be luteolin (32.55%). *I. aucheriana* extract was seen to have AChE and BChE inhibition, and when compared with the reference drug, the extract was determined to have an inhibitory effect on an enzyme called α -glucosidase. Besides, relatively high tyrosinase enzyme inhibition was also detected. The extract significantly showed antiproliferative activity on the MDA-MB-231 cells at 0.0625 mg/mL and higher concentrations, for 24 hours in a dose-dependent manner. This study is the first to evaluate enzyme inhibitory effect and antioxidant activity of *I. aucheriana*.

Biology

Research Article

Article History

Received : 22.08.2021
Accepted : 22.10.2021

Keywords

Inula aucheriana
Anticancer
Antioxidant
Enzyme Inhibitory
Medicinal and Aromatic Plants

Inula aucheriana'nın Antikanser, Antioksidan, Antimikrobiyal ve Enzim İnhibitör Aktiviteleri

ÖZET

Türkiye'de yaygın olarak görülen *Inula aucheriana*, Asteraceae familyasına ait bir bitkidir. Çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinen bu bitkinin farklı biyolojik özelliklerinin araştırıldığı bu çalışma ile bitkinin farmakolojik potansiyelinin ortaya çıkarılması amaçlanmaktadır. *I. aucheriana*'nın %80 etanol ekstraktının, kimyasal bileşimi (Q-TOF analizi ile), antioksidan özellikleri (spektrofotometrik analizi ile), enzim inhibitör aktiviteleri (Ellman's yöntemi ile), antimikrobiyal aktivitesi (MIC konsantrasyon değeri ile) ve antikanser aktivitesi (XTT analizi ile) nitel ve nicel yöntemler kullanılarak araştırıldı. *I. aucheriana*'nın %80 etanol ekstraktının güçlü bir antioksidan, antikanser ve enzim inhibitörü olduğu tespit edildi. Kimyasal bileşim analizinde ekstraktın ana bileşiği luteolin (%32.55) olarak belirlendi. *I. aucheriana* ekstraktının AChE ve BChE inhibisyonuna sahip olduğu ortaya konuldu. Ayrıca *Inula* ekstraktının, referans ilaç ile karşılaştırıldığında α -glukosidaz enzimi açısından inhibitör etkiye sahip olduğu belirlendi. Bununla birlikte oldukça yüksek tirozinaz enzim inhibisyonu gösterdi. Ekstrakt, MDA-MB-231 hücrelerinde

Biyoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 22.08.2021
Kabul Tarihi : 22.10.2021

Anahtar Kelimeler

Inula aucheriana
Antikanser
Antioksidan
Enzim İnhibitörü
Tıbbi ve Aromatik Bitkiler

0.0625 mg/ml ve daha yüksek konsantrasyonlarda 24 saat boyunca inkübe edildiğinde, önemli ölçüde antiproliferatif aktivite gösterdi. Bu çalışma, *I. aucheriana*'nın enzim inhibitör aktivitesi ve antioksidan aktivitesinin ilk araştırmasıdır.

Atıf Şekli: Güçlü G, Ergül M, Uçar E, Eruygur N, Ataş M, Akpulat HA 2022. Anticancer, Antioxidant, Antimicrobial and Enzyme Inhibitory Activities of *Inula aucheriana*. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25(5): 946-954. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.985837

To Cite : Güçlü G, Ergül M, Uçar E, Eruygur N, Ataş M, Akpulat HA 2022. Anticancer, Antioxidant, Antimicrobial and Enzyme Inhibitory Activities of *Inula aucheriana*. KSU J. Agric Nat 25(5): 946-954. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.985837

INTRODUCTION

The genus *Inula*, which has approximately 100 species globally, is a plant in the Asteraceae family, and it grows densely in the Central Anatolia region of Turkey (Öztürk and Çetin, 2013). *Inula*, which is named "andız otu" in Turkish, is a medicinal plant used in the treatment of various diseases, especially sleep disorders, menstrual disorders, intestinal diseases.

Plants belonging to the genus *Inula* are known to have antimicrobial, anticonvulsant, antiproliferative, antioxidant and hepatoprotective properties. This genus is also rich in secondary metabolites (Khan et al., 2010; Moghadam et al., 2012; Kaur et al., 2014; Ekbatan et al., 2019). Many diseases, especially cancer, neurological disorders, diabetes and cardiovascular diseases, may develop due to a high level of oxidative stress in the body. These diseases can be prevented by inhibiting free radicals that cause oxidative stress in the body through antioxidants (Gupta et al., 2014; Motor et al., 2014). High antioxidant activity has been detected in many species of *Inula* (Çanadanović-Brunet et al., 2002; Bai et al., 2005; Al-Fartosy, 2011).

Acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) enzymes are cholinesterases that act on thiocholine to release acetylcholine, which aids neurosynaptic transmission. In cases where these enzymes are inhibited, acetylcholine in the synaptic space is more effective in signal transmission. AChE and BChE inhibitors have been used for many years to treat Alzheimer's and Myasthenia gravis diseases (Orhan et al., 2004; Zhao et al., 2013; Mehndiratta et al., 2014). However, the side effects of these synthetic drugs have led researchers to seek natural AChE and BChE inhibitors. The results of studies of different *Inula* species enzyme inhibition activity are promising. However, no such study has been found for the *I. aucheriana* species as yet (Trendafilova et al., 2020).

Cancer is one of the diseases with the highest mortality rate worldwide. Multifactorial causes affecting the mechanism of the disease are of great importance for the clarification of the treatment process. Medicinal and aromatic plants are often used in the treatment of cancer. Therefore, studies of these

plants with anti-cancer properties, have increased recently. In vitro studies of *Inula* on different cancer cell lines (such as Burkitt's lymphoma, lung cancer, liver cancer) have shown that this plant has anti-cancer properties (Cui et al., 2018; Wang et al., 2019; Virdis et al., 2020).

According to the data obtained from previous studies, many *Inula* species, except *I. aucheriana*, were found to be rich in biological activity (Gökbulut et al., 2013). However, a comprehensive study on the biological activities of 80% ethanol extract of *I. aucheriana* has not been conducted. Therefore, in this study, it was aimed to investigate the anti-cancer, antimicrobial, antioxidant and enzyme inhibitory activities of this species.

MATERIAL and METHODS

The aerial parts of the plants in full flowering periods were collected from a natural area (Yozgat-3446408 E, 3948346 N, 1216 m) on 05.07.2017. The collected fresh aerial parts were dried at room temperature. Species identification of the collected plants was made in Yozgat Bozok University Biology Department. The experiments in this study were repeated three times with random selection in Sivas Cumhuriyet University Faculty of Pharmacy laboratory in 2019.

Preparation of Extracts

The aerial parts of the plants were dried and ground (Blue House). Taking 10 g of the resulting dry plant, it was mixed with 50 mL of 80% ethanol and shaken intermittently for 48 hours. Then it was filtered with Whatmann filter paper No.1. The filtrate was intensified to dryness under reduced pressure on a rotary evaporator at 40°C, and this procedure was performed three times.

The Chemical Composition

The extracts prepared were stored in 10 ml of ethanol for three days, then mixed with the help of a magnetic fish at 500 rpm for 10 minutes for complete dissolution. The resulting 100 µL extract was mixed by vortexing with a 900 µL of Methanol: Water: Formic acid (80: 20: 0.1) solution. It was then centrifuged for 30 minutes at 10000 rpm and 4°C. The upper phase was taken into a vial and passed through a 45 µm filter. Liquid passing through the filter was

injected into the device. A Q-TOF (Agilent Accurate Mass Q-TOF LC-MS 6530) device and Poroshell 120 SB-C18 (2.7µm 4.6x100mm) type column were used for analysis. The samples were measured at 30 °C for 55 minutes in water / acetonitrile mobile phases with a flow rate of 0.6 ml / min. The obtained data were evaluated with the Agilent Metlin database.

In vitro Antioxidant Activity

The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity of the extract was evaluated according to the Blois (1958) method with few alterations. The 2, 2' - azinobis (3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity was evaluated using the Re et al. (1999) method with minor modifications. The total phenolic content (TPC) was specified with the spectrophotometric method (Clarke et al., 2013) and clarified as gallic acid equivalents and the total flavonoid content (TFC) was assigned with the Molan and Mahd (2014) aluminum chloride colorimetric method. The TFC was stated as milligram-catechin equivalent per gram of dry weight of the extract.

In vitro Enzyme Inhibition Assay

The butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase inhibition assay was applied pursuant to the Ellman's method as defined in our previous study (Ellman et al., 1961; Ergül et al., 2019). As reported by Kumar et al. (2012), the α-glucosidase inhibition method was applied. The alpha-amylase inhibition activity of the extract was investigated using the method reported by Kumar et al. (2013). The positive control used in both the α-glucosidase and the α-amylase inhibition method was acarbose.

Antimicrobial Activity

Microdilution broth method

The bacteria used in this study were *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichiacoli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Two yeast strains, *Candida albicans* and *Candida tropicalis* were also used. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the *I. aucheriana* ethanol extract was determined in accordance with the broth microdilution method of Eloff (1998). Mueller-Hinton broth (Accumix®AM1072) for bacteria and Sabouraud Dextrose Broth (Himedia ME033) for *Candida sp.* were used as the culture medium (CLSI, 2002; 2012).

The extract was dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) (50 mg/mL). 90 µl of media were applied to the first row of the microplates and 50 µL to the remaining wells. Wells to which 100 µL of broth was added were used as growth controls. To the first row of the microplate, 10 µL of the extract, at a concentration of 2.5-0.004 mg/mL, was added and

serial double dilutions were prepared. The fungi and bacteria suspensions (50 µL) were put into the prepared samples. The final inoculation size was 5×10⁵ CFU/mL in the bacteria wells and 0.5-2.5×10³ CFU/mL in the *Candida sp.* wells (CLSI, 2002;2012). The MIC concentration of the extract was defined as the lowest concentration inhibiting discernible growth of bacteria and yeast after overnight incubation at 37 °C.

Cell Culture and Reagents

MDA-MB-231 (HTB-26TM, Human Breast Cancer Cell Line) and L-929 (CCL-1TM, Mouse Fibroblast Cell Line) were obtained from ATCC, (Manassas, VA, USA). The cells were maintained in DMEM medium (Gibco Life Technologies, USA), which was completed with 10% (v/v) FBS (Biochrom, Berlin) and 1% pen/strep (Gibco Life Technologies, USA). The cells were incubated at 5% CO₂ humidified atmosphere and 37°C until 80-90% confluence was reached.

Cell Viability Assay

The aim of this study was to specify the cytotoxic effect of *I. aucheriana* ethanol extract on MDA-MB-231 and L929 cells for 24 hours. The cells were treated with an increased concentration of 0.0625 - 0.125 - 0.25 - 0.5 - 1 mg/mL of extract and the IC₅₀ value was calculated. The ethanol extract of *I. aucheriana* was diluted in phenol red-free Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) before treatment. The growing cells were seeded into 96-well microplates at a density of 1.5 x 10⁴ cells per well in 100 µL complete culture medium and were allowed to adhere overnight. . These cells were then incubated with increasing concentrations of the ethanol extract of *I. aucheriana* (0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 mg/mL) for 24 hours. The cell proliferation was assigned using the XTT assay kit (BIOTIUM, Inc) according to the user's guide. Briefly, 50 µL XTT labelling mixture (to prepare the activated XTT kit solution, the activation reagent and the XTT solution were mixed in a 5:1 ratio) was placed on each well to identify metabolically active cells, and the plates were then cultured at 37°C for another 4h. The absorbance was evaluated using a spectrophotometer (ELISA reader; Thermo, Germany) at 450 nm. All experimental studies were conducted in three independent stages, and the cell proliferation results were described as a percentage of control (100% of viability).

Statistical Analysis

The statistical significance for the assays was assigned using GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc.). The obtained data were subjected to the ANOVA test. A value of p ≤ 0.01 was considered statistically significant.

RESULTS

The Chemical Composition

When the data obtained were evaluated in terms of the proportional values among the phenolic compounds of the *Inula* plant, the highest phenolic

value was determined as "Luteolin" with 32.55%, "Apigenin" with 21.66%, "Diosmetin" with 19.82% and 16.6% followed by Quercetin 3-methyl ether phenolics (Table 1).

Table 1. The chemical composition of the 80% ethanol extract of *I.aucheriana*

Çizelge 1. *I.aucheriana*'nın %80 etanol ekstraktının kimyasal bileşimi

No	R.T.	Phenolic composition	% Area
1	6.49	3,4-Dihydroxybenzoic acid	1,456394
2	17,6	Chlorogenic acid, iso chlorogenic acid	3,020271
3	20.14	Rutin	0.656758
4	22.15	Dicaffeoyl quinic acid isomers	4.241029
5	25.57	Luteolin	32.55262
6	25.63	Quercetin 3-methyl ether	16.5999
7	26.7	Apigenin	21.6573
8	26.9	Diosmetin	19.81573

Antioxidant Activity

ABTS and DPPH Radical Scavenging Activity

The in vitro antioxidant activities (ABTS and DPPH radical scavenging activities, total phenolic and flavonoid contents) of *I.aucheriana* in 80% ethanol extract were tested. The obtained data were compared with the reference substance butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA). The extract had the lower IC₅₀ value of DPPH radical scavenging activity (the IC₅₀ value of

317.28±0.012 µg/mL) than the standard BHA (the IC₅₀ value of 4.1±0.01 µg/mL). Similarly, the standard BHT (1.95±0.018 µg/mL) showed higher ABTS radical scavenging activity than the *I.aucheriana* 80% ethanol extract with the IC₅₀ value of 237.4±0.008 µg/mL. However, it can be said that the values are close to the reference substance and the 80% ethanol extract of *I. aucheriana* has strong antioxidant activity (Figure 1).

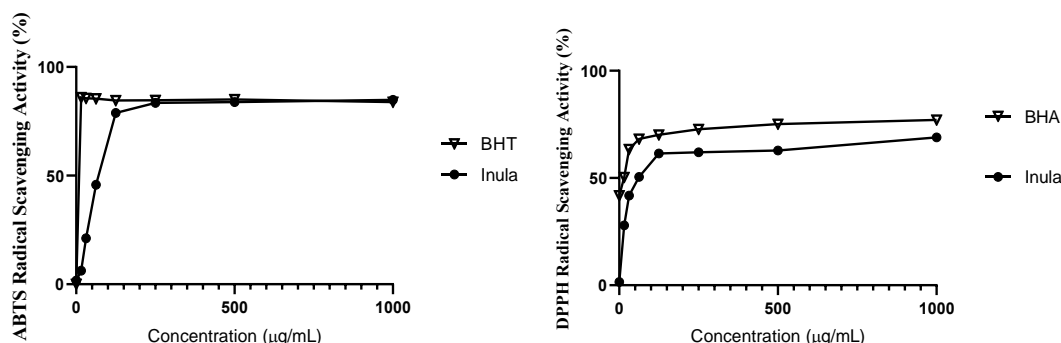


Figure 1. ABTS and DPPH radical scavenging activity of *I.aucheriana*

Şekil 1. *I.aucheriana*'nın DPPH ve ABTS radikal süpürme aktivitesi

Total Flavonoid and Total Phenol

When the total flavonoid and total phenol in 80% ethanol extract from *I.aucheriana* was examined, the total flavonoid content was found to be 94.36±1.9 mg CE/g, and the total phenolic content was 265.56±11.25 mg GAE/g (Figure 2). The total flavonoid and total phenol contents of *I.aucheriana* were found to be quite high. The phenolic compounds are the most important among the phytoconstituents in terms of antioxidant activity value.

The Enzyme Activities

The enzyme activities of 80% ethanol extract obtained from *I. aucheriana* were investigated (Table 2).

Butyrylcholinesterase–Acetylcholinesterase Inhibition Assay

The butyrylcholinesterase (BChE) and acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activities of the ethanol 80% extract of *I.aucheriana* were evaluated (Table 2). When the obtained results were compared with the reference drug (galantamine hydrobromide used for the treatment of Alzheimer's disease) (93.87±0.56% and 89.89±0.01 for % AChE and BChE inhibition, respectively), the ethanol 80% extract of *I.aucheriana* (75.94±0.09% and 78.63±0.02%, respectively) was seen to have AChE and BChE inhibition.

α-Amylase and *α*-Glucosidase Inhibition Assay

Acarbose was used as the reference drug for the inhibitory effects against *α*-amylase and *α*-glucosidase, which are related to the antidiabetic activity enzyme. According to obtained data, the *α*-amylase and *α*-glucosidase inhibitory effect of *I.aucheriana* in the ethanol 80% extracts were determined as 53.26 ± 0.12 and 18.07 ± 0.03 ,

respectively (Table 2). When the extract was compared with the reference drug ($57.56\pm 0.52\%$ and $58.40\pm 0.63\%$ for the *α*-glucosidase and *α*-amylase, respectively), the 80% ethanol extract of *I.aucheriana* was seen to have an inhibitory effect in terms of *α*-glucosidase.

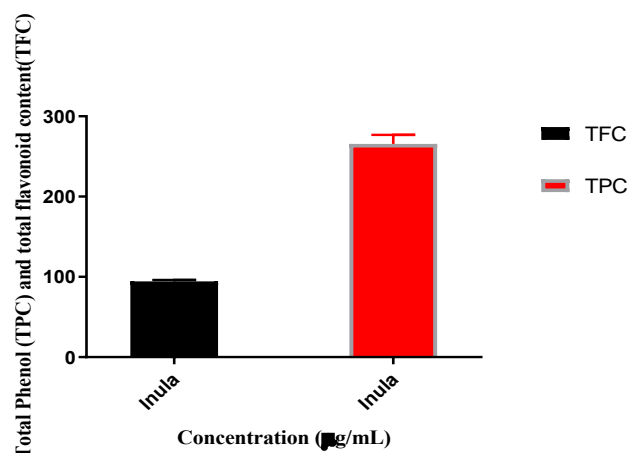


Figure 2. Total phenol and flavonoid content of 80% ethanol extract of *I.aucheriana*.
Şekil 2. *I. aucheriana*'nin % 80 etanol ekstresinin toplam fenol ve flavonoid içeriği

Table 2. Enzyme inhibition activity of 80% ethanol extract obtained from *I. aucheriana* and reference standards (at concentration of 2 mg/mL).

Çizelge 2. Referans standartların ve *I.aucheriana*'nin % 80 etanol ekstresinin enzim inhibisyon aktivitesi (2 mg /mL konsantrasyonda).

Extracts	Anticholinesterase Activity		Antidiabetic Activity		Skin Whitening
	AChE	BChE	<i>α</i> -Glucosidase	<i>α</i> -Amylase	Tyrosinase
80% ethanol extract of <i>I.aucheriana</i>	75.94 ± 0.09	78.63 ± 0.02	53.26 ± 0.12	18.07 ± 0.03	59.21 ± 0.08
Reference Drugs					
Galanthamine Hydrobromide	93.87 ± 0.56	89.89 ± 0.01			
Acarbose			57.56 ± 0.52	58.40 ± 0.63	
Kojic Acid					56.42 ± 1.59

Tyrosinase Inhibition Assay

Kojic acid was used as the reference drug for the tyrosinase inhibition assay. When the % inhibitory activities of *I.aucheriana* in the 80% ethanol extract were compared with the positive control drug kojic acid ($56.42\pm 1.59\%$), the extract was seen to have very high Tyrosinase inhibition activity ($59.21\pm 0.08\%$)

(Table 2).

Antimicrobial Activity

The antimicrobial activities of *I. aucheriana* ethanol extract against *C. tropicalis* and *C. albicans* and *B.cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* were determined using the microdilution technique at the concentration range 0.312 to $>2.5\text{mg/mL}$ (Table 3).

Table 3. The antimicrobial activity values of *I. aucheriana* ethanol extract

Çizelge 3. *I.aucheriana*'nin etanol ekstresinin antimikrobiyal aktivite değerleri

	Micro-organisms and MIC values (mg/mL)					
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>B.cereus</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.tropicalis</i>
	ATCC	ATCC	ATCC	ATCC	ATCC	DSM
	25922	29213	27853	11778	10231	11953
<i>I. aucheriana</i>	2.5	0.312	2.5	2.5	>2.5	2.5

The reference values of MIC were taken according to Holetz et al (2002). In the light of these data, it was found that the ethanol extract of *I. aucheriana* showed moderate antimicrobial activity on the *S. aureus* strain.

Cytotoxicity Assay

The ethanol extract of *I. aucheriana* considerably

inhibited cell growth on the MDA-MB-231 cells at 0.0625 mg/mL and higher concentrations for 24 h in a dose-dependent manner (Figure 3). The IC₅₀ value of the extract was calculated as 0.123 mg/mL. The extract did not show significant cytotoxicity on the L929 cell line at the IC₅₀ concentrations.

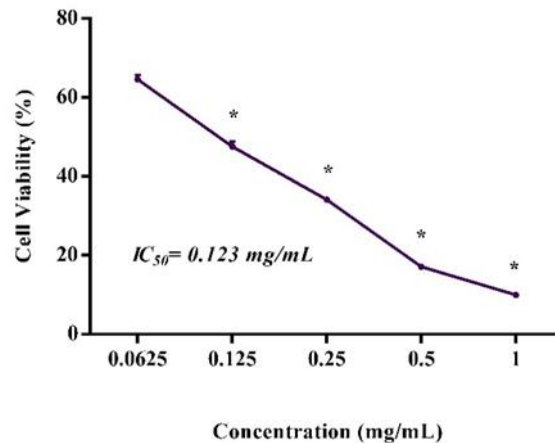


Figure 3. Cytotoxicity was determined by XTT assay. MDA-MB-231 cells treated with 0.0625 to 1 mg/mL of *I. aucheriana* ethanol extract for 24 h. Data are representative of the mean \pm SEM of three separate experiments performed in triplicate.

Şekil 3. Sitotoksikite, XTT testi ile belirlenmiştir. 0.0625 ila 1 mg mL *I. aucheriana* etanol ekstraktı ile 24 saat muamele edilen MDA-MB-231 hücrelerine ait veriler görülmektedir. Veriler, üç kez yapılan üç ayrı deneyin ortalama \pm standart sapma oranını temsil etmektedir.

DISCUSSION

In this study, different biological activities were investigated for more effective use of the medicinal plant, *Inula aucheriana*. The antioxidant and antimicrobial activity, enzyme inhibitory activity and cytotoxicity of 80% ethanol extract of this species were tested.

Eight different chemical components were obtained from 80% ethanol extract of *I. aucheriana* using the Q-TOF method. Luteolin was determined to be the main component at 32.55% (Table 1). In a study by Gökbulut et al. (2013), the chemical content of different species of the Inula plant was examined, and luteolin was found at a significantly high rate in the methanol extract obtained from *I. montbretiana* flowers, but was low in other species. In other studies conducted of different Inula species, one of the species with the richest luteolin content shares similar properties with *I. aucheriana* (Gökbulut et al., 2013; Ozkan et al., 2019). In a review article prepared by Lin et al. (2008), it was revealed that luteolin has many biological properties such as anti-cancer, antioxidant, anti-inflammatory and anti-allergy effects. In this respect, the phenolic compound content of *I. aucheriana* can be understood to be important.

According to the results obtained from the comparison

of total flavonoid, total phenol levels with reference values (ABTS and DPPH radical scavenging activities), it was seen that *I. aucheriana* was a powerful antioxidant. Studies have indicated that antioxidant levels are high in different species of the Inula genus (*I. helenium*, *I. graveolens* L. and *I. britannica*) (Čanadanović-Brunet et al., 2002; Khan et al., 2010; Al-Fartosy et al., 2011; Kaur et al., 2014). Moreover, in another study conducted on six different Inula species, DPPH radical scavenging activity of these species and DPPH radical scavenging activity of 80% ethanol extract of *I. aucheriana*, which was examined in this study, were compared. It was found that *I. aucheriana* has much higher antioxidant activity compared to the other six species (Trendafilova et al., 2020). When the enzyme inhibitory activity was examined, it was determined that galantamine hydrobromide which was used as a reference drug in Alzheimer's disease, has an inhibitory property close to its inhibition on acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE).

When the α -amylase and α -glucosidase inhibition levels of *I. aucheriana* were examined, it was observed that they gave very similar results to acarbose, which was the reference drug, in determining the α -glucosidase inhibition level. However, the α -amylase

inhibition level was not high. In a previous study, three different extracts (MeOH, Aqueous and EtOAc) were prepared in five different *Inula* species (*I. helenium* ssp. *turcoracemosa*, *I. viscosa*, *I. thapsoides*, *I. peacockiana*, *I. montbretiana*), α - glucosidase inhibition levels were examined, and it was reported that the highest inhibition of α - glucosidase was in MeOH extract of *I. helenium* species (88.69% at 3000 $\mu\text{g} / \text{mL}$). When this study is compared with these previously published data, it can be said that α - glucosidase inhibition in 80% EtOH extract of *I. aucheriana* is more appropriate (53.26 ± 0.12 at 2000 $\mu\text{g} / \text{mL}$) (Orhan et al., 2017). In addition, the α -amylase inhibition level of *I. aucheriana* was found to be higher than that of the other five species. Even if different solvents were used, *I. aucheriana* appears to inhibit α -amylase and α -glucosidase at higher levels than other species. This indicates that this strain has high antidiabetic activity and could be a drug for diabetic patients.

The elevation of tyrosinase enzyme constitutes a potential danger in respect of the formation of dermatological disorders and skin cancer. Therefore, inhibition of tyrosinase enzyme may be clinically valuable in dermatological treatments (Hashemi and Emami, 2015). When the tyrosinase inhibition activity of *I. aucheriana* was examined, it showed a higher rate of inhibitory activity compared to the reference drug kojic acid (Table 2). Interestingly, contrary to these findings, different *Inula* species (*I. ensifolia* L., *I. oculus-christi* L., *I. conyza* (GRIESS.) DC, *I. aschersoniana* JANKA var. *Aschersoniana*, *I. germanica* L., and *I. bifrons* L.) MeOH extract has shown low inhibition against the tyrosine enzyme (Trendafilova et al. 2020). Another study found that *I. crithmoides* species was a moderate tyrosinase inhibitor compared to kojic acid (Jdey et al., 2017). Although the high anti-tyrosinase activity of *I. aucheriana* suggests significant potential for dermatological treatment methods, it is still unknown whether different mechanisms increase this effect. There is a need for further studies in this direction.

When the effect of 80% ethanol extract of *I. aucheriana* on different bacterial and fungal strains was examined, it was found that it showed moderate antimicrobial activity on the *S. aureus* strain (Table 3). Similarly, it has been reported that antimicrobial activities show moderate effect in *I. helenium* and *I. montbretiana* species. However, in contrast, it has been suggested that *I. viscosa* species exhibit a more effective antimicrobial activity than other species (Gökbulut et al., 2013; Diguță et al., 2014). These data show that the species belonging to this genus have different antimicrobial properties.

One of the most common research areas of medicinal plants today is cancer research. Using medicinal plants as active ingredients instead of synthetic drugs

can have more effective results on metabolism. When the cytotoxic effect of *I. aucheriana* was examined on healthy fibroblast cell line L-929 and breast cancer cell line MDA-MB-231, it was determined that cancer cells were effectively inhibited (IC_{50} : 0.123 mg / mL) within 24 hours. However, there was no significant inhibition on healthy cells. In previous studies, sesquiterpene lactones, one of the secondary compounds of *I. aucheriana* was isolated and its cytotoxic effect on different cell lines (HepG-2, MCF-7 and A-549) was investigated, with results showing that all cell lines were effectively inhibited (Gohari et al. 2015). The results of both studies with *I. aucheriana* seem to support each other. However, in a study conducted by Trendafilova et al. (2020) of 6 different *Inula* species, it was stated that the lung cancer cell line A549 and the healthy kidney cell line MDCK II showed low cytotoxic properties. The cytotoxic effect of the *I. viscosa* species has been investigated in four different cell lines (MCF-7, C6, MG63, and L929), and it has been reported that the MCF-7 breast cancer cell line has a high rate of cytotoxic effect and the L929 cell line has a low cytotoxic effect (Hepokur et al., 2019). The different plant ingredients can explain the different cytotoxic effects of different species. These question marks can be eliminated by focusing on biochemical and genomic analyses on this issue.

CONCLUSION

Considering all these data, the pharmaceutical importance of *I. aucheriana* cannot be denied. In terms of being a versatile plant with antidiabetic, anti-hyperpigmentation, antioxidant and antiproliferative activity, it can be seen as a potential pharmaceutical plant for the treatment of many diseases, especially Alzheimer's, diabetes and dermatological diseases. The results of more comprehensive studies with the active ingredients of this plant will strengthen the possibility of using *I. aucheriana* to treat various diseases in the future.

Author Contributions

All the authors contributed equally to this study.

Statement of Conflict of Interests

The authors declare that they have no conflict of interests.

REFERENCES

- Al-Fartosy AJM 2011. Antioxidant properties of methanolic extract from *Inula graveolens* L. Turkish J Agric For. 35(6):591–596.
- Bai N, Zhou Z, Zhu N, Zhang L, Quan Z, He K, Zheng QY, Ho CT 2005. Antioxidative flavonoids from the flower of *Inula britannica*. J Food Lipids.

- 12(2):141–149.
- Blois MS 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [10]. *Nature*. 181(4617):1199–1200.
- Čanadanović-Brunet JM, Dilas SM, Čemković GS, Tumbas VT, Malešević Z N 2002. ESR studies of antioxidative activity of different elecampane (*Inula helenium* L) extracts. *Acta periodica technologica*. (33): 127-134.
- Clarke G, Ting KN, Wiart C, Fry J 2013. 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*. 4:2(1):1-10.
- CLSI 2002. Reference Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard, 2nd ed., NCCLS document M27- A2. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087- 1898, USA.
- CLSI 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Standard, 9th ed., CLSI document M07-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.
- Cui YQ, Liu YJ, Zhang F 2018. The suppressive effects of Britannin (Bri) on human liver cancer through inducing apoptosis and autophagy via AMPK activation regulated by ROS. *Biochem Biophys Res Commun*. 497(3):916–923.
- Diguță C, Cornea CP, Ioniță L, Brîndușe E, Farcaș N, Bobit D, & Matei F 2014. Studies on antimicrobial activity of *Inula helenium* L Romanian cultivar. *Romanian Biotechnological Letters*. 19(5):9699-9704.
- Ekbatan MR, Khoramjouy M, Gholamine B, Faizi M, Sahranavard S 2019. Evaluation of anticonvulsant effect of aqueous and methanolic extracts of seven *Inula* species. *Iran J Pharm Res*. 18(Special Issue):208–220.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*. 7(2):88–95.
- Eloff JN 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med*. 64(8):711–713.
- Ergül M, Ergül M, Eruygur N, Ataş M, Uçar E 2019. In vitro evaluation of the chemical composition and various biological activities of *Ficus carica* leaf extracts. *Turkish J Pharm Sci*. 16(4):401–409.
- Gohari AR, Mosaddegh M, Naghibi F, Eslami-Tehrani B, Pirani A, Hamzeloo-Moghadam M, Read RW 2015. Cytotoxic sesquiterpene lactones from the aerial parts of *Inula aucheriana*. *An Acad Bras Cienc*. 87(2):777–785.
- Gökbulut A, Özhan O, Satılmış B, Batçioğlu K, Günel S, Şarer E 2013. Antioxidant and antimicrobial activities, and phenolic compounds of selected *Inula* species from Turkey. *Nat Prod Commun*. 8(4):475–478.
- Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC, Gupta PK, Pakuwal U 2014. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: A review. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 15(11):4405–4409.
- Hashemi SM, Emami S 2015. Kojic acid-derived tyrosinase inhibitors: synthesis and bioactivity. *Pharm Biomed Res*. 1(1):1–17.
- Hepokur C, Budak Y, Karayel HB, Selvi B, Yaylım İ 2019. Investigation of Cytotoxic Effects of *Inula viscosa* Extract. *Cumhuriyet Science Journal*. 40(3):578-582.
- Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez AG, Nakamura CV, Prado B, Filho D 2002. Screening of Medicinal Plants. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 97(10):1027–1031.
- Jdey A, Falleh H, Jannet SB, Hammi KM, Dauvergne X, Ksouri R, Magné C 2017. Phytochemical investigation and antioxidant, antibacterial and anti-tyrosinase performances of six medicinal halophytes. *South African Journal of Botany*. 112: 508-514.
- Kaur R, Kataria D, Chahal KK 2014. Chemistry and biological activity of some alantoloids from *Inula* species-a review. *Pharmacophore*. 5(4): 536-551.
- Khan AL, Hussain J, Hamayun M, Gilani SA, Ahmad S, Rehman G, Kim YH, Kang SM, Lee IJ 2010. Secondary metabolites from *Inula britannica* L. and their biological activities. *Molecules*. 15(3):1562–1577.
- Kumar D, Gupta N, Ghosh R, Gaonkar RH, Pal BC 2013. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory constituent of *Carex baccans*: Bio-assay guided isolation and quantification by validated RP-HPLC-DAD. *J Funct Foods*. 5(1):211–218.
- Kumar D, Kumar H, Vedasiromoni JR, Pal BC 2012. Bio-assay guided isolation of a glucosidase inhibitory constituents from *Hibiscus Mutabilis* leaves. *Phytochem Anal*. 23(5):421–425.
- Lin Y, Shi R, Wang X, Shen HM 2008. Luteolin, a flavonoid with potential for cancer prevention and therapy. *Current cancer drug targets*. 8(7):634-646.
- Mehndiratta M, Pandey S, Kuntzer T 2014. Acetylcholinesterase inhibitor treatment for myasthenia gravis (Review) Summary Of Findings For The Main Comparison. *Cochrane database Syst Rev*. (10).
- Moghadam MH, Hajimehdipoor H, Saeidnia S, Atoofi A, Shahrestani R, Read RW, Mosaddegh M 2012. Anti-proliferative activity and apoptotic potential of britannin, a sesquiterpene lactone from *Inula*

- aucheriana. Nat Prod Commun. 7(8):979–980.
- 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): 72-77.
- Motor S, Ozturk S, Ozcan O, Gurpinar AB, Can Y, Yuksel R, Yenin JZ, Seraslan G, Ozturk OH 2014. Evaluation of total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stress index in patients with alopecia areata. Int J Clin Exp Med. 7(4):1089–1093.
- Orhan I, Şener B, Choudhary MI, Khalid A 2004. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. J Ethnopharmacol. 91(1):57–60.
- Orhan N, Gökbulut A, Orhan DD 2017. Antioxidant potential and carbohydrate digestive enzyme inhibitory effects of five *Inula* species and their major compounds. South African journal of botany. 111: 86-92.
- Ozkan E, Karakas FP, Yildirim AB, Tas I, Eker I, Yavuz MZ, Turker AU 2019. Promising medicinal plant *Inula viscosa* L.: Antiproliferative, antioxidant, antibacterial and phenolic profiles. Progress in Nutrition. 21(3):652-661.
- Öztürk M, Çetin Ö 2013. *Inula tuzgoluensis* (Asteraceae), a new species from Central Anatolia, Turkey. Turk J Botany. 37(5):825–835.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology and medicine. 26(9-10):1231-1237.
- Trendafilova A, Ivanova V, Rangelov M, Todorova M, Ozek G, Yur S, Ozek T, Aneva I, Veleva R, Moskova-Doumanova V 2020. Caffeoylquinic Acids, Cytotoxic, Antioxidant, Acetylcholinesterase and Tyrosinase Enzyme Inhibitory Activities of Six *Inula* Species from Bulgaria. Chem Biodivers. 17(4).
- Viridis P, Migheli R, Galleri G, Fancello S, Cadoni MPL, Pintore G, Petretto GL, Marchesi I, Fiorentino FP, di Francesco A 2020. Antiproliferative and proapoptotic effects of *Inula viscosa* extract on Burkitt lymphoma cell line. Tumor Biol. 42(2):1–9.
- Wang Jiquan, Zhang Y, Liu X, Wang Jizhao, Li B, Liu Y, Wang Jiansheng 2019. Alantolactone enhances gemcitabine sensitivity of lung cancer cells through the reactive oxygen species-mediated endoplasmic reticulum stress and Akt/GSK3 β pathway. Int J Mol Med. 44(3):1026–1038.
- Zhao T, Ding KM, Zhang L, Cheng XM, Wang CH, Wang ZT 2013. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activities of β -carboline and quinoline alkaloids derivatives from the plants of genus *peganum*. Journal of Chemistry, Article ID: 717232, 1-6.. <https://doi.org/10.1155/2013/717232>.

Investigation of the Biological Activities of *Alcea calvertii*

Mahmoud ABUDAYYAK^{1*}, Şeyda KANBOLAT², Reyyan ERGENE³, Şeyma BATUR⁴
Rezzan ALİYAZICIOĞLU⁵

¹Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Altınbas University, 34147, Istanbul, Turkey, ^{1,4}Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Karadeniz Technical University, 61080, Trabzon, Turkey, ^{2,3,5}Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Karadeniz Technical University, 61080, Trabzon, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-2286-4777>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7261-7067>, ³<https://orcid.org/0000-0003-4985-9812>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-0934-0223>, ⁵<https://orcid.org/0000-0003-0143-8795>

✉: abudayyak@ktu.edu.tr

ABSTRACT

Herbs are widely used in the treatment of diseases as colds, infections, and cancer. In this work, we evaluate *Alcea calvertii*, which is a perennial herbaceous plant belonging to the Malvaceae family. It spreads in Anatolia and Mediterranean region and has important uses in terms of ethnobotany. In this study, it was aimed to evaluate the cytotoxic potentials and to investigate the antioxidant activities of methanol, water, chloroform, and ethyl acetate extracts of the aerial parts of *Alcea calvertii*. For that, the antioxidant activity of *Alcea calvertii* was determined by four different methods [total phenolic content (TPC), ferric reducing antioxidant power (FRAP), copper reducing antioxidant capacity (CUPRAC) and 2,2-diphenylpicrylhydrazil (DPPH) radical scavenging activity. The cytotoxicity potential of extracts was assessed in the human lung cancer cell line (A549) by MTT assay. It was observed that the highest antioxidant activity was in the methanol extract and the antioxidant activity increased with increasing extract concentration; The TPC values were between 62.5 - 414.6 GAE $\mu\text{g mL}^{-1}$, the FRAP values were between 115.7 - 1321.4 $\mu\text{M Trolox equivalent g}^{-1}$, CUPRAC values were between 177.1 - 1321.4 $\mu\text{M Trolox equivalent g}^{-1}$, and IC_{50} values in DPPH determination were between 0.0089 - 3.5370 mg mL^{-1} . The extracts caused cytotoxicity in a concentration dependent manner, the IC_{50} values were calculated to be between 36.8 - 62.64 $\mu\text{g mL}^{-1}$. It is concluded that *Alcea calvertii* could be an important herb in developing new drugs.

Alcea calvertii'nin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi

ÖZET

Bitkiler ve bitkisel ilaçlar soğuk algınlığı, enfeksiyonlar ve kanser gibi farklı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. *Alcea calvertii*, Malvaceae familyasına ait çok yıllık otsu bir bitkidir. Anadolu ve Akdeniz bölgesinde yayılan bu bitki etnobotanik açısından önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmada, *Alcea calvertii* bitkisinin topraküstü kısımlarının metanol, su, kloroform ve etil asetat ekstraherinin antioksidan aktiviteleri ile bu ekstrahelerin sitotoksik potansiyellerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, *Alcea calvertii*'nin antioksidan aktivitesi dört farklı yöntem [toplam fenolik içeriği (TPC), ferrik indirgeyici antioksidan gücü (FRAP), bakır indirgeyici antioksidan kapasitesi (CUPRAC) ve 2,2-difenilpikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme aktivitesini] ile tespit edilmiştir. İnsan akciğer kanseri hücre hattındaki (A549) sitotoksik potansiyeli ise MTT testi ile belirlenmiştir. En yüksek antioksidan aktivitenin metanol ekstresinde olduğu ve artan ekstre konsantrasyonu ile antioksidan aktivitenin arttığı gözlenmiştir; TPC değerlerinin 62,5- 414,6 GAE $\mu\text{g mL}^{-1}$, FRAP değerlerinin 115,7-

Biochemistry

Research Article

Article History

Received : 13.03.2021

Accepted : 28.10.2021

Keywords

Alcea calvertii,
Antioxidant activity,
Cytotoxicity

Biyokimya

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 13.03.2021

Kabul Tarihi : 28.10.2021

Anahtar Kelimeler

Alcea calvertii,
Antioksidan aktivite,
Sitotoksosite

1321,4 µM Trolox eşdeğeri g⁻¹, CUPRAC değerlerinin 177,1 - 1321,4 µM Trolox eşdeğeri g⁻¹, DPPH tespitinde IC₅₀ değerlerinin 0,0089-3,5370 mg mL⁻¹ arasında hesaplanmıştır. Ekstreler konsantrasyona bağlı olarak hücre ölümüne neden olmuştur ve IC₅₀ değerleri 36,8-62,64 µg mL⁻¹ arasında bulunmuştur. Bu sonuçlar umut verici olup daha kapsamlı çalışmalar ile incelenmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

Atıf Şekli: Abudayyak M, Kanbolat Ş, Ergene R, Batur Ş, Aliyazıcıoğlu R. 2022. *Alcea calvertii*'nin biyolojik aktivitelerinin incelenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 955-964 <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.890659>

To Cite : Abudayyak M, Kanbolat Ş, Ergene R, Batur Ş, Aliyazıcıoğlu R. 2022. Investigation of *Alcea calvertii* biological activities. KSU J. Agric Nat 25 (5): 955-964. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.890659>

INTRODUCTION

During the history of mankind, the interest in herbal therapies has been continued in progress, where the increases and decreases in the uses were following each other. Recently, an increase in herbal use among the different groups of society was observed. According to WHO reports about 70-80% of people prefers herbs primarily for health care. (Maiti et al., 2011). Different factors affect the increase in herbs production and usage, as the belief of low toxicity and the absence of the side effects of natural products (Verschaeve et al., 2004).

Alcea calvertii is a flowering herb of the Malveceae family and assumed to be one of the important plants in terms of ethnobotany in Anatolia. In Turkey, it is commonly known as "Gülhatmi" and distributed in Artvin, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Tunceli provinces (Akan et al., 2015; Konczak et al., 2014; Korkmaz et al., 2014; TÜBİTAK). Although, *Alcea calvertii* thought to be Anatolia-endemic herb (Beğen and Yüksel, 2018; Uzunhisarcıklı and Vural, 2012) the studies in the other countries disproved that (Korkmaz et al., 2014; 2014b).

It was reported that some species of genus *Althea* or *Alcea* (Malveceae) have different pharmacological activities. *Althaea rosea*, one of the most studied *Alcea* species, was reported to have cytotoxicity (Abdel-Salam et al., 2018; Al-Snafi, 2013), anticancer (Shahbipour et al., 2017), antimicrobial (Al-Snafi, 2013; Mert et al., 2010), anti-influenza (Sargin, 2021), antioxidant (Abdel-Salam et al., 2018; Dar et al., 2017; Kordalı et al., 2020; Lee et al., 2018), anti-hyperglycemia (Dar et al., 2017), hepatoprotective effects against paracetamol induced toxicity (Hussain et al., 2014), and curative / protective activity in rats with urolithiasis by decreasing the calcium oxalate deposits; which thought to be in relation with the anti-inflammatory and diuretic effects of mucilaginous and polysaccharides in the herb (Ahmadi et al., 2012). Antitussive, antimicrobial, and anti-inflammatory effects were mentioned for *Althaea officinalis* (Al-Snafi, 2013). *Alcea pallida* was reported to have some antimicrobial activity (Ertas et al., 2016), anti-influenza (Sargin, 2021), expectorant and

anti-inflammatory activity (Unal et al., 2008). Data show that *Alcea apterocarpa* acetone extract has a strong radical scavenging (Ertas et al., 2016), and similar activity was reported for *Alcea hyrcana* Grossh (Zakizadeh et al., 2011). Other studies reported anti hyperlipidemia and anti-hypercholesterolemia of *Alcea angulata* root ethanolic extracts (Fahimi et al., 2012; Fahimi et al., 2018). The *in vivo* studies indicated that *Alcea Aucheri* show an anxiolytic-like and sedative effects (Mombeini et al., 2017) anticonvulsant effects (Mombeini et al., 2020).

On the other hand, the ethnobotanical studies show that different parts of *Alcea calvertii* are used for its anti-inflammatory effect especially for cold, and for skin disorders, kidney stones, urinary system, pulmonary and stomach disorders. *Alcea calvertii* has been used mainly by the total herb, the aerial parts or the roots decoction (Ahmed et al., 2016; Altundag and Ozturk, 2011; Azab, 2016; Sargin, 2021), by the infusion of aerial parts, the total herb, the flowers and leaves (Altundag and Ozturk, 2011; Azab, 2016; Dalar et al., 2018; Sargin, 2021) or directly as a powder (Dalar et al., 2018). Additionally, it was shown that *Alcea calvertii* and other 9 of the *Alcea* genus in the Malveceae family were frequently used because of their anti-urolithatic activity (Azab, 2016; Bozyel and Mert, 2018; Doğan and Tozlacı, 2015; Mossaddegh et al., 2012).

Previous studies prove that herbs with anti-urolithatic effects like *Bergenia ciliata* (Saxifragaceae) (Byahatti et al., 2013), *Pinus elderica* (Pinaceae) (Hosseinzadeh et al., 2010) and *Aerva lanata* (Amaranthaceae) (Saravanasingh et al., 2016) also have antioxidant, anti-bacterial and anti-inflammatory effects (Ahmed et al., 2016; Altundag and Ozturk, 2011; Konczak et al., 2014). Based on these data on the plant we hypothesized that *Alcea calvertii* might have an antioxidant effect. To test this hypothesis; the antioxidant activities of extracts have been determined by total phenolic content (TPC), ferric reducing antioxidant power (FRAP), cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC), and 2,2-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity. Besides that, the cytotoxic effect of *Alcea*

calvertii extracts was evaluated using MTT assays in the human lung cancer cell line (A549).

MATERIAL and METHOD

Material

MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), dimethyl sulfoxide, acetic acid, acetonitrile, methanol, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine), trypan blue, and Folin-Ciocalteu's phenol reagent were purchased from Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Fetal bovine serum, Trypsin/ EDTA solution, antibiotic solution, and cell culture medium were purchased from Multicell Wisent (Quebec, Canada).

Herbal Extraction

Alcea calvertii were collected in July 2017 from the Erzincan (Turkey) and identified by Professor Ali Kandemir. The voucher specimens were kept in the herbarium of Erzincan University, Faculty of Science (Herbarium number: 10955). The aboveground parts of *Alcea calvertii* were dried in the shade, powdered in the grinder. 250 g of powder was extracted with 1000 mL methanol, water, chloroform, and ethyl acetate with continuous stirring for 24 hours at room temperature. The extracts filtered using Whatman No. 1 filter paper. The water phase and the methanolic phase were concentrated at 40°C under reduced pressure using a rotary evaporator. Plant extracts from the evaporator were used to prepare solutions at a concentration of 1, 5 and 10 mg mL⁻¹ (Güner et al., 2019).

Antioxidant Activity

DPPH• Radical Scavenging Activity: DPPH radical-scavenging activity evaluation is based on the antioxidant's DPPH cation radical scavenging capacity (Molyneux, 2004). Briefly, 0.75 mL of DPPH reagent (0.1 mM in methanol) was added to 0.75 mL of all samples and standard, vortexed vigorously, and incubated for 40 mins at room temperature in the darkness. The discoloration of DPPH was measured spectrophotometrically at 517 nm. All measurements were carried out in triplicate. The DPPH• scavenging percentage was calculated using the formula (1):

$$\text{DPPH}\cdot \text{ scavenging percentage} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100(1)$$

where, A₀ is the absorbance of the control, and A₁ is the absorbance of the sample extracts. The exponential regression equation obtained after plotting the DPPH scavenging percentage as a function of concentration (mg mL⁻¹) was used to calculate the IC₅₀, indicating the concentration of samples giving rise to 50% scavenging of DPPH radicals.

Total Phenolic Content (TPC): The total phenolics amount in extracts was determined using the Folin-Ciocalteu procedure (Maiti et al., 2011; Singleton and Rossi, 1965). Phenolic compounds with Folin-Ciocalteu reagent form a blue color complex in an alkaline environment. This blue color can then be measured using the spectrophotometer, giving the total phenolic content. Gallic acid was used as a standard, and the total phenolics were expressed as µg of gallic acid equivalents (GAE) per g of sample. For that, 0.05 mL of each sample were placed into test tubes and mixed with 0.25 mL of 0.2 N Folin-Ciocalteu reagent and 0.75 mL of 7.5% sodium carbonate. Tubes were incubated for 2 h at room temperature, then the absorbance was read at 765 nm spectrophotometrically. The test was carried out in triplicate.

Ferric Ion Reducing Antioxidant Power (FRAP): Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay is based on the measurement of the iron-reducing capacities of the extract (Benzie and Strain, 1996; Korkmaz et al., 2014). FRAP reagent was obtained by combining 25 mL of 0.3 M acetate buffer at pH 3.6 with 2.5 mL of 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine (TPTZ) solution in 40 mM HCl and 2.5 mL of 20 mM FeCl₃.6H₂O. Next, 0.05 mL of the samples was mixed with 1.5 mL of the freshly produced FRAP reagent and incubated at room temperature for 20 min. Absorbance was measured at 595 nm. The assay was carried out in triplicate. Trolox (in ethanol, at concentration 62.5 – 1000 µM) was used as standard and treated similarly. FRAP values were expressed as µM Trolox equivalent of g sample.

Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC): Reducing Mass levels of Antioxidant Capacity (CUPRAC) of the extracts was investigated using the method described previously (Apak et al., 2006; Doğan and Tuzlaci, 2015). Briefly, 1 mL of CuCl₂ solution (1.0 x10⁻² M), 1 mL of neocuproine solution (7.5 x10⁻³ M) and 1 mL of ammonium acetate buffer solution were added to a test tube and mixed. 0.5 mL samples or standard solutions were added and incubated for 30 minutes at room temperature. The absorbance was measured at 450 nm. The test was done in triplicate. The CUPRAC values were expressed as µM Trolox equivalent per gram of sample.

Cytotoxic Activity (MTT Test)

Human lung cancer A549 cell line was obtained from the American Type Culture Collection (CRL-1571TM, ATCC, USA). The cells were cultured in DMEM/F12 medium (Hyclone) containing 1% penicillin and 10% fetal bovine serum (FBS) at 37°C in 5% CO₂ and 95% O₂ humidified cell incubator. When the growth of cell monolayer reached 70%-80% confluence, 0.25% trypsin was used for digestion and passage.

The cytotoxicity of the extracts was evaluated by MTT assay which investigates the mitochondrial activity in the cells. The assay principle is that, in the presence of an electron-coupling reagent, the yellow water-soluble tetrazolium salt MTT, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide, is reduced to an insoluble purple formazan product by mitochondrial succinate dehydrogenase, which belongs to the mitochondrial respiratory chain and is only active in the viable cells (Abudayyak et al., 2015; Alley et al., 1988).

For that, the cells were seeded in 96-well plates at 10^4 cells per well and allowed to attach overnight. Cells were treated with different concentrations (3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 mg mL⁻¹) of herb extracts in DMSO. At the end of the exposure period (24 hours), 25 µL of MTT solution (5 mg mL⁻¹) was added to each well and incubated for a further 2 hours. After that, the supernatant was carefully aspirated, and the formazan crystals were dissolved in 100 µL DMSO. The optical density (OD) of the formazan product was read at 590 nm against the reference wavelength of 670 nm using a microplate reader. In every test, negative (untreated, culture medium) and solvent (1% DMSO) controls were used. Independent experiments were done in triplicate and repeated 3 times (n=9).

The inhibition concentration (IC) value was calculated as the percentage of solvent controls according to the formula (2), results were expressed as 50% inhibition concentration (IC₅₀), the concentration of samples that caused a 50% inhibition of enzyme activity in the cells.

Inhibition (%) = 100 – [(corrected mean OD sample × 100)/corrected mean OD solvent control] (2)

Statistical Analysis

Statistical analyses were carried out by one-way ANOVA Post Hoc Dunnett's test using SPSS v.20 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL). Data was expressed as mean ± standard deviation (SD). A two-tailed p<0.05 was considered to indicate a statistically significant difference (Abudayyak et al., 2015; Alpertunga et al., 2014).

RESULTS

Antioxidant Activity

Several mechanisms are often used to explain the antioxidant potential of a substance or a complex mixture; The main mechanisms involve the free radical scavenging, reduction capacity, and metals chelation as DPPH, CUPRAC, FRAP and TPC tests were used in this study to evaluate the antioxidant potential of herb extracts.

DPPH• Radical Scavenging Activity: DPPH radical scavenging activity was found to be concentration-dependent (Table 1). All the extracts were found to

have radical scavenging activity of DPPH, the IC₅₀ values of the extracts ranged from 0.0089 to 3.5370 mg mL⁻¹. Results show that MeOH extract of *Alcea calvertii* at a concentration of 10 mg mL⁻¹ with the lowest IC₅₀ value (0.0089 ± 0.0003 mg mL⁻¹) exhibits the highest antiradical activity against the DPPH free radical, while the CHCl₃ extract at a concentration of 1 mg mL⁻¹ has the lowest activity with an IC₅₀ value of 3.5370 ± 0.0145 mg mL⁻¹. The IC₅₀ value of BHT used as the standard compound was 0.0325 mg mL⁻¹. In conclusion, the antioxidant effect of *Alcea calvertii* is 36.5 times greater than that of synthetic antioxidant BHT (Table 1).

Total Phenolic Content (TPC): The different extracts of *Alcea calvertii* gave TPC values with a total antioxidant capacity ranging between 62.50 and 414.58 GAE µg mL⁻¹. The antioxidant capacity was increased as the concentration of samples increased and samples with a concentration of 10 mg mL⁻¹ have the highest antioxidant capacity. Besides that, MeOH extract showed higher antioxidant capacity than the other extracts, while EtAc extracts had the lowest (Table 1).

Ferric Ion Reducing Antioxidant Power: *Alcea calvertii* extracts gave FRAP values with a total antioxidant capacity ranging between 115.71 and 1321.43 µM Trolox equivalent g⁻¹. The antioxidant capacity was increased in a concentration-dependent manner. Also, MeOH extract showed higher antioxidant capacity than the other extracts and the CHCl₃ extract had the lowest (Table 1).

Cupric Reducing Antioxidant Capacity: The extracts of *Alcea calvertii* gave CUPRAC values with a total antioxidant capacity ranging between 177.14 and 2102.38 µM Trolox equivalent g⁻¹. The antioxidant capacity was increased as the concentration of samples increased, samples with a concentration of 10 mg mL⁻¹ have the highest antioxidant capacity. Besides that, MeOH extracts showed the highest antioxidant capacity and the CHCl₃ extract had the lowest (Table 1).

Cytotoxic Activity

In the current study, different extracts of *Alcea calvertii* were evaluated for their cytotoxic potentials on A549 cell line using MTT assay. The tested concentrations were established based on the maximum permissible concentrations of the test conditions; and the following concentrations were used 3.125, 6.25, 12.50, 25.00 50.00 and 100.00 µg mL⁻¹.

The IC₅₀ values were calculated to 36.82; 47.5; 62.64 and 50.47 µg mL⁻¹ for MeOH, water, EtAc, and CHCl₃ extracts, respectively. Results showed that MeOH extract had the highest cytotoxic activity while EtAc extract showed the lowest (Figure 1).

Control cells were exposed to 1% DMSO. The statistical evaluation was performed by one-way ANOVA Post Hoc Dunnett's test, compared to the

control group. The results were expressed as the means. Error bars represent \pm standard deviation, (* $p < 0.05$).

Table 1: The antioxidant activities of *Alcea calvertii* extracts
 Çizelge 1: *Alcea calvertii* ekstrerelelerinin antioksidan aktiviteleri

extracts	ekstreler	mg mL ⁻¹	TPC GAE μ g g ⁻¹	FRAP (TE μ M g ⁻¹)	CUPRAC (TE μ M g ⁻¹)	DPPH (mg mL ⁻¹)
Methanol	Metanol	1	82.92 \pm 1.47	510.00 \pm 3.35	355.24 \pm 2.37	0.2311 \pm 0.0025
		5	192.5 \pm 2.25	719.52 \pm 5.11	847.14 \pm 3.46	0.1022 \pm 0.0021
		10	414.58 \pm 2.7	1321.43 \pm 6.4	2102.38 \pm 7.6	0.0089 \pm 0.0003
Water	Su	1	64.17 \pm 0.92	359.05 \pm 1.52	260.48 \pm 1.58	0.3366 \pm 0.0041
		5	127.5 \pm 2.02	520.48 \pm 3.48	603.33 \pm 1.68	0.2635 \pm 0.0027
		10	313.33 \pm 2.4	964.76 \pm 5.27	1029.05 \pm 5.4	0.0563 \pm 0.0012
ethyl acetate extract	Etil asetat	1	62.50 \pm 0.73	160.48 \pm 1.64	289.52 \pm 1.96	2.6722 \pm 0.0135
		5	170.83 \pm 1.2	315.71 \pm 2.31	361.43 \pm 2.64	1.8282 \pm 0.0127
		10	274.17 \pm 1.3	454.29 \pm 3.14	657.14 \pm 3.63	1.5779 \pm 0.0115
chloroform	Kloroform	1	78.33 \pm 0.67	115.71 \pm 1.20	177.14 \pm 1.82	3.5370 \pm 0.0145
		5	127.1 \pm 1.39	167.14 \pm 1.63	204.29 \pm 2.72	1.9159 \pm 0.0093
		10	228.3 \pm 1.47	504.29 \pm 3.24	310.00 \pm 1.39	1.3909 \pm 0.0078
BHT	BHT					0.0325 \pm 0.009

results were expressed as the means \pm standard deviation .

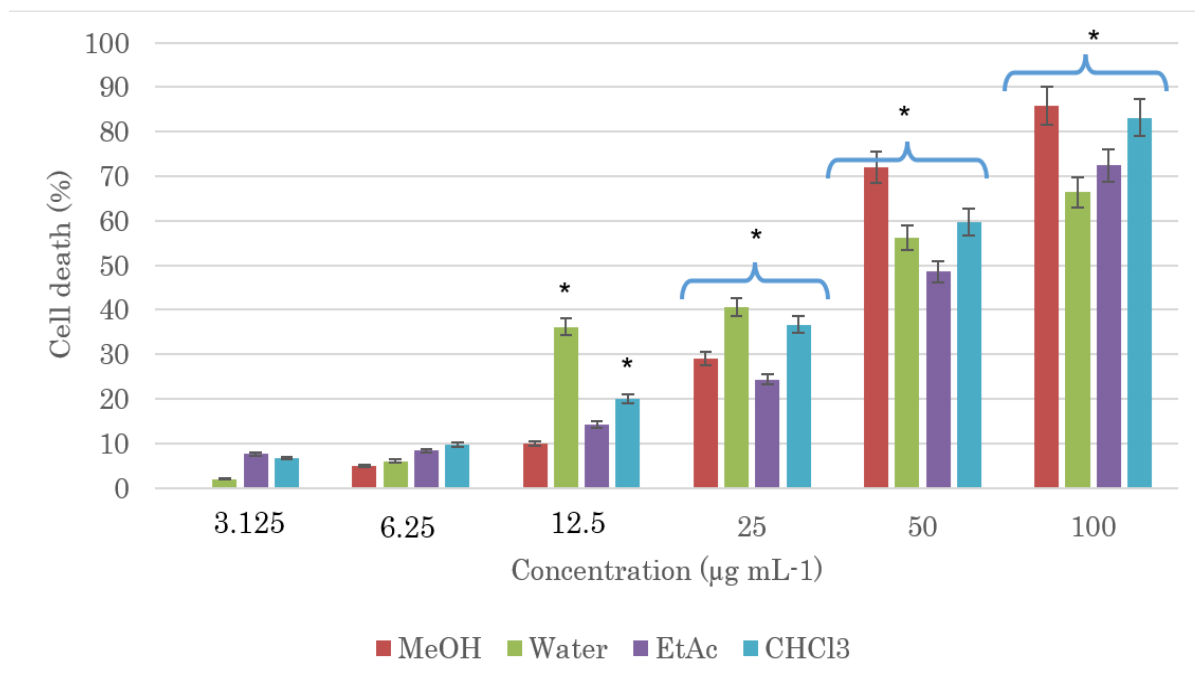


Figure 1: The cytotoxic activity of *Alcea calvertii* by MTT test in A549 cell line.

Şekil 1: A549 hücre hattında MTT testi ile *Alcea calvertii*'in sitotoksik aktivitesinin değerlendirilmesi.

DISCUSSION

About 70-80% of the world's population benefits from treatment with herbal resources. Especially in folkloric as Chinese medicine, herbs have been using as a medicine for the treatment of many diseases including cancer (Lau et al., 2004; Pan et al., 2010). Furthermore, herbal medicinal products have been using as remedies in both Eastern and Western cultures for hundreds of years (Chan, 2003).

People are exposed to the harmful effects of reactive

oxygen species (ROS) by many sources. While ROS are produced by organisms that survive as a result of normal cellular metabolism (Halliwell and Gutteridge, 1999), the endogenous defense system of the human body shows weak effects against ROSs, depending on both aging and environmental factors. As a result, many of the components in the body are damaged and all of this is the cause of degenerative diseases.

Since ROS harms the organism depends on the

amount; When their amount is low or medium level, they do not continue to function physiologically and harm the organism. However, when ROS levels increase, they can create harmful effects on cell components such as DNA, protein, and lipid (Marnett, 1999; Valko et al., 2006). Oxidative stress caused by the shift of oxidant / antioxidant balance towards oxidants; causing cancer, neurological disorders (Lyras et al., 1997; Sayre et al., 2001), atherosclerosis, hypertension, ischemia/perfusion (Dhalla et al., 2000; Kasparova et al., 2005), diabetes and various lung diseases as pulmonary disorders, chronic obstructive lung disease (Asami et al., 1997). However, besides the protective antioxidant defense systems in the organism that neutralize these free radicals (Valioglu et al., 1998), components such as phenolic compounds and flavonoids found in plants are natural antioxidant agents play an important role in the defense against the free radicals. These components are known to have antimicrobial, anti-inflammatory, antiallergic, anti-inflammatory, anticarcinogenic, cytotoxic activities in addition to their antioxidant activities (Dillard and German, 2000; Prior, 2003; Rao et al., 2007). Phenolic compounds have been suggested to contribute by regulating carcinogen metabolism, inhibiting DNA binding, inducing apoptosis, and inhibiting the survival of cancer cells (Huang and Chai, 2010; Demir et al., 2017). For this reason, the demand for exogenous antioxidants is gradually increasing for the body to cope with oxidative stress (Zaporozhets et al., 2004). Epidemiological studies indicated that plant-weighted nutrition affects positively the human health and that this form of nutrition makes the human body more resistant to many diseases related to oxidative stress (Manach et al., 2005).

In this study, TPC, FRAP, CUPRAC, DPPH methods, which are widely used in determining antioxidant activity, were performed (Sener et al., 2018). Results show that the highest TPC, FRAP, CUPRAC and DPPH values of the *Alcea calvertii* methanolic extract (10 mg mL⁻¹) were found to be 414.58 ± 2.71 µg gallic acid equivalent g⁻¹, 1321.43 ± 6.39 µM Trolox equivalent g⁻¹, 2102.38 ± 7.56 µM Trolox equivalent g⁻¹, and 0.0089 ± 0.0003 mg mL⁻¹, respectively. The DPPH antioxidant effect of *Alcea calvertii* methanolic extract was found to be approximately 36 times greater than the effect of BHT, a synthetic antioxidant. Similar to this data, several studies indicate the antioxidant activity and free radical scavenging activity of different *Alcea* species. Studies have also reported that there is a powerful association between TPC and antioxidant activities (Giorgi et al., 2005; Scalzo et al., 2005). In a new study by Keser et al., (2020), the methanol, ethanol, and water extracts of *Alcea calvertii* flowers were evaluated for antiradical-antioxidant and antimicrobial and other

activities. Their results indicate that the extracts at 500 µg mL⁻¹ concentration show antioxidant activity but lower than Trolox the standard, and the extracts have a great antimicrobial activity against different microorganisms (Keser et al., 2020). In a study by Tusevski et al (2004), they found the total phenolic content of the flowers of *Alcea pallida* 10.90 ± 0.36 mg GAE g⁻¹ dry weight (DW), CUPRAC value 52.89 ± 1.08 µmol TE g⁻¹ DW, DPPH value 56.73 ± 0.68 µmol TE g⁻¹ DW (Tusevski et al., 2004). Qader and Awad (2014) have demonstrated the aqueous extract of *Alcea kurdica* has potent free radical scavenging activity of 64% ± 1.64% and ferric reduction capacity of 2955.0 ± 0.04 mmol g⁻¹, as well as having 88.0 ± 0.002 mg gallic acid equivalents g⁻¹ plant extract. They have reported the TPC value of *A. kurdica* was 80 ± 0.98 mg gallic acid equivalents g⁻¹ of the extract (Qader and Awad, 2014). In similar to this study findings, Qader et al. reported that the potent radical scavenging effect is positively associated with the high content of phenolic components (Qader et al., 2011).

Alcea setosa, one of *Alcea* species that widely used in the Mediterranean folk-medicine for kidney stone, urinary tract disorders and pulmonary diseases, was evaluated by Alhage & Elbitar (2019) and weak antioxidant activity of was reported (Alhage and Elbitar, 2019). Azadeh et al., (2020) evaluate the radical scavenging activity of three *Alcea* species Using DPPH assay, and they found a high scavenging activity in *A. aucheri* var. *aucheri* (IC₅₀ 34.06 µg mL⁻¹) (Azadeh et al., 2020). Anlas et al., (2017) reported that the total amount of phenol content and the DPPH radical scavenging activity of *Alcea apterocarpa* (FENZL) BOISS, one of the Turkey endemic herbs, varied according to extraction method, and TPC ranged from undetectable to 33.28 ± 2.55 mg gallic acid g⁻¹ dry weight, while the IC₅₀ of DPPH radical scavenging activity test was 379.7±2.00 - 1820±2.15 µg mL⁻¹ (Anlas et al., 2017).

Abdel-Salam et al., (2018) isolated six flavonoids from the flowers of *Alcea rosea* L. and evaluated their antioxidant, Immune stimulant, and cytotoxicity potential in HepG-2 hepatocarcinoma cells and normal peripheral blood mononuclear cells (PBMC); Their results indicated a significant immune stimulant activity for some compounds and significant antioxidant activity for others. Additionally, the isolated flavonoids showed cytotoxicity against the cells with IC₅₀ arranged between 3.82 to 374.75 µg mL⁻¹ in HepG-2 cells and 58.46 to 193.49 in PBMC cells; They also reported a high selectivity towards the cancer cells for kaempferol-3-O-β-d-glucopyranoside the flavonoid with the highest cytotoxicity (Abdel-Salam et al., 2018). Yaglioglu et al., (2016) evaluated its methanol extract against brain tumor C6 cells an human

cervical cancer HeLa cells and the IC₅₀ values were 37.63 and 14.48 µg mL⁻¹, respectively. For the same herb, Kalemba-Drożdż & Cierniak (2019) found that 100-folds diluted 1% flower tincture did not induce any cytotoxicity in human peripheral blood cells after treatment for 1& 24 h (Kalemba-Drożdż and Cierniak, 2019; Yaglioglu et al., 2016). Mert et al., (2010) used the brine shrimp lethality test to evaluate the toxicity of *Alcea rosea* L. extracts. They found that LC₅₀ was 545.4 µg mL⁻¹ for ethyl acetate extract and higher than 1000 µg mL⁻¹ for methanol, ethanol and hexane extracts (Mert et al., 2010).

The malvidin-3,5-diglucoside that isolated from *Alcea longipedicellata* show a concentration-dependent cytotoxicity after 24h exposure period in AGS-C131 cells and the IC₅₀ value was 140.6 µM (Karamani et al., 2008).

Qader and Awad (2014) evaluated the aqueous extract of *Alcea kurdica* Alef for the cytotoxicity potential in human normal fibroblast Hs888Lu cell line by Promega Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation MTS assay and reported no cytotoxicity at concentrations up to 2000 µg mL⁻¹ (Qader and Awad, 2014). Similarly, *Alcea setosa* dichloromethane and methanol (1:1, v/v) extract was reported that to have "no toxicity" in L929sA, MCF7 and MDA-MB 231 cells lines after 24 h (Kaileh et al., 2007),

Esmaili et al., (2016) evaluated the cytotoxicity of *Alcea calvertii* (Boiss.) methanolic extract against HepG-2, MCF-7, HT-29 and A549 cell lines at concentrations between 3.125 to 100 µg mL⁻¹; However, the IC₅₀ values could not be calculated at the tested concentration (Esmaili et al., 2016). In the present work, the IC₅₀ value of methanolic extract calculated to be 36.82 µg mL⁻¹. This difference could be explained by the differences in the season of collection, the collection area, or the used part.

Keser et al., (2020) evaluated the antiproliferative activity of *Alcea calvertii* flowers methanol, ethanol, and water extracts in MCF-7, HCT-116 and LNCaP cell lines. The IC₅₀ values of extracts calculated to be 15.25 – 25.17 µg mL⁻¹ MCF-7, 9.89 – 11.84 µg mL⁻¹ in LNCaP and 10.78 – 20.08 µg mL⁻¹ in HCT-116 cells, where methanol extracts the potent in LNCaP cells and water extract in the other cell lines (Keser et al., 2020). Similarly, in the present study the methanol extract is the most potent in A549 cells, and IC₅₀ values calculated to be 36.82; 47.5; 62.64 and 50.47 µg mL⁻¹ for MeOH, water, EtAc, and CHCl₃ extracts, respectively; Which confirm with the antioxidant activity results, since methanol extract show the highest radical scavenging activity and contains the highest amount of TPC, and also exhibit the best activity by FRAP and CUPRAC assay. Results show also close antioxidant activity of ethyl acetate and chloroform extracts which was lower than other

extracts activity and parallel with cytotoxicity activity.

CONCLUSION

Nowadays, the usage of herbal products was increase dramatically. Besides the traditional uses, herbs have been used in the development of modern drugs. *Alcea calvertii* is one of commonly used herbs in Turkey and Middle East countries for treat different diseases like anti-urolytic. From the previous data it was noticed that herbs with anti-urolytic activity also show antioxidant activities; For that, in this work it was hypothesized that *Alcea calvertii* has an antioxidant activity. Additionally, as a preliminary study of antineoplastic activity, the cytotoxic potential of *Alcea calvertii* extracts was estimated by MTT assay in human lung cancer cells. This study is the first work that evaluates the antioxidant potential and cytotoxic of *Alcea calvertii* in human lung carcinoma cells. The present results showed that the different extracts of *Alcea calvertii* have a cytotoxic activity against A549 cells and as we hypothesized, similar to the other anti-urolytic herbs as *Bergenia ciliate*, *Pinus elderica* and *Aerva lanata*, *Alcea calvertii*, has good antioxidant activity. The antioxidant activity values that obtained from this study are compatible with the literature data. It is thought that the characteristics of the soil on which the plant is grown, the climatic characteristics of the region where the plant is collected, the height differences on which the plant grows, and the type of solvent used are different. Therefore, the antioxidant capacity of *Alcea calvertii* could be related to its phenolic content. *Alcea calvertii* could be researched in order to develop new drugs. For that, more pharmacognostic, *in vivo* and *in vitro* studies are required to obtain active compounds of the herb and to investigate their pharmacological effects and to evaluate its safety.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by TÜBİTAK 2209A " University Students Domestic Research Projects Support Program " project number 1919B011800561.

Author Contributions:

All authors contributed substantially to the manuscript and have met the criteria for authorship.

Statement of Conflict of Interest:

The authors declare that there are any competing interests.

REFERENCES

- Abd El-Salam NM, Radwan MM, Wanas A, Shenouda M, Sallam S, Piacente S, ElSohly M, Ghazy N 2016. Phytochemical And Biological Evaluation of

- Alcea rosea* L., Growing In Egypt. *Planta Medica* 82:2–3.
- Abdel-salam NA, Ghazy NM, Sallam SM, Radwan MM, Wanas AS, ElSohly MA, El-Demellawy MA, Abdel-Rahman NM, Piacente S, Shenouda ML 2018. Flavonoids Of *Alcea rosea* L. And Their Immune Stimulant, Antioxidant and Cytotoxic Activities On Hepatocellular Carcinoma Hepg-2 Cell Line. *Natural Product Research* 32:702–706.
- Abudayyak M, Ozdemir Nath E, Ozhan G 2015. Toxic Potentials of Ten Herbs Commonly Used Aphrodisiac Effect in Turkey. *Turkish Journal of Medical Sciences* 44: 496-506.
- Ahmadi M, Rad AK, Rajaei Z, Hadjzadeh MAR, Mohammadian N, Tabasi NS 2012. *Alcea rosea* Root Extract As A Preventive And Curative Agent In Ethylene Glycol-Induced Urolithiasis In Rats. *Indian Journal of Pharmacology* 44:304–307.
- Ahmed S, Hasan MM, Mahmood ZA 2016. Antiuro lithiatic Plants in Different Countries and Cultures. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 5: 102-115.
- Akan H, Bakır Sade Y 2015. Ethnobotanical Investigation of Kahta (Adıyaman) Center and Narince Village [Kahta (Adıyaman) Merkezi ve Narince Köyü'nün Etnobotanik Açidan Araştırılması] Bitlis Eren University Journal of Science 4(2): 219-248.
- Alpertunga B, Kara M, Abudayyak M, Oztas E, Ozden S, Özhan G 2014. Effects of prochloraz on DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant system in vitro, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 24:4, 268-275
- Alhage J, Elbitar H 2018. In Vitro Screening for Antioxidant and Antimicrobial Properties of Three Lebanese Medicinal Plants Crude Extracts 2019. *Pharmacognosy Research* 11(2):127–133.
- Alley MC, Scudiero DA, Monks A, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, Abbott BJ, Mayo JG, Shoemaker RH, Boyd MR 1988. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Research* 48: 589–601.
- Al-Snafi AE 2013. The Pharmaceutical importance of *Althaea officinalis* and *Althaea rosea*: A review. *International Journal of PharmTech Research* 5:1378–1385
- Altundag E, Ozturk M 2011. Ethnomedicinal Studies on The Plant Resources of East Anatolia, Turkey. *Procedia - Social and Behavioral Sciences* 19: 756-777.
- Anlas C, Ustuner O, Alkan F, Bakirel T, Aydogan M, Erel S 2017. a Comparative Study on the Antioxidant Activities and Phenolic Contents of Different Extracts of a *Chillea nobilis* Subsp *Sipylea* and *Alcea apterocarpa* (Fenzl) Boiss, Endemic Plants in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 26:1423–1430.
- Apak R, Güçlü K, Ozyürek M, Karademir SE, Erça E 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *international journal food science nutrition* 57:292-304.
- Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R, et al 1997. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis* 18:1763–1766.
- Azab A 2016. *Alcea*: traditional medicine, current research and future opportunities. *European Chemical Bulletin* 6 (5): 505-514.
- Azadeh Z, Saeidi K, Lorigooini Z, Kiani M, Maggi F 2020. Organ-Oriented Phytochemical Profiling and Radical Scavenging Activity of *Alcea* spp. (Malvaceae) from Iran. *SN Applied Sciences* 2:1–9. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2410-3>
- Beğen HA and Yüksel E 2018. The flora of Alanbaşı and Bakırtepe villages (Yusufeli, Artvin, Turkey) and its surroundings. *Turkish Journal of Biodiversity* 1:17–23.
- Benzie IFF, Strain JJ 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-6.
- Boyzal ME and Mert EM 2018. Antiuro lithiatic Activity of Medicinal Plants in Turkey. (Assessment of Working Postures of Nursery Workers in Seedling Production Activities (Ed. Christov I, Strauss E, Gad A, Curebal D) 152-162.
- Byahatti VV, Vasantakumar Pai K, D'Souza MG 2010. Effect of Phenolic Compound from *Bergenia ciliata* (Haw.) Stemb. Leaves on Experimental Kidney Stones. *Ancient science of life* 30: 14-17.
- Chan K 2003. Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines, *Chemosphere* 52: 1361–1371.
- Dalar A, Mukemre M, Unal M, Ozgokce F 2018. Traditional Medicinal Plants of Ağrı Province, Turkey. *Journal of Ethnopharmacology* 226:56–72.
- Dar PA, Ali F, Sheikh IA, Ganie SA, Dar TA 2017. Amelioration of Hyperglycaemia and Modulation of Antioxidant Status By *Alcea Rosea* Seeds in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Pharmaceutical Biology* 55:1849–1855 . <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1333127>
- Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T 2000. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Journal of Hypertension* 18: 655–673.
- Doğan A, Tuzlacı E 2015. Some Local Plant Names of Tunceli [Tunceli'nin Bazı Yöresel Bitki Adları]. *Eurascience Journal* 3: 22-33.
- Ertas A, Boga M, Gazioglu I, Yesil Y, Hasimi N, Ozaslan C, Yilmaz H, Kaplan M 2016. Fatty acid, Essential Oil and Phenolic Compositions of *Alcea Pallida* and *Alcea apterocarpa* With Antioxidant, Anticholinesterase and Antimicrobial Activities. *Chiang Mai Journal of Science* 43:89–99 .

- Esmaeili S, Irani M, Zehan HM, Keramatian B, Harandi ZT, Hamzeloo-Moghadam M 2016. Cytotoxic Activity of Some Ethnic Medicinal Plants From Southwest of Iran. *Research Journal of Pharmacognosy* 3:43–47
- Fahimi Z, Cheraghi j, Pilehvarian AA, Sayehmiri K, Kjosarvi A 2012. Effects of *Alcea angulate* Roots Alcoholic Extract on Blood Lipid of Male Rabbit. *Journal of Ilam University of medical Sciences* 20:23-32.
- Fahimi Z, Soltanbeigi S, Asadollahi K, Kaffashi M and Kaffashian MR 2018. Effects of Alcoholic Extract of Stem and Aerial Parts of the *Alcea angulate* Plant on Aorta Atherosclerotic Plaque Formation in Rabbit. *Archives of Medicine* 10:1- 5.
- Giorgi M, Capocasa F, Scalzo J, Murri G, Battino M, Mezzetti B 2005. The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach. *Scientia Horticulturae* 107: 36-42.
- Güner M, Kalaycioglu AT, Kanbolat S, orkmaz N, Aliyazicioglu R, Abudayyak M, et al 2019. Evaluation of Antioxidant, Antimicrobial, Antityrosinase and Cytotoxic Potentials of *Isatis cappadocica* subsp. *alyssifoli* as a Potent Pharmaceutical Resource. *Journal of Pharmaceutical Research International* 26: 1-12.
- Halliwell B and Gutteridge JMC 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. In: Halliwell B and Gutteridge JMC, Eds., *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd Edition, Oxford University Press, Oxford, 1999:1-25.
- Hosseinzadeh H, Khooei AR, Khashayarmanesh Z, Motamed-Shariaty V 2010. Antiuro lithiatic Activity of *Pinus elderica* Medw. Fruits Aqueous Extract in Rats. *Urology Journal* 7: 232-7.
- Hussain L, Akash MSH, Tahir M, Rehman K, Ahmed KZ 2014. Hepatoprotective Effects of Methanolic Extract of *Alcea Rosea* Against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice. *Bangladesh Journal of Pharmacology* 9:322–327 . <https://doi.org/10.3329/bjp.v9i3.19068>
- Kaileh M, Berghe W Vanden, Boone E, Essawi T, Haegeman G 2007. Screening of Indigenous Palestinian Medicinal Plants for Potential Anti-Inflammatory and Cytotoxic Activity. *Journal of Ethnopharmacology* 113:510–516. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.07.008>
- Kalemba-Drozd M, Cierniak A 2019. Antioxidant and Genoprotective Properties of Extracts From Edible Flowers. *Journal of Food and Nutrition Research* 58:42–50
- Kamrani Y, Esmaeelian B, Jabbari M, Tabaraei B, Yazdanyar A, Ebrahimi S 2008. Anti-Cancer Effects of Malvidin-3,5-Diglucoside From *Alcea Longipedicellata*, on Gastric Cancer Cell Line (AGS). *Planta Medica* 74(9):A174. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1084172>
- Kasparova S, Brezova V, Valko M 2005. Study of the oxidative stress in a rat model of chronic brain hypoperfusion. *Neurochemistry International* 46: 601–611.
- Keser S, Keser F, Tekin S, Kaygili Ö, Turkoglu I, Demir E, Karatepe M, Kirbag S, Yilmaz Ö, Sandal S, Turkoglu S 2020. In vitro Antiradical, Antimicrobial and Antiproliferative Activities and Phytochemical Compositions of Endemic *Alcea calvertii* (Boiss) Boiss. *Flowers* 2020. *Düzce University Journal of Science & Technology Research* 8:693–701. . <https://doi.org/10.29130/dubited.595147>
- Konczak I, Dalar A, Konczak-Islam KA. “Health Attributes, Antioxidant Properties and Phytochemical Composition of Traditional Medicinal Plants from Eastern Anatolia”, in *Medicinal Plants*, ed. Pereira D.A.M., Nova Science Publishers, 2014:183 – 225 p. ISBN: 978-1-62948-219-4
- Kordali Ş, Usanmaz Bozhüyük A, Beyzi E, Güneş A, Turan M 2021. Antioxidant Enzyme, Phenolic Substance and Plant Nutrient Contents of *Malva sylvestris* L. and *Alcea rosea* L. Species Used as Medicinal Plants. *Journal of the Institute of Science and Technology* 11:786–794 . <https://doi.org/10.21597/jist.747673>
- Korkmaz M, Kandemir A, Karacan S 2014. A Survey on Determining The Plant of *Taxa Zetrin* Spice Used in Kemaliye District (Erzincan, Turkey). *Bothalia Journal* 44: No 3.
- Korkmaz M, Karakurt E 2014b. Medicinal Plants Sold in Kelkit (Gümüşhane) [Kelkit (Gümüşhane) Aktarlarında Satılan Tıbbi Bitkiler]. *Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences* 18: 60-80.
- Lau CBS, Ho CY, Kim CF, Leunge KN, Fung KP, Tse TF, Chow MSS 2004. Cytotoxic Activities of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) Extract on Human Leukemia and Lymphoma Cells By Induction of Apoptosis. *Life Science Journal* 75: 797-808.
- Lee G, Yeom A, Won K, Park CM, Joung MS, Lee GY, CP Jeong 2018. Evaluation of *Alcea rosea* L. Callus Extract as a Natural Cosmetic Ingredient. *Journal of Society of cosmetic scientists of Korea* 44:295–302
- Lyras L, Cairns NJ, Jenner A, Jenner P, Halliwell B 1997. An assessment of oxidative damage to proteins, lipids, and DNA in brain from patients with Alzheimer’s disease. *Neurochemical Research* 68: 2061–2069.
- Maiti B, Nagori BP, Singh R, Kumar P 2011, Upadhyay N. Recent trends in herbal drugs: a review. *The International Journal of Drug Research and Technology* 1: 17–25.
- Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C 2005. Bioavailability and Bioefficacy of Polyphenols in Humans. I. Review of 97

- Bioavailability Studies. *The American Journal of Clinical Nutrition* 81: 230-242.
- Marnett LJ 1999. Lipid peroxidation DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research* 424: 83-95.
- Mert T, Fafal T, Kivçaks B, Öztürk HT 2010. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of The Extracts Obtained From The Flowers of *Alcea rosea* L. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy* 30:17-24
- Molyneux P 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarın Journal of Science and Technology* 26: 211-9.
- Mombeini T, Behzadi BA, Ejtemaei R, Tahmasbi F, Kamalinejad M, Dehpour AR 2020. Anticonvulsant Effect of *Alcea aucheri* on Pentylene-tetrazole and Maximal Electroshock Seizures in Mice. *Basic and Clinical Neuroscience* 11:369-378 .
- Mombeini T, Pourbadie HG, Kamalinejad M, Mazloumi S, Dehpour AR 2017. Anxiolytic-Like and Sedative Effects of *Alcea aucheri* (Boiss.) Alef. Flower Extract in The Laboratory Rat. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 16:1495-1508 . <https://doi.org/10.22037/ijpr.2017.2142>
- Mossaddegh M, Naghibi F, Moazzeni H, Pirani A, Esmaeili S 2012. Ethnobotanical Survey of Herbal Remedies Traditionally Used in Kohgiluyehva Boyer Ahmad Province of Iran. *Journal of Ethnopharmacology* 141: 80-96.
- Pan L, Chai H, Kinghom AD 2010. The Continuing Search for Antitumor Agents From Higher Plants. *Phytochemistry Letters* 3: 1-8.
- Qader SW, Abdulla MA, Chua LS 2011. Antioxidant, total phenolic content and cytotoxicity evaluation of selected Malaysian plants. *Molecules* 16: 3433-3443.
- Qader SW, Awad HM 2014. Evaluation of Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxicity of *Alcea kurdica* Alef. *Jordan Journal of Biological Sciences* 7: 205-209.
- Sahin Yaghluglu A, Eser F, Tekin S, Onal A 2016. Antiproliferative Activities of Several Plant Extracts From Turkey on Rat Brain Tumor and Human Cervix Carcinoma Cell Lines. *Frontiers in Life Science* 9:69-74 . <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1089949>
- Saravanasingh K, Ramamurthy M, Parthiban P 2016. In-vitro Anti-Urolithiatic Activity of Aerial Parts of *Aerva lanata* (L.) *International Journal of Current Research in Medical Sciences* 2: 24-27.
- Sargin SA 2021. Potential Anti-Influenza Effective Plants Used in Turkish Folk Medicine: A Review. *Journal of Ethnopharmacology* 265:113319. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113319>
- Sayre LM, Smith MA, Perry G 2001. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Current Medicinal Chemistry* 8: 721-738.
- Scalzo J, Politi A, Pellegrini N, Mezzetti B, Battino M 2005. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition* 21: 207-213.
- Sener SO, Korkmaz N, Akkaya S, Badem M, Aliyazicioğlu R, Özgen U, et al 2018. Investigation of Phenolic Compounds by RP-HPLC and Antioxidant, Antimicrobial, Tyrosinase Inhibitor Activities of *Clinopodium vulgare* L. subsp. *vulgare* Extract. [*Clinopodium vulgare* L. subsp. *vulgare* ekstresinin antioksidan, antimikrobial, tirozinaz inhibitor aktiviteleri ve rp-hplc ile fenolik bileşiklerinin araştırılması]. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 8: 230-238.
- Shahabipour F, Caraglia M, Majeed M, Derosa G, Maffioli P, Sahebkar A 2017. Naturally Occurring Anti-Cancer Agents Targeting EZH2. *Cancer Letters* 400:325-335 . <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.03.020>
- Singleton VL, Rossi JA 1956. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-58.
- Turkish Plants Data Service (TÜBİVES), *Alcea calvertii*. <http://www.tubives.com/> , (accessed at March 02, 2020)
- Tusevski O, Kostovska A, Iloska A 2004. Phenolic production and antioxidant properties of some Macedonian medicinal plants. *Central European Journal of Biology* 9: 888-900.
- Unal EL, Mavi A, Kara AA, Cakir A, Şengül M, Yildirim A 2008. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Plants Used As Remedies in Turkish Traditional Medicine. *Pharmaceutical Biology* 46:207-224 . <https://doi.org/10.1080/13880200701735577>
- Uzunhisarcıklı ME, Vural M 2012. The Taxonomic Revision of *Alcea* and *Althaea* (Malvaceae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany* 36: 603-639.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemistry & Biology* 160: 1-40.
- Verschaeve L, Kestens V, Taylor JLS 2004. Investigation of the antimutagenic effects of selected South African medicinal plant extracts. *Toxicology in vitro* 18: 29-35.
- Zakizadeh M, Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA 2011. In vitro Antioxidant Activity of Flower Seed and Leaves of *Alcea hyrcana* Grossh. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 15:406-412
- Zaporozhets OA, Krushynska OA, Lipkovska NA, Barvinchenko VN 2004. A New Test Method for the Evaluation of Total Antioxidant Activity of Herbal Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 21-25 21.

Bitki Ekstrelerinde Oksidatif Stres Biyobelirteçleri için Yöntem Performansının Değerlendirilmesi ve Biyolojik Varyasyonlar: Metot Validasyon Çalışması

Erkan ÖNER^{1*}, Ergül Belge KURUTAŞ², İltir DEMİRHAN³, Meltem GÜNGÖR⁴

¹Mersin Üniv. Eczacılık Fak, Biyokimya ABD, Mersin-Türkiye ²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv, Tıp Fak, Tıbbi Biyokimya Bölümü, Kahramanmaraş-Türkiye ³Harran Üniv, SHMYO, Elektronik-Otomasyon Bölümü, Şanlıurfa-Türkiye, ⁴Sanko Üniv, Tıp Fak, Tıbbi Biyokimya Bölümü, Gaziantep-Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-6332-6484>, ²<https://orcid.org/0000-0002-6653-4801>, ³<https://orcid.org/0000-0003-0054-7893>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-8062-1610>

✉: ergulkurutas@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada, bitki ekstralarında oksidatif stres biyobelirteçleri için yöntem performansının kabul edilebilirliğini değerlendirmek için biyolojik varyasyonlar ve analitik kalite spesifikasyonlarının saptanması amaçlandı. Araştırmada *Silybum marianum* (Deve Dikeni) ve *Artemisia absinthium* (Pelin Otu) kullanıldı. Bitkilerden 0., 1., 3., 5., 7., 15. ve 30. günlerde örnekler alındı. Bitki ekstralarında oksidatif stres biyobelirteçleri [katalaz (CAT) superoksit dismutaz (SOD) ve malondialdehit (MDA)] spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü. Her bir bitkinin kendi-içinde (CVI) ve bitkiler-arası (CVG) varyasyonlarından bireysellik indeksi (Bİ) ve referans değişim değeri (RDD) hesaplandı. Ayrıca analitik kalite spesifikasyonları olarak imprecizyon, bias ve toplam hata hesaplandı. Çalışmamızda, *Artemisia absinthium*'a kıyasla *Silybum marianum*'da daha yüksek antioksidan enzim aktiviteleri (SOD ve CAT) ve daha düşük MDA düzeyleri tespit edildi ($p < 0.05$). Bitkilerde MDA düşük bireysellik gösterdi ve MDA'nın CVI'sı CVG'den daha büyüktü. Bununla birlikte, CAT ve SOD güçlü bir bireysellik gösterdi, ancak bitkilerdeki CVI'ları CVG'lerden daha küçüktü. CAT ve SOD dışında, MDA analitinin RDD'leri, yüksek CVI nedeniyle nispeten daha yüksekti ve bu da daha yüksek bir RDD ile sonuçlandı. Ayrıca açıklanan metodoloji, tüm analitler için < 3.5 analitik CV ile bu hedeflere ulaşır. Bias ve toplam hata hedefleri sırasıyla %11.2-25.2 ve %8.93-27.6 idi. Bitkinin anormal bir fizyolojik süreçle sonuçlanan bazı nedensel ajanlar tarafından hastalandığını tahmin etmeye yönelik RDD konsepti, laboratuvar optimizasyonunu göstermede değerli bir araç olabilir. Ayrıca, bitkilerde oksidatif stres biyobelirteçlerinin ölçümleri için biyolojik varyasyona dayalı istenen kesinlik hedefleri, mevcut metodolojilerle elde edilebilir.

Biyokimya

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 17.09.2021

Kabul Tarihi : 05.11.2021

Anahtar Kelimeler

Oksidatif Stres Biyobelirteçleri
Yöntem Performansı
Biyolojik Varyasyonlar
Artemisia absinthium
Silybum marianum

Evaluation of Method Performance and Biological Variations for Oxidative Stress Biomarkers in Plant Extracts: A Method Validation Study

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine biological variations and analytical quality specifications to evaluate the acceptability of method performance for oxidative stress biomarkers in *Silybum marianum* (Milk thistle) and *Artemisia absinthium* (Wormwood) plant extracts. *Silybum marianum* and *Artemisia absinthium* were used in the study. Samples were taken from plants on the zero, 1st, 3rd, 5th, 7th, 15th and 30th days. Index of individuality (II) and reference change value (RCV) were calculated from within-subject (CVI) and between-subject (CVG) variations. Moreover, imprecision, bias and total error were calculated as analytical quality specifications. Oxidative stress biomarkers [catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA)] in plant extracts were measured as spectrophotometric methods. Compared

Biochemistry

Research Article

Article History

Received : 17.09.2021

Accepted : 05.11.2021

Keywords

Oxidative Stress Biomarkers
Method Performance
Biological Variations
Artemisia absinthium
Silybum marianum

to *Artemisia absinthium*, higher antioxidant enzyme activities (SOD and CAT) and lower MDA levels in *Silybum marianum* were found in our study ($p < 0.05$). MDA in plants showed low individuality, and CVI of MDA were larger than CVG. However, CAT and SOD in plants showed strong individuality, but CVI of them were smaller than CVG. CAT and SOD except, RCVs of MDA analyte were relatively higher, because of high CVI, resulting in a higher RCV. Also, the described methodology achieves these goals, with analytical CVs of $< 3.5\%$ for all analytes. Goals for bias and total error were 11.2-25.2% and 8.93-27.6%, respectively. The RCV concept for predicting that the plant is diseased by some causative agent resulting in an abnormal physiological process can be a valuable tool in demonstrating laboratory optimization. Moreover, desirable precision targets based on biological variation for measurements of oxidative stress biomarkers in plants can be achieved with current methodologies.

Atıf Şekli: Öner E, Kurutaş EB, Demirhan İ, Güngör M 2022. Bitki Ekstrelerinde Oksidatif Stres Biyobelirteçleri için Yöntem Performansının Değerlendirilmesi ve Biyolojik Varyasyonlar: Metot Validasyon Çalışması. . KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 965-973. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.997048>

To Cite : Öner E, Kurutaş EB, Demirhan İ, Güngör M 2022. Evaluation of Method Performance and Biological Variations for Oxidative Stress Biomarkers in Plant Extracts: A Method Validation Study KSU J. Agric Nat 25 (5): 965-973. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.997048>

GİRİŞ

Validasyon cihazın, metodun veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğunun objektif olarak test edilerek yazılı delillerle kanıtlanmasıdır. Analitik metot validasyonu, bir metodun performansını belirlemek için yapılan birtakım değişkenlere göre test ve ölçme işlemleridir. Çeşitli alanlarda verilen pek çok karar, yapılan ölçümlerin sonucuna dayanılarak verilir. Doğru karar verebilmek için analitik ölçüm sonucunun doğru ve tekrarlanabilir olması gerekir. ISO/IEC, ICH, US EPA, US FDA, USP, cGMP gibi kurumlar tarafından belirlenmiş ve uluslararası kabul edilen çeşitli validasyon kriterleri mevcuttur. Bunlar Doğruluk (accuracy), kesinlik (precision), özgünlük (specificity), doğrusallık (linearity), gözlenebilme sınırı (LOD; Limit of Detection), tayin sınırı (LOQ; limit of quantification), çalışma aralığı (range), tutarlılık (ruggedness), sağlamlık ya da kararlılık (robustness) ve stabilite'dir (Yılmaz, 2012, FDA, 2013, EURACHEM, 1998).

Analitik performans kriterleri elde etmek için biyolojik varyasyonun kullanılması, bir test sonucu için ne kadar doğal varyasyonun beklendiğini belirlemekle başlar. Her bitki örneğinde ölçülen büyüklüğün konsantrasyonu, temel veya homeostatik ayar noktası etrafında değişir. Gözlemlenen toplam varyasyon, preanalitik varyasyon, analitik varyasyon ve her bir bitkinin aynı gün içerisinde ve farklı günlerde ölçülmesiyle oluşur. Bir laboratuvar ortamında, biyolojik bileşeni tek gerçek değişken olarak bırakarak preanalitik ve analitik değişkenliği kontrol edebiliriz. Biyolojik varyasyon; analitik varyasyonun etkisini belirlemek, bir analiz istenen performans kriterlerini geliştirmenin basit bir

yoludur (Kurutas,2014, Yücel, 2014 ve Çokluk, 2019). Bitkiler sesil doğaları gereği yaşam döngüleri boyunca büyüme ve gelişmelerini olumsuz yönde etkileyecek birçok stres faktörü ile karşılaşılır. Biyotik ve abiyotik kökenli olabilen bu stres faktörleri bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal zararlar oluşturarak, ürün nicelik ve niteliğini olumsuz yönde etkileyebilir (Büyük, 2012).

Reaktif oksijen türleri (ROS) bitkilerde endojen olarak kloroplastlardaki fotosentez reaksiyonlarında, plastit ve peroksizomlarda, mitokondrilerde sitrik asit siklusunda, plazma membranında bulunan NADPH oksidaz, peroksidazlar ve amino oksidazlar gibi enzimlerin etkisiyle oluşan en yoğun serbest radikallerdir (Büyük, 2012). Tuzluluk, UV radyasyonu, kuraklık, ağır metaller, aşırı yüksek ve düşük sıcaklıklar, besin eksikliği, hava kirliliği, herbisitler ve patojen saldırıları gibi biyotik ve abiyotik stres faktörleri, ROS'ların oluşum ve detoksifikasyon hızı arasındaki dengeyi bozabilir. Bu da hücresel yapılarda hasarlara neden olan ROS'ların hücre içindeki miktarının hızla artmasına yol açar (Doğru, 2020). Bitkiler oksidatif stres altında yaşamlarını devam ettirebilmek ve stresle başa çıkabilmek için ROS'un kontrolü ve detoksifikasyonunu sağlayan çeşitli antioksidan enzimlere (katalaz, superoksit dismutaz, v.s.) sahiptirler.

Oksidatif stres biyobelirteçleri, insan ve hayvan dokularında, eritrosit ve lökositlerde, serum ve idrar örneklerinde ölçülebilmektedir (Hürşitoğlu, 2021, Kurutas, 2015, Kurutas, 2016, Kurutas 2009 ve 2005). Bitkilerde bu yöntemlerin uygulanabilirliğini test edilebilmesi için yöntem validasyonuna ihtiyaç

vardır. Bitkilerdeki oksidatif stres biyobelirteçleri için yöntem performansının kabul edilebilirliğini değerlendirmek için analitik kalite spesifikasyonları ile ilgili veriler literatürde bariz bir şekilde eksiktir. Bu tür veriler, analitik kalite spesifikasyonlarının belirlenmesin; sağlıklı bitki popülasyonunda referans aralıklarının değerlendirilmesinde ve bir bitkiden (referans değişiklik değeri; RDD) elde edilen seri sonuçlardaki değışikliklerin öneminin değerlendirilmesinde önemlidir. İlk defa yapılan bu çalışmada bitki ekstrelerinde oksidatif stres biyobelirteçlerinin ölçülmesinde metod validasyonunun sağlanması için; biyolojik varyasyonların saptanması ve analitik kalite spesifikasyonları saptanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Bu araştırmada kullanılan iki adet bitki türü (*Silybum marianum* ve *Artemisia absinthium*) Kahramanmaraş ili civarından Aralık 2020-Haziran 2021 tarihleri arasında toplandı. Tüm deneysel çalışmalar, Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Laboratuvara getirilen bitki örnekleri steril bir neşter kullanılarak parçaladıktan sonra güneş görmeyen, oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kurutulan bitki numuneleri toz haline getirilmesi için mekanik öğütücü kullanıldı ve sonra 10 g tartılarak 100 ml %70'lik metanol (Merck) üzerine ilave edildi ve buzdolabında (+4 °C) bir gün bekletildi. Bir gün sonunda numuneler Whatmann No. 1 (Merck) filtre kâğıdıyla süzöldükten sonra alkolün tamamen uçması için çökelti oda sıcaklığında bir kaç dakika bekletildi. Çökelti 10 ml steril serum fizyolojik ile 5 dakika (3.000 g) santrifüjlenerek (Sorvall RC 2B) yıkandıktan sonra üst faz uzaklaştırıldı ve kalıntı tekrar %20'lik 5 ml metanolde buzdolabında (+4 °C) bir gece bekletildikten sonra filtre kâğıdıyla süzölerek ekstraksiyon işlemi tamamlandı. Daha sonra tüm bitki ekstraktları, toplama periyodu sonunda test edilene kadar -70°C'de saklandı. Elde edilen bitki ekstrelerinde antioksidan enzim aktiviteleri (CAT, SOD), lipid peroksidasyon düzeyleri ve protein içerikleri spektrofotometrik yöntemlerle ölçöldü ve yöntem performansı değerlendirildi.

Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Saptanması

Katalaz (CAT) Aktivitesi

Her bir bitki ekstresinde CAT enzim aktivitesi Beutler yöntemiyle saptandı (Beutler, 1984). Reaksiyon karışımı için; 1 M Tris-HCl (Tampon çözelti pH 8.0), 10 mM H₂O₂, belirlenen ölçüde saf su ve enzim içeren bitki ekstresinden oluşmaktadır. 37°C'de enzimin aktivitesi ile parçalanan H₂O₂'in 230 nm' de 10 dakika süreyle her 5 dakikadaki absorbans değışimleri (Shimadzu UV-1601,

Shimadzu, Kyoto, Japonya) ölçölerek yapıldı. Sonuçlar Ü/mg protein olarak ifade edildi.

Superoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

SOD aktivitesi her bitki ekstresinde Fridovich yöntemiyle saptandı (Fridovich, 1974). SOD aktivite tayini için bitki ekstresi 0.01 M Fosfat tamponu (pH 7.0) çözeltisi ile 65 kat seyreltilerek, bu dilüsyonda aktivite belirlendi. Reaksiyon karışımı bitki ekstresi, ksantin ve INT (p-iyodonitrotetrazolium viyole) içeren karışım substrat ve ksantin oksidazdan oluşur. Kör de numune ile aynı şekilde hazırlandı fakat numune yerine fosfat tamponu konuldu. 37°C'de numunenin 505 nm de havaya karşı ilk 30 saniyedeki başlangıç absorbansları (A1) ölçölerek yapıldı. Aynı esnada kronometre ile 3 dakika sonra son absorbansları (A2) (Shimadzu UV-1601, Shimadzu, Kyoto, Japonya) ölçöldü ve değerler standart eğriden değerlendirildi. Sonuçlar Ü/mg protein olarak ifade edildi.

Lipid Peroksidasyon Düzeylerinin Saptanması

Lipid peroksidasyon ürünü Malondialdehit (MDA)'tir. Her bir bitki ekstresinde MDA düzeyi Ohkawa yöntemiyle saptandı (Ohkawa ve ark., 1979). Lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA'nın aerobik şartlarda pH 3.4'de tiyobarbitürik asit ile numunenin inkübasyonu sonucu pembe renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan renk şiddeti ortamdaki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır; 532 nm'de spektrofotometrik olarak (Shimadzu UV-1601, Shimadzu, Kyoto, Japonya) ölçöldü. MDA sonuçları, nmol/mg protein olarak ifade edildi.

Protein Düzeylerinin Saptanması

Bitki ekstresinin protein içeriği Lowry yöntemi ile saptandı (Lowry ve ark., 1951). Proteinlerin alkali bakır sülfat ilavesiyle, fosfotungustik asit ile mavi renkli kompleks oluşturma esasına dayanır. Oluşan bu renkli bileşimin ise spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda absorbansı ölçölerek (Shimadzu UV-1601, Shimadzu, Kyoto, Japonya) kantitatif olarak protein miktarları tespit edildi.

İstatistik Analizler

Her bir bitkiden sıfırncı, 1., 3., 5., 7., 15. ve 30. günlerde olmak üzere yedi örnek alındı ve ekstrasyonlar hazırlandı. Bitki ekstrelerinde oksidatif stres biyobelirteçlerinin düzeyleri ölçöldü. Cochran ve Reed testleri kullanılarak uç değerler çıkarıldıktan sonra logaritmik transformasyonla dönüştürölmüş veriler (veri transformasyonu ile dağılım Gaussian forma yaklaştırıldıktan sonra) üzerinde varyasyon analizleri yapıldı. Uç değerlerin çıkarılmasından sonra biyolojik varyasyon verileri

Fraser ve ark. tarafından yayınlanan yöntemle göre yapıldı. (Fraser, 2001, Fraser, 2004, Fraser, 2014, Fraser, 1994). Analitik varyans (SDA^2), aşağıdaki formüle göre tekrarlanan ölçümler arasındaki farklardan hesaplandı.

$$SDA^2 = \sum d^2 / 2n$$

burada d, tekrarlanan ölçümler arasındaki farktır ve n, tekrarlanma sayısıdır. SDA^2 , ilk numune konsantrasyonuna göreli SDA, analitik varyasyon katsayısı (CV_A) olarak ifade edilir. Her analiz için, toplam varyansı bitkiler arası (SD_G^2) varyansı ve toplam bitkinin kendi içindeki varyansı (SD_{TI}^2) bölmek için tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA) kullanıldı. SD_{TI}^2 hem biyolojik hem de analitik bileşenleri içerdiğinden, her bir bitkinin kendi içinde varyansı (SD_I^2) aşağıdaki formül kullanılarak çıkarılarak elde edildi (Ricos, 2004).

$$S_I^2 = S_{TI}^2 - S_A^2$$

Bitkinin kendi içinde ve bitkiler arası biyolojik varyasyonları, her bir bitkinin homeostatik ortalaması sırasıyla, bitkinin kendi içindeki varyasyon katsayısı (CV_I) ve bitkiler arası varyasyon katsayısı (CV_G) kullanılarak ifade edildi. Bitkiler için bireysellik indeksi (Bİ), CV_I/CV_G olarak hesaplandı, burada düşük bir değer (<0,60: yüksek bireysellik) popülasyona dayalı referans aralıklarının düşük kullanılabilirliğini gösterirken, yüksek bir değer (>1,40: düşük bireysellik) popülasyona dayalı referans aralıklarının yüksek kullanılabilirliğini göstermektedir. Oksidatif stres biyobelirteçlerinin iki seri ölçümünün $p < 0,05$ 'te önemli ölçüde değişmesi için gereken fark olan referans değişim değeri (RDD), aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Ricos, 2004)

$$RDD = 21/2 \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2} = 2.77 CV_{TI}$$

Z- skoru 1,96 (%95 olasılık, çift yönlü z-skor) olarak kabul edildi.

Bitkide oksidatif stres biyobelirteçleri için biyolojik varyasyon verileri, aşağıdaki formüller kullanılarak impresizyon (I), bias (B) ve total hata (TE) için arzu edilen (desirable) kalite spesifikasyonlarını tahmin etmek için kullanıldı (Petersen, 2002).

$$I = 0.5 CV_I$$

$$B = 0.25 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

$$TE = 1.65 (0.25 CV_I) + 0.25 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

Bu çalışmada, test sisteminin güvenilirliğini doğrulamak ve sonuçları etkileyebilecek kullanıcıların performansını ve çevresel koşulları değerlendirmek amacıyla "in house QC" kontrol materyali kullanıldı. (Yücel, 2019; Ursula, 2011). Bitkinin kendi içinde ve bitkiler arasındaki ortalama biyolojik varyasyonların farklılıkları F testi ile kontrol edildi. CAT, SOD ve MDA değerlerindeki önemli eğilimleri kontrol etmek ve bitkinin kendi içindeki varyasyonların zamana bağımlılığını araştırmak için doğrusal regresyon analizi kullanıldı. Bitkilerde antioksidan enzim aktivitelerini (CAT ve SOD) ve MDA düzeylerinin karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR ve TARTIŞMA

S. marianum'da, *A. Absinthium*'a kıyasla daha yüksek antioksidan enzim aktivitesine (SOD ve CAT) ve daha düşük MDA düzeyine sahip olduğu saptandı ($p < 0,05$). Sonuçlar Çizelge 1'de gösterildi.

Çizelge 1. *Silybum marianum* ve *Artemisia absinthium*'da oksidatif stres biyobelirteçlerinin ortalama, medyan, standart sapma ve referans değerleri

Table 1. Mean, standard deviation and reference ranges of oxidative stress biomarkers

Plants	Analitler	Mean	Medyan	Referans Aralığı
<i>Silybum Marianum</i>	SOD	631.33	650	520-770
	CAT	117.56	110	50-170
	MDA	49.33	56	11-78
<i>Artemisia Absinthum</i>	SOD	583.33	590	400-750
	CAT	86.11	95	40-150
	MDA	54.33	50	25-100

CAT ve SOD enzim aktivite sonuçları $\mu\text{g}/\text{mg}$ protein ve MDA düzeyleri nmol/mg protein olarak verilmiştir.

* *Silybum marianum*'da *Artemisia absinthium*'a kıyasla SOD ve CAT enzim aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,05$).

** *Silybum marianum*'da *Artemisia absinthium*'a kıyasla MDA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0,05$).

Çizelge 2'de görüldüğü gibi, MDA'nın CV_I 'sı, CV_G 'sinden daha büyüktü. Buna karşın, CAT ve SOD'un CV_I 'i her iki bitki gruplarında CV_G ' den daha küçüktü. SOD ve CAT hariç, MDA'nın CV_I 'nin CV_G 'den yüksek çıkmasından dolayı, bitkiler de RDD analitleri de nispeten daha yüksek bulundu. CAT ve SOD'un Bİ sonuçları 0,6-1,4 arası bulunduğu için

yüksek bireysellik gösterdiği ve referans değerlerin orta düzeyde kullanışlı olduğunu saptandı. Buna karşın, her iki bitkide MDA'nın Bİ sonucu 1,4'den yüksek çıkmıştır. Bu sonuç MDA'nın düşük bireysellik yani popülasyona dayalı referansın yüksek düzeyde kullanışlı olduğunu göstermektedir.

Analitik varyasyonu en aza indirmek için her bir

bitkinin 30 günlük bir süre içinde elde edilen 30 örnekte ve kontrol materyalinde (in house QC) analiz edilen seriler arasındaki imprecizyon verileri Çizelge 3'te verilmiştir. Bitki ekstraktlarında CAT, SOD ve

MDA ölçümüne yönelik laboratuvar yöntemimizin belirsizliği, istenen kesinlik hedeflerinden daha azdı.

Çizelge 2. *Silybum marianum* ve *Artemisia absinthium*'da oksidatif stres biyobelirteçlerinin biyolojik varyasyon bileşenleri

Table 2. Biological variation components of oxidative stress biomarkers in *Silybum marianum* and *Artemisia absinthium*

		^a CV _I (%)	^b CV _G (%)	^c Bİ	^d RDD (%)
<i>Silybum Marianum</i>	SOD	14.84	16.83	0.882	2.59
	CAT	34.8	35.04	0.993	4.01
	MDA	50.21	35.18	1.427	4.25
<i>Artemisia Absinthium</i>	SOD	16.26	18.39	0.884	0.97
	CAT	40.49	41.15	0.984	1.59
	MDA	50.43	35.77	1.410	1.55

CAT ve SOD enzim aktivite sonuçları μ g/mg protein ve MDA düzeyleri nmol/mg protein olarak verilmiştir.

* aCV_I (Birey içi biyolojik varyasyon), bCV_G (Bireyler arası biyolojik varyasyon), cBİ (Bireysellik indeksi) ve dRDD (Referans değişim değeri)

Çizelge 3. *Silybum marianum* ve *Artemisia absinthium*'da spektrofotometrik olarak ölçülen oksidatif stres biyobelirteçlerinin ölçüm kesinliği (precision) (CV)

Table 3. Measurement precision (CV) of oxidative stress biomarkers measured spectrophotometrically in *Silybum marianum* and *Artemisia absinthium*

	Analitler	* Aynı Seri Çalışma (Within Batch)		**Farklı seri Çalışma (Between Batch)	
		Mean	CV(%)	Mean	CV(%)
<i>Silybum marianum</i>	SOD	633.45	12.82	650.00	16.82
	CAT	115.42	35.74	109.68	35.01
	MDA	50.12	48.55	50.63	36.74
<i>Artemisia absinthium</i>	SOD	582.78	17.01	584.75	18.39
	CAT	85.96	41.50	80.49	41.15
	MDA	55.02	51.32	68.86	45.77

* Within batch imprecision; havuzlanmış bir bitki örneğinin aynı gün içinde 10 kez analiz edilmesiyle hesaplanmıştır.

** Between Batch; istatistiksel analiz bölümünde açıklandığı gibi, her bir bitkinin 30 günlük bir süre içinde elde edilen 30 örnekte ve kontrol materyalinde (in house QC) analiz edilen seriler arasındaki belirsizlik (imprecision) verileri)

Her bir analit (CAT, SOD, MDA) için, laboratuvar yönteminin belirsizliği ve biyolojik varyasyon verilerinden elde edilen I, B ve TE için istenen analitik kalite spesifikasyonları Çizelge 4'te sunulmuştur. Her iki bitkide tüm analitlerin (CAT, SOD ve MDA) analitik varyasyonları istenilen özellikteki analitik kalite spesifikasyonlarına ulaştığı görülmektedir. Özellikle bütün analitler (CAT, SOD ve MDA) için CVA ile I değerleri benzer olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra, *S. marianum* ve *A. Absinthium*'da SOD haricinde CAT aktivitesi ve MDA düzeylerinin CVA'sı ile B'nin benzer olması, istenilen hedeflerden sapmanın olmadığını işaret etmektedir. Çizelge 4'deki her iki bitki türünde izin verilen hata (en fazla %1.86) düzeyinin altındadır. Elde edilen %CV değeri de önerilen maksimum %CV'nin (%1.0) altındadır.

Regresyon analizinde, her iki bitkide 30 gün boyunca CAT ve SOD aktivitelerinde ve MDA düzeylerindeki değişiklikler için herhangi bir eğilim göstermediği

saptandı.

Bildiğimiz kadarıyla, bitki örneklerinde oksidatif stres biyobelirteçlerinin (CAT, SOD ve MDA) biyolojik varyasyonlarına ilişkin verilerin belirlenmesini ve uygulanmasını gerçekleştiren ilk çalışmadır. Bitkilerdeki oksidatif stres biyobelirteçleri için yöntem performansının kabul edilebilirliğini değerlendirmek için analitik kalite spesifikasyonları (I, B, TE) ile ilgili veriler literatürde bariz bir şekilde eksiktir. Bu çalışmada, *S. marianum* ve *A. absinthium* bitki ekstraktlarında antioksidan enzim aktivitelerinin (CAT ve SOD) ve lipid peroksidasyon düzeylerinin ölçülmesi ve yöntem performansının değerlendirilmesi için analitik kalite spesifikasyonları saptandı.

Bitkilerde antioksidan kapasiteyi ölçmek için bugüne kadar çok sayıda yöntem geliştirilmiştir (Albayrak, 2010). Toplam antioksidan kapasitenin ölçülmesini sağlayan yöntemler, hidrojen atomu transfer (HAT)

reaksiyonlarına dayanan yöntemler ve elektron transferine (ET) dayanan yöntemler olmak üzere ikiye ayrılabilir. HAT temelli yöntemlerin birçoğu azobileşiklerin bozulması ile oluşan peroksil radikalleri için antioksidan ve substratın rekabetine dayanan yarışmacı reaksiyonları kullanmaktadır. Bu

yöntemler oksijen radikal absorban kapasite (ORAC), toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametre (TRAP) ve krosin beyazlatma yöntemlerini içermektedir. ET temelli yöntemler antioksidanın oksidantı indirgeme yeteneğini renk değişimi ile ölçer.

Çizelge 4. *Silybum marianum* ve *Artemisia absinthium*'da analitik varyasyon (CVA), belirsizlik (I), sapma (B) ve biyolojik varyasyondan kaynaklanan total hata (TE) sonuçları

Table 4. Analytical variation (CVA), uncertainty (I), deviation (B) and total error (TE) results from biological variation in *Silybum marianum* and *Artemisia absinthium*

		İstenen Özellikler (Desirable specifications)			Yöntem Belirsizliği (Method imprecision)
		I (%)	B (%)	TE (%)	CV _A (%)
<i>Silybum Marianum</i>	SOD	7.42	11.2	8.93	7.4
	CAT	17.4	17.0	18.71	17.4
	MDA	25.1	25.1	26.97	25.11
<i>Artemisia Absinthium</i>	SOD	8.13	12.28	9.78	8.13
	CAT	20.25	20.25	21.7	20.25
	MDA	25.22	25.2	27.6	25.22

Renk değişiminin derecesi örneklerin antioksidan konsantrasyonu ile alakalıdır. ET temelli yöntemler toplam Folin Ciocalteu ayırıcı ile toplam Fenolik yöntemi (FCR), Trolox eşiti antioksidan kapasite (TEAC), demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP), oksidan olarak bakır (II) kullanan toplam antioksidan potansiyel yöntemi (CUPRAC) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemini içermektedir (Somogyi, 2007). Yukarıda bahsedilen her iki yöntem de total antioksidan kapasiteyi ölçmeye yöneliktir. Oysa, bu çalışmada, bitkinin sahip olduğu CAT enziminin ve SOD enzimlerinin ayrı ayrı aktivitesi ölçüldü. Ölçülen enzim aktivitesi spesifik aktivite birimi cinsinden (Ü/mg protein) verildi. Bitkilerin Protein içerikleri Folin Ciocalteu ile ölçüldü. Bu bitki çalışmasında kullanılan yöntemlerin temel prensibini HAT ve ET teşkil etmektedir. Üstelik, bu yöntemlerle antioksidan enzim aktiviteleri (CAT ve SOD) kanda, dokuda ve idrarda da ölçülmekte olup sensitivitesi ve spesifitesi oldukça yüksek olduğu Kurutaş ve ark. tarafından bildirilmiştir (Kurutas, 2015a ve 2015b).

SOD'lar olağanüstü katalitik etkinlikte çalışan metalloproteinlerdir (Kurutas, 2016). O₂ i H₂O₂ 'e dönüştürme rolü olan SOD'ların aktif merkezlerinde yer alan metal iyonlarına göre üç izoenzimi vardır. Bunlar bakır ve çinko içeren Cu/Zn SOD, mangan içeren MnSOD ve demir içeren FeSOD'lardır (Kurutas, 2016, Scandalios, 1993, Edreva, 1998, Kukreja, 2005). Bu çalışmada *S. marianum*'da SOD aktivitesinin *A. absinthium*'a kıyasla yüksek olarak bulundu. SOD aktivitesiyle yapılan çalışmalarda; SOD'ların ifadesindeki artışların bitkide biyotik ve abiyotik strese bağlı oluşan oksidatif strese başa çıkmada ve bitkilerin stres koşulları altında canlılığı sürdürmesine katkı sağlamada önemli rolleri olduğu ileri sürülmüştür. *Morus alba* L. (dut), *Cicer arietinum* L. (nohut) ve *L. esculentum* (domates) gibi

birçok bitkide çeşitli stres koşulları altında gerçekleştirilen çalışmalarda SOD aktivitesinde artışlar meydana geldiği gözlenmiştir (Harinasut, 2003, Gaprinska, 2008, Attia, 2009).

CAT enzimi bitkilerin stres koşulları altında oluşan zararlı H₂O₂ 'in H₂O ve O₂ 'ya direkt olarak dönüşümünü sağlayarak hücreleri strese karşı korumada görevli en önemli enzimatik antioksidanlardan biridir (Demirhan, 2021, Ozyurt, 2021, Kurutas, 2016) Bu çalışmada *S. marianum*'da CAT aktivitesi *A. absinthium*'a kıyasla yüksek olarak bulundu. Yüksek bitkilerde tanımlanmış çok sayıda CAT izoenzimi; *Hordeum vulgare*'de (arpa), *Helianthus annuus* L.'ta (ayçiçeği), *Brassica oleracea* L. 'da (karnabahar) ve *Zea mays* L.'da (mısır) çalışılmıştır ve elde edilen veriler neticesinde enzimin farklı stres koşulları ve farklı bitkilerde değişik düzeylerde koruma sağladığı gözlenmiştir (Azevedo 1998, Azpilicueta 2007, Frugoli 1996, Polle 1992).

Bitkilerde stresin öncelikli etkilerinden biri olarak gösterilen lipid peroksidasyonun son ürünlerinden biri olan MDA analizleriyle stresin öncelikli hedefi olan membranlardaki etkileri yansıtılmaktadır (Kurutas, 2016). Bu çalışmada *S. marianum*'da MDA düzeylerinin *A. absinthium*'a kıyasla düşük olduğu saptandı. Günümüze dek gerçekleştirilmiş olan çalışmalarda stresle birlikte *Lycopersicon esculentum* L'da (domates) (Krupa 1989, Qarati 1997, Malk 1992), *Triticum aestivum* L'da (buğday) (Vassilev 2004), *Hordeum vulgare* L'de (arpa) (Gaur, 1994), *Brassica nigra* (L.) W.D.J.Koch'da (hardal) (Nouairi 2006, Halliwell 1999) ve daha birçok bitkide MDA düzeyinin yani lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir.

Validasyon çalışmaları, gerek klinik laboratuvarlarda gerekse Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda

ve Kontrol Genel Müdürlüğünün, Gıda Kontrol Laboratuvarlarında metot birlikteliğini sağlamak amacıyla konularında uzman personeller tarafından yapılmaktadır (Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 2018). Validasyon çalışmaları, çeşitli analiz metotlarını uygulayan laboratuvarın yeterliliğini teyit ederken izleyeceği yöntemleri/çalışmaları; bu çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin nasıl değerlendirileceğinin belirlenmesi ve bu verilerle ölçüm belirsizliğinin hesaplanıp raporlanmasına da yol gösterir. Bu kapsamda parametreler ve deney modeli önerilirken uluslararası kabul görmüş rehberler göz önünde bulundurularak ve laboratuvarın TS EN ISO/IEC 17025 gereksinimlerini de karşılayacak şekilde istatistiki olarak gerekli bilgileri içerecek şekilde hazırlanması gereklidir. Laboratuvarlarda analitlerin ölçümünde güvenilir sonuçlar verilebilmesi için biyolojik varyasyonun hesaba katılması gerekmektedir (Yücel, 2014). Laboratuvar verilerinde biyolojik varyasyon, bir bireyde her bir analitin homeostatik ayar noktasında izlenen rastgele dalgalanmaları olarak tanımlanır (Kurutas, 2014, 2015a, 2015b). Toplam analitik hata sınırlarının belirlenmesi için pek çok kaynak kullanılabilir. Ayrıca biyolojik varyasyon verileri, özellikle bireysel biyolojik varyasyon, referans aralığın belli bir fraksiyonu, yöntemin genel performansı da hata sınırlarının belirlenmesinde kullanılır (Kurutas, 2015a, ve 2015b).

Bu çalışmada her iki bitkide de CAT ve SOD için CV_G genel olarak CV_I'dan daha büyüktü. Her bir bitkinin CAT ve SOD'un CV_I'sı küçük olduğu için homeostatik ayar noktası hakkında daha kesin bilgi verebilir ve bitkinin herhangi bir strese ya da kimyasala maruz kalıp kalmadığı hakkında daha iyi bilgi verebilir. Bununla birlikte, her bir bitkinin MDA'nın CV_I'sinin büyük olmasının nedeni bitki lipid peroksidasyonundaki günden güne biyolojik varyasyonlar görülebileceği yönündedir. Ayrıca, MDA'nın bitkiler arasındaki ortalama toplam varyanslarının (CV_G), muhtemelen bitki içi varyasyonundaki heterojenlikten ve belki de stabilite sorunlarından dolayı, her iki bitkininin CV_I'sını daha küçük olduğunu bulduk. Bir MDA analitinin CV_I değerleri, CV_G değerlerinden çok daha büyük olması; MDA analitinin verilerindeki homojenliğin olmaması, biyolojik varyasyonun hatalı hesaplanmasına ve sonuçların yanlış yorumlanmasına neden olabilir. Bİ, CV_I/CV_G formülü ile hesaplanmaktadır (Kurutas, 2015a ve 2015b). Bu formüle göre sonucun 0,6'dan küçük olması yüksek bireysellik olduğunu yani bitki popülasyona dayalı referansın düşük kullanışlı olduğunu göstermektedir. Sonucun 1.4 ve bu değerden yüksek olması düşük bireyselliği yani bitki popülasyona dayalı referansın yüksek düzeyde kullanışlı olduğunu göstermektedir. Bİ değerinin 0.6 ile 1,4 arasında olmasında ise orta düzey bireysellik

yani popülasyona dayalı referansın orta düzeyde kullanışlı olduğunu göstermektedir. RDD, bitkinin ağır metaller, kuraklık, yüksek ve düşük sıcaklık, mekanik yaralanma, ultraviyole (UV) ışık, fotoinhibisyona yol açan yüksek ışık yoğunluğu, patojen enfeksiyonu ve hava kirliliği gibi stres faktörlerine maruz kalması durumundaki analitlerin düzeylerindeki değişikliklerin değerlendirilmesi için önemli bir araç olabilir. Referans aralıklarını tanımlamak için önemli miktarda kaynak harcamak yerine, laboratuvarların RDD'yi hesaplamak için iyi kurulmuş metodolojiyi uygulamaları ve bunları günlük pratikte kullanmaları, bitkiden gelen seri sonuçlardaki değişikliklerin izlenmesinde büyük avantaj sağlamaları istenmektedir (Kurutas, 2015a ve 2015b).

Yöntem performans değerlendirilmesinde laboratuvarın belirlediği yonteme göre farklı kriterlerle yapılır (Yücel 2014, Kurutas 2015a ve 2015b). Bugün sistematik hata (inaccuracy), impresizyon (rastlantısal hata) ve total hata kavramları yerine ISO tarafından önerilen ve geçerli olan sözler gerçeklik (trueness), bias, presizyon ve belirsizliktir (uncertainty). Burada gerçeklik, doğruluk kavramındaki bias'ın yerinin, belirsizlik ise toplam hata kavramının yerini almıştır. Bildiğimiz kadarıyla bitkide oksidatif stres biyobelirteçlerinin biyolojik varyasyonu ilk kez belgelendi. Bu çalışmada, bu yöntem belirsizliği, veri değişkenliğine yalnızca %23'lük bir katkı sağladığı için arzu edilen analitik CV, genellikle 0,5 kat CV_I olarak kabul edildi. (Kurutas 2015a ve 2015b). Çalışmamızda, bitkide oksidatif stres biyobelirteçlerini ölçmek için laboratuvar yöntemlerimizin belirsizliği, istenilen kesinlik hedeflerinden daha düşük bulundu. Bu çalışmada biyolojik varyasyon verilerinden türetilen analitik kalite spesifikasyonlarının mevcut metodolojilerle elde edilebileceği görülmüştür. Bu nedenle, bu biyolojik varyasyon verilerinin bitkilerde oksidatif stres biyobelirteçlerinin analizinde bu yaklaşımı uygulamak için yardımcı olabilir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, bitkilerde oksidatif stres biyobelirteçlerini ölçmek için kullanılan laboratuvar yöntemlerimizin toplam analitik hatası izin verilen toplam hata sınırının altındadır, dolayısıyla yöntemin performansı uygundur. Bİ ve RDD değerlerinin belirlenmesi, bir bitkinin mevcut durumu hakkındaki değişiklikler konusunda konuyla uğraşan bilim insanlarını daha doğru yönlendirmesine olanak sağlayacak belirteçlerdir. Bu uygulamalar yakın gelecekte bütün Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığına bağlı laboratuvarlarda kullanılmaya başlanacak ve elde edilen laboratuvar sonuçlarının daha doğru yorumlanması ile ilgili faaliyetlerinin geliştirilmesine zemin oluşturacaktır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

EBK; Çalışmanın planlanmasında, literatür taramasında, makalenin yazımında ve sonuçların yorumlanmasında, EÖ, İD, MG; Materyallerin toplanmasında ve analizlerin ölçülmesinde katkı sağladıklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Albayrak S, Sağdıç O, Aksoy A 2015. Bitkisel Ürünlerin Ve Gıdaların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, Eylül 2015, Antalya. Derleme Sunusu Cilt I, s. 465-470.
- Attia H, Karray N, Lachaa M 2009. Light Interacts With Salt Stress In Regulating Superoxide Dismutase Gene Expression In Arabidopsis. *Plant Science* 177: 161-7.
- Antweiler H 1980. Effects of Silymarin on Intoxication With Ethionine and Ethanol. In Braatz and Schneider, November 1980, Cologne.
- Anonim 2019. Yem Bitkileri Üretimi, 1998-2018. http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=61. (Alınma Tarihi: 20.02.2021).
- Anonymous 2004. Basis of Design and Actions on Structures (EN 1991-1-4), General Actions Part 1-3: Snow Loads. European Committee for Standardisation, Brussels.
- Azevedo RA, Alas RM, Smith RJ, Lea PA 1998. Response Of Antioxidant Enzymes To Transfer From Elevated Carbon Dioxide To Air And Ozone Fumigation, In Leaves And Roots Of Wild-Type And Catalase deficient Mutant Of Barley. *Physiologica Plantarum* 104: 280-92
- Azpilicueta CE, Benavides MP, Tomaro ML, Gallego SM 2007. Mechanism Of CATA3 Induction By Cadmium In Sunflower Leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 589-95.
- Büyük I, Soydam S, Aras S 2012. Bitkilerin Stres Koşullarına Verdiği Moleküler Cevaplar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 69(2): 97-110.
- Çokluk E 2019. Klinik Biyokimya'da Biyolojik Varyasyon: Referans Değişim Değeri Ve Bireysellik İndeksi. *Turkish Journal of Clinics and Laboratory* 10: 526-532.
- Demirhan İ, Güngör M, Kurutaş EB, Özyurt M 2021. Kahramanmaraş'ta Yaygın Olarak Tüketilen Polifenol Yönünden Zengin Çoban Çökerten (*Tribulus Terrestris*) ve Çoban Çantası (*Capsella Bursa-Postaris*) Bitkilerin Antioksidan Gücünün Karşılaştırılması: in Vitro Çalışma. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg* 24 (6): 1154-1160.
- Dogru A 2020. Bitkilerde Aktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres. *Biotechnology* 3: 205-226.
- Edreva A 1998. Stres Physiology, Definition And Concepts Of Stres. *Classification Of Stress Factors, Approaches Applied In Stress Research. Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu. İzmir-EBİLTEM, Bornova, 22-26 Haziran 1998.*
- EURACHEM (1998). The Fitness For Purpose Of Analytical Methods. EURACHEM Guide
- FDA (2013). Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM).
- Fridovich I 1974. Superoxide Radical and Superoxide Dismutases. *Annual Review of Biochemistry* 64(1): 97-112.
- Fridovich I 1986. Biological Effect Of Superoxide Radical. *Archives Biochemistry and Biophysics* 247: 1-11.
- Fraser CG 2001. Biological Variation: From Principles To Practice. Washington DC: American Association for Clinical Chemistry Press.
- Fraser CG 2004. Inherent Biological Variation And Reference Values. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 42: 758-764.
- Fraser CG 2014. Are "Scientific Statements" The Scientific Truth? <http://www.westgrad.com/biodatabase1.htm>, accessed January 1.
- Fraser CG 1994. Data On Biological Variation: Essential Prerequisites For Introducing New Procedures? *Clinical Chemistry* 40: 1671-1673.
- Frugoli JA, Zhong HH, Nuccio ML, McCourt P, McPeck MA, et al. 1996. Catalase Is Encoded By A Multigene Family In Arabidopsis Thaliana (L.). *Plant Physiology* 1996; 112: 327-36.
- Gapinska M, Sklodowska M, Gabara B 2008. Effect Of Short- And Long-Term Salinity On The Activities Of Antioxidative Enzymes And Lipid Peroxidation In Tomato Roots. *Acta Physiologiae Plantarum* 30: 11-8.
- Gaur A, Grupa SK 1994. Lipid Components Of Mustard Seeds (*Brassica Juncea* L.) As Influenced By Cadmium Levels. *Plant Foods for Human Nutrition* 46: 93-102
- Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü 2018. Kimyasal Ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi. Nisan.
- Halliwell B, Gutteridge MC 1999. Free Radical and Other Reactive Species and Disease. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press 639-46.
- Harinasut P, Poonsopa D, Roengmongkol K, Charoensataporn R 2003. Salinity Effects On Antioxidant Enzymes In Mulberry Cultivar. *ScienceAsia - Journal of The Science Society of Thailand* 29:109-13.

- Hürşitoğlu O, Orhan FÖ, Kurutaş EB, Doğaner A, Durmuş HT, Kopar H 2021. Diagnostic Performance of Increased Malondialdehyde Level and Oxidative Stress in Patients with Schizophrenia. *Noro Psikiyatı Ars* 58:184-188.
- Krupa Z, Baszynski T. 1989. Acyl Lipid Composition Of Thylakoid Membranes Of Cadmium-Treated Tomato Plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 11: 111-6
- Kukreja S, Nandval AS, Kumar N, Sharma SK, Sharma SK, Unvi V, et al. 2005. Plant Water Status, H₂O₂ Scavenging Enzymes, Ethylene Evolution And Membrane Integrity Of Cicer Arietinum Roots As Affected By Salinity. *Biologia Plantarum* 49: 305-8.
- Kurutas EB, Aksan ME, Miraloglu M 2014. Evaluation of reference values and biological variations for neuron-specific enolase in sterile human urine. *Adv Lab Med In*, 4: 64 - 72.
- Kurutas EB, Gumusalan Y, Cetinkaya A, Dogan E 2015a. Evaluation Of Method Performance For Oxidative Stress In Urine And Biological Variations In Urine Of Patients With Type 2 Diabetes Mellitus And Diabetic Nephropathy. *Biological Procedures Online* 17:3.
- Kurutas EB, Gul S 2015b. Biological Variation of Oxidative Stress Biomarkers and Lactic Dehydrogenase in Mice. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 21: 299-305.
- Kurutas EB 2016. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J* 25:15:71.
- Kurutas EB, Sahan A, Altun T 2009. Oxidative stress biomarkers in liver and gill tissues of Spotted barb (*Capoeta barroisi* lortet, 1894) living in Ceyhan river, Adana-Turkey. *Turk J Biol* 33: 275-82.
- Kurutas EB, Ciragil P, Gul M, Kilinc M 2005. The effects of oxidative stress in urinary tract infection. *Mediators Inflamm* 2005; 2005: 242-4.
- Kurutas EB, Arican O, Sasmaz S 2005. Superoxide dismutase and myeloperoxidase activities in polymorphonuclear leukocytes in acne vulgaris. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat* 14:39-42.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ 1951. Protein measurement with the Folin phenyl reagent. *J Biochem* 193: 265-75.
- Malik D, Sbeoran IS, Singh R 1992. Carbon Metabolism Of Cadmium Treated Wheat Seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 30(2): 223-9.
- Nouairi I, Ben Ammar W, Ben Youssef N, Ben Miled Daoud D, Habib Ghorbal M, et al. 2006. Comparative Study Of Cadmium Effects On Membrane Lipid Composition Of Brassica Juncea And Brassica Napus Leaves. *Plant Science* 170: 511-9
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K 1979. Assay For Lipid Peroxides in Animal Tissues By Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry* 95(2): 351-358.
- Ozyurt M, Kopar H, Özyurt S, Demirhan İ, Kurutas EB 2021. Menengiç, Işgın ve Çiriş Otu'nda Antioksidan Aktivitenin Araştırılması. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg* 24: 733-737.
- Petersen PH, Fraser CG, Jorgensen L, Brandslund I, Stahl M, Gowans E, et al. 2002. Combination of analytical quality specifications based on biological within and between-subject variation. *Annals of Clinical Biochemistry* 39: 543-550.
- Polle A, Chakrabarti K, Chakrabarti S, Seifert F, Schramel P, Rennenberg H 1992. Antioxidants And Manganese Deficiency In Needles Of Norway Spruce (*Picea Abies* L.) Trees. *Plant Physiology* 99: 1084-9.
- Quariti O, Boussama N, Zarrouk M, Cherif A, Ghorbal MH 1997. Cadmium- And Copperinduced Changes In Tomato Membrane Lipids. *Phytochemistry* 45: 1343-50.
- Ricos C, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Iglesias N, Jimenez CV, et al. 2004. The Reference Change Value: A Proposal To Interpret Laboratory Reports In Serial Testing Based On Biological Variation. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 64:175-184.
- Scandalios JG 1993. Oxygen Stress And Superoxide Dismutase. *Plant Physiology* 101: 7-12.
- Somogyi, A, Rosta, K, Pusztai, P, Tulassay Z. and Nagy, G 2007. Antioxidant measurements, *Physiological. Measurement* 28: 41-55.
- Ursula GB, Francis B, 2011. Characterisation of within-batch and between-batch variability in microbial counts in foods using Poisson-gamma and Poisson-lognormal regression models. *Food Control* 22: 1268-1278.
- Vassilev A 2004. Cadmium-Induced Changes In Chloroplast Lipids And Photosystem Activities In Barley Plants. *Biologia Plantarum* 48: 153-6.
- Yılmaz A 2012. Kimyasal Analizlerde Metod Validasyonu ve Verifikasyonu. *TURKLAB Rehber*, No:01.
- Yücel D 2014. Pratik Metot Validasyonu ve Verifikasyonu. Ankara.
- Yücel D 2019. Laboratuvar Kalite Yönetim Sistem El Kitabı. Türk Biyokimya Derneği, ISBN 978-605-87229-7-2

Clinopodium serpyllifolium subsp. *serpyllifolium* Bitkisinin Akciğer Kanseri ve Beyin Glioma Hücre Hatlarında Antikanser, Antiproliferatif ve Apoptotik Hücre Ölümü Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Sevgi GEZICI^{1,2*}, Didem KOCUM^{1,2}, Fatih YAYLA³, Nazim SEKEROGLU³

¹Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Gaziantep, ²İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (İTAMER), Genetik Araştırma Laboratuvarı, Kilis-Türkiye, ³Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Gaziantep-Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-4856-0221>, ²<https://orcid.org/0000-0003-2519-0608>, ³<https://orcid.org/0000-0002-6490-6288>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-0630-0106>

✉: drsevgigezici@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye florasında doğal olarak yetişen ve zengin fitokimyasal içeriği sayesinde geleneksel halk tıbbında yaygın olarak kullanılan *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitkisinin sitotoksik, antiproliferatif ve apoptotik aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, bitkinin çiçek ve gövde kısımlarından su (dH₂O) ve %70'lik etanol (C₂H₅OH-EtOH) çözücülerini kullanılarak ekstraktlar elde edilmiştir. Farklı ekstraktların antikanser, antiproliferasyon ve DNA hasarı gelişimi üzerine apoptotik aktiviteleri; A549, H1299, C6 ve HUVEC hücrelerine karşı sırasıyla MTT, tripan mavisi ve immünolojik temelli ELISA yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Bitki ekstraktlarının, çalışılan kanser hücre hatlarının her üçünde de hücrelerdeki canlılık oranlarını azaltarak, hücreleri ölüme teşvik ettiği saptanmıştır. Ekstreler, en yüksek aktiviteyi A549 akciğer karsinoma hücrelerine karşı; en düşük aktiviteyi ise C6 beyin glioma hücreleri üzerine göstermiştir. Sonuç olarak, *C. serpyllifolium* bitkisinin çiçek ve gövde kısımlarının fitokimyasal içeriğinin belirlenmesi ve bitkinin antikanser drog olarak kullanımına yönelik farmakolojik ve klinik çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Moleküler Biyoloji ve Genetik

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 29.06.2021

Kabul Tarihi : 02.09.2021

Anahtar Kelimeler

Clinopodium spp.

Kanser

Apoptoz

Proliferasyon

Tıbbi Bitki

Investigation of Anticancer, Antiproliferative and Apoptotic Cell Death Effects of *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* in Lung and Brain Glioma Cell Lines

ABSTRACT

In this study, it was aimed to investigate cytotoxic, antiproliferative and apoptotic activities of *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium*, which grows naturally in the flora of Turkey and has been widely used in traditional folk medicine thanks to its rich phytochemical content. For this purpose, water (dH₂O) ve 70% ethanol (C₂H₅OH-EtOH) extracts were obtained from flower and stems of the plants using different solvents. The activities of different extracts on the anticancer, antiproliferation and DNA damage-based apoptosis activities against A549, H1299, C6 and HUVEC cells using MTT, trypan blue and immunological-based ELISA methods, respectively. It was determined that plant extracts decreased viability of all the cells and induced these cells to die. The extracts showed the highest activity against the A549 lung carcinoma cells, whilst they showed the lowest activity against the C6 brain glioma cells. In conclusion, it is considered that different parts of the *C. serpyllifolium* should be phytochemically investigated in details, pharmacological and clinical studies ought to be carried out in order to use this plant as anticancer drug source.

Molecular Biology and Genetics

Research Article

Article History

Received : 29.06.2021

Accepted : 02.09.2021

Keywords

Clinopodium spp.

Cancer

Apoptosis

Proliferation

Medicinal Plant

To Cite : Gezici S, Kocum D, Yayla F, Sekeroglu N 2022. Manuscript Title. Investigation of Anticancer, Antiproliferative and Apoptotic Cell Death Effects of *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *Serpyllifolium* in Lung and Brain Glioma Cell Lines. KSU J. Agric Nat 25(5): 974-985. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.959044>

Atıf İçin: Gezici S, Kocum D, Yayla F, Sekeroglu N 2022. *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* Bitkisinin Akciğer ve Beyin Glioma Hücre Hatlarında Antikanser, Antiproliferatif ve Apoptotik Hücre Ölümü Üzerine Etkilerinin Araştırılması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25(5): 974-985. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.959044>

GİRİŞ

Antik çağlardan bu yana bitkiler tedavi amacıyla kullanılmakta ve her geçen gün bitkilerin tıp ve eczacılık alanlarında kullanım potansiyellerinde ciddi bir artış gözlenmektedir. Tıbbi bitkilerin biyoçeşitliliği, yeni şifalı bitkilerin tespit edilmesiyle sayı olarak gün geçtikçe ciddi bir artış göstermektedir. Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından dünya genelinde 422 bin kadar çiçekli bitki taksonundan yaklaşık %17'sinin (yaklaşık 72 bin) tıbbi değer taşıdığı ve bunlardan yaklaşık 5 bin kadarının dünya ticaretinde yer aldığı bildirilmiştir (Baytop, 1999; Baydar, 2020). Tıbbi bitkilerin ulaşmalarının ve kullanılmalarının kolay, maliyetinin az, yan etkilerinin sentetik ilaçlara göre daha düşük olması; alternatif tıpta ve ilaç endüstrisinde kullanılmalarının günümüzde ciddi artışının altında yatan en önemli nedenleri arasındadır (Ramakrishna ve ark. 2021). Şifalı bitkilerin farklı kısımlarının ihtiva ettikleri sekonder metabolitlerden yararlanılarak; farklı modern ilaç preparatları hazırlanmakta ve bu preparatlar farklı ülkelerde bitkisel ilaçlar, bitkiseller, fitoterapötikler, fitofarmasötikler ve geleneksel ilaçlar gibi farklı şekillerde isimlendirilebilmektedir (Gezici and Sekeroglu, 2019a; Abdulridha ve ark., 2020; Ramakrishna ve ark. 2021).

Dünya genelinde 177 takson, Türkiye'de ise 39 takson ile temsil edilen ve Lamiaceae familyasının bir üyesi olan *Clinopodium* cinsi; sahip olduğu biyolojik özellikleri ve zengin fitokimyasal içeriği sayesinde geleneksel halk tıbbında dünya genelinde ve Türkiye'de yaygın bir kullanıma sahiptir (Türkiye Bitkiler Listesi, 2021; The Plant List, 2021). Bu cins Dünya üzerinde Doğu Akdeniz bölgesinde (Filistin, İsrail, Lübnan, Suriye, Ürdün ve Türkiye) doğal olarak yayılım göstermektedir. Türkiye'de ise; doğal olarak Doğu Karadeniz Bölümü, Yukarı Kızılırmak Bölümü, Antalya Bölümü, Adana Bölümü ve Dicle Bölümünde yayılım göstermektedir (Baytop, 1999; The Plant List, 2021). *Clinopodium* cinsinin zengin biyoaktif madde ve sekonder bileşiğe sahip olduğu daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Tuttolomondo et al., 2014; Tošić ve ark., 2015; Dunkić ve ark., 2017; Mohanty ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2020). Bu cinse ait *C. dalmaticum*, *C. pulegium*, *C. serpyllifolium* ve *C. thymifolium* türleri ile ilgili olarak uçucu yağ bileşimini ortaya koymaya yönelik yapılan fitokimyasal analiz çalışmaları, bitkinin uçucu yağında %79.6–66.2 oranında oksijenli monoterpenler, menthone, pulegon gibi baskın mentan tipi bileşikler, piperitenon ve piperitenon oksit içerdiğini ortaya koymuştur. Bunlardan

piperitenone (%38.73), piperitenon oksit (%34.8) ve pulegon (35.8), *C. serpyllifolium* türünün uçucu yağ bileşimini oluşturan temel komponentler olarak belirlenmiştir. Ayrıca, monoterpen hidrokarbonlar (%3.9–10.7) ve limonen (%3.2–6.2) bu türün uçucu yağında belirlenen diğer ana bileşenler olarak literatürde yer almıştır (Tošić ve ark., 2015; Dunkić ve ark., 2017).

Clinopodium türlerinden, *C. chinense* geleneksel Çin tıbbında binlerce yıldır diyabet, soğuk algınlığı, karaciğer ve ince bağırsak iltihabı, dizanteri, kabakulak, alerjik dermatit tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2020). Meksika'da *C. macrostemum* tıp alanında gastrointestinal bozukluklar, karın ağrısı, ishal ve öksürük tedavisinde kullanıldığı gibi; baharat, koku maddesi ve süsleme amacıyla da ticari olarak kullanılmaktadır (Tuttolomondo et al., 2014). *C. laevigatum* bitkisinin infüzyon şeklinde hazırlanan çay olarak mide ağrılarında ve karaciğer hastalıklarının tedavisinde, *C. nepeta* ise hemostatik olarak kanamayı durdurucu ve dezenfektan olarak kullanılmaktadır (Tuttolomondo et al., 2014; Mohanty ve ark., 2017). Filistin'de tıbbi bitkiler üzerinde yapılan etnobotanik araştırmalar, *C. serpyllifolium* türünün; geleneksel halk tıbbında diyabet, hipertansiyon, öksürük, baş ve karın ağrısı, soğuk algınlığı, nefes darlığı, yara iyileştirici ve cilt hastalıkları dahil olmak üzere çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanıldığını ortaya koymuştur. Aynı zamanda geleneksel tıpta gevşetici ve hafıza arttırıcı olarak da kullanıldığı rapor edilmiştir (Ali-Shtayeh ve Jamous, 2008; Shehab ve Abu-Gharbieh, 2012; Ali-Shtayeh ve ark., 2018; Salameh ve ark., 2018; Salameh ve ark., 2020; El-Huneidi ve ark., 2020). Balkanlarda ise önemli bir etnobotanik değere sahip olan *C. gilliesii*, baharat olarak ve tıbbi amaçlarla karın ağrısı, soğuk algınlığı, yüksek tansiyon, kalp, menopoz ve kısırlık tedavisinde kullanılan bir bitkidir (Carvajal ve ark., 2017). Türk halk tıbbında *C. vulgare* geçmiş çağlarda savaş esnasında yaraları iyileştirmek amacıyla kullanıldığı literatürlerde yer almıştır (Kılıç ve ark., 2017). Bulgar bitkileri arasında da geleneksel tıpta kullanılan *C. vulgare* diyabet, mide ülseri, prostat, yaraların iyileştirilmesinde, cilt rahatsızlıklarında ve şişkinlik tedavisinde kullanılan çeşitli etnofarmakolojik uygulamalara sahip bir bitki türüdür (Batsalova ve ark., 2017; Bruno ve ark., 2019; Zheleva-Dimitrova ve ark., 2019). *C. polycephalum* bitkisinin toprak üstü kısımları rahim, burun, diş eti kanamalarında geleneksel bir halk ilacı olarak kullanılmaktadır (Kılıç ve ark., 2017). *C.*

bolivianum hazımsızlık, bulantı, ishal, anemi ve solunum yolu hastalıklarını tedavisinde ve aynı zamanda yemeklerde baharat olarak kullanılmaktadır (Solís-Quispe ve ark., 2018). *C. revolutum* karaciğer rahatsızlıklarında, safra kesesi taşlarında ve böbrek problemlerinde terapötik özellikleri için kullanılmaktadır (Ludeña 2017; Saldaña-Bobadilla ve ark., 2020). *C. brownei* ise Kolombiya, Küba, Venezuela ve Arjantin'de özellikle et yemeklerinde baharat olarak kullanılmakla birlikte; halk tıbbında soğuk algınlığı, şişkinlik, sindirim, balgam söktürücü ve antiseptik ilaç olarak kullanılmaktadır. (Pino ve ark., 1997; Jaramillo ve ark., 2010; Matailo ve ark., 2019). *C. rouyanum* türünün kalp ve mide rahatsızlıklarında kullanıldığı, ateş düşürücü, balgam söktürücü ve antiseptik özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Çavar ve ark., 2013; Dunkić ve ark., 2017; Tomas ve ark., 2019). *C. suaveolens* Kuzey Yunanistan'da sakinleştirici, idrar söktürücü ve antienflamatuar olarak; *C. graveolens* Türkiye'de (Denizli, Kütahya ve Balıkesir illerinde) soğuk algınlığına karşı bitkisel çay olarak tüketilmektedir. *C. acinos* bitkisi melankolide, nefes darlığı, diş ağrıları ve sindirim sistemi problemlerinde; *C. alpinum* ise İspanya'da öksürük giderici ve gastrointestinal rahatsızlıklarda iyileştirici etkisiyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Kaya, 2019). *C. odorum* şişkinlik, idrar söktürücü, kabızlık, mide rahatsızlıklarında, uyarıcı, uyutucu, adet baskılayıcı, baş ve karın ağrısında ayrıca doğum sırasında da kullanılmaktadır. (Harley ve Paucar, 2000; Mahady 2005; Barboza ve ark., 2009; Vázquez ve ark. 2014).

Sunulan çalışmada, bütünlüyci ve tamamlayıcı tıp açısından oldukça önem arz eden, Gaziantep ili çevresinde doğal olarak yayılış gösteren ve halk arasında 'taş nanesi' olarak bilinen *C. serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitkisinin çiçek ve gövde kısımlarından elde edilen farklı ekstratların akciğer ve beyin glioma kanser hücre hatları üzerinde apoptoz ve nekroz aracılıklı biyolojik aktiviteleri detaylı olarak araştırılmıştır. *C. serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitkisi; geleneksel halk tıbbında mide rahatsızlıkları, solunum yolu hastalıkları, diyabet, hipertansiyon, öksürük, baş ve karın ağrısı, cilt hastalıklarının tedavisinde, yaraların iyileştirmesinde çok uzun yıllardan bu yana kullanıma sahip olmasına rağmen, bitki türü ile ilgili yapılan literatür araştırmaları doğrultusunda kapsamlı biyolojik aktivite analizlerinin yapılmaması, sitotoksik etki göstererek kanser hücrelerinde hücre proliferasyonunu baskılayıcı etkileri ve apoptotik hücre ölümünü indükleyerek kanser gelişimini engelleyecek potansiyele sahip olup olmadığı ile ilgili literatür verilerine rastlanmamış olması nedeniyle *C. serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitkisinin apoptoz ve nekroz aracılıklı

antikanser, antiapoptotik, sitotoksik ve apoptotoik aktiviteleri detaylı olarak araştırılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen verilerin, daha sonra yapılacak olan *in vivo* ve/veya klinik araştırmalara öncül veri sağlayacak potansiyele sahip olduğu ve bu alanda yapılacak olan çalışmalara ışık tutacak nitelikte olduğu düşünülmektedir.

MATERYAL ve METOD

Bitki Materyalinin Toplanması

Çalışma kapsamında, Lamiaceae familyasına ait olan *C. serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* (M.Bieb.) Kuntze bitkisi kullanılmıştır. Bitki materyali Gaziantep ili Yukarı Arıl köyü kırsalından (37.125206N ve 37.572971E) taksonomist botanikçi Arş. Gör. Fatih YAYLA (Gaziantep Üniversitesi, Biyoloji Bölümü) tarafından çiçeklenme dönemi içinde Haziran-Temmuz aylarında toplanmış ve sistematik olarak teşhis edilmiştir. Bitki herbaryum örneği, Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda (GAUNHERB) GAUN 5056 herbaryum numarası ile kayıt altına alınmıştır. Bitkinin çiçek ve gövde kısmını ihtiva eden toprak üstü kısımları, nemsiz ve karanlık ortamda, oda ısısında kurutulmuştur. Bitki türünün kısımlarını ihtiva eden, doğal flora ortamında çekilmiş görüntüsü Şekil 1'de verilmiştir.

Bitki Ekstratlarının Elde Edilmesi

Bitki materyalinin kurutulmuş çiçek ve yapraklarını da ihtiva eden gövde kısımları toz hale getirilmiş ve her bir bitki kısmı distile su (dH₂O) ve %70'lik etanol (C₂H₅OH-EtOH) çözücüleri kullanılarak maserasyon yöntemi ile özütlenmiştir (Senol ve ark., 2018; Gezici ve Sekeroglu, 2019b). Maserasyon işleminin ardından bitki özütleri filtre kâğıdı yardımı ile süzülmüş ve EtOH özütlerindeki çözücü rotary evaporatör yardımı ile buharlaştırılmış ve liyofilizatörde kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Toz hale getirilen bitki özütleri sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -20 °C derin dondurucuda saklanmıştır. Analizlerde kullanılan bitki ekstratları, en yüksek konsantrasyonları 1 mg mL⁻¹ olacak şekilde DMSO (dimetil sülfoksit) içerisinde çözülerek homojen hale getirilmiştir (Gezici, 2019). Elde edilen ekstratların verim yüzdeleri, [(kuru ekstrat ağırlığı / kuru bitki materyali ağırlığı) × 100] formülüne göre hesaplanmıştır (Gezici ve Sekeroglu, 2022).

Akciğer ve Beyin Glioma Hücre Hatlarının Temin Edilmesi

Bitki ekstratlarının *in vitro* antikanser, antiproliferatif ve apoptotik aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla ATCC (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu, ABD)'den satın alınan hücre hatları kullanılmıştır. Çalışmada A549 (akciğer karsinoma), H1299 (küçük hücreli

olmayan akciğer kanseri) ve C6 (beyin glioma) kanser hücre hatları ile kanserli olmayan HUVEC (insan göbek ven endotel hüceleri) kontrol hücre hattı kullanılmıştır. Hücre kültür ortamlarının hazırlanmasında kullanılan besiyerleri önceki makalelerde belirtildiği şekilde hazırlanmıştır (Gezici ve ark., 2017; Gezici, 2019). Bu kapsamda C6 ve HUVEC hücre hatları; genel olarak %10 FBS (fetal

sığır serumu), %1 antibiyotik (100U/mL penisilin-100µg/mL streptomisin) ve %1 L-glutamin içeren 5 mL DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium):Ham's F12 (1:1) besiyeri ortamı içerisinde; A549 ve H1299 akciğer hücre hatları ise RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute Medium) besiyeri içerisinde kültüre alınmıştır.



Şekil 1. *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* (M.Bieb.) Kuntze bitkisinin genel görünümü
Figure 1. General view of *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* (M.Bieb.) Kuntze

Antikanser Aktivite Analizleri

Bitki materyalinin çiçek ve gövde kısmından farklı çözücüler kullanılarak elde edilen özütlerin, antikanser ve sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için; hücre canlılığının kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanan MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) yöntemi, üzerinde kısmen modifikasyonlar yapılarak uygulanmıştır (Mosmann ve ark., 1983; Gezici, 2019). Kültür ortamlarına her bir ELISA kuyucuğunda 5×10^3 hücre olacak şekilde ekimi yapılan ve 37°C 'de, %5 CO_2 içeren ortamda inkübasyona bırakılan hücre soyları (A549, H1299, C6 ve HUVEC), uygun oranlarda hazırlanan MTT çözeltisi ile muamele edilmiştir. MTT solüsyonuna tabi tutulan hücrelerde mavi-mor renkli formazan kristallerinin oluşumuna bağlı olarak meydana gelen absorbans değerleri spektrofotometre (Thermo Scientific Multiskan Go) ile 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Çalışmaya dahil edilen her bir ekstrakt ve hücre hattı için IC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$) değerleri hesaplanmıştır.

Antiproliferatif Aktivite Analizler

Bitki ekstraktlarının sahip oldukları antiproliferatif kapasitelerinin ortaya konulması amacıyla; membran

bütünlüğü bozulmuş hücrelerin non-vital bir boya olan tripan mavisi ile boyanması esasına dayanan tripan mavisi metoduna göre yapılmıştır (Strober, 2015). Bu yöntemde hücre kültür ortamlarında çoğaltılan ve farklı konsantrasyonlarda bitki ekstraktlarına maruz bırakılan A549, H1299, C6 ve HUVEC hücre hatları, tripan mavisi çözeltisi ile muamele edilmiş ve 37°C 'de 24, 48 ve 72 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon periyodlarının ardından, hücre hatlarındaki canlı ve ölü hücreler, hücre sayım cihazı (Cedex XS Analyzer, Roche) ile sayılarak, hücrelerdeki yüzde (%) canlılık oranları hesaplanmıştır.

Apoptotik Aktivite Analizleri

Apoptotik hücre ölümünün belirlenmesi amacıyla; farklı konsantrasyonlarda (0 ile $100 \mu\text{g mL}^{-1}$) bitki ekstraktı ile muamele edilen A549, H1299 ve C6 kanser hücrelerinde meydana gelen parçalanmış ve sitoplazmaya geçmiş mononükleozomları ya da oligonükleozomları saptamaya yönelik, immünolojik temelli ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) testi uygulanmıştır (Hingst ve Blottner, 1995). Bu yöntemde; $5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ hücre ihtiva eden kültür ortamları farklı konsantrasyonlarda bitki ekstraktı

ile muamele edildikten sonra yaklaşık 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Apoptotik hücrelerin sitoplazmalarında bulunan nükleozomlar, CDD-ELISA kiti (Cell Death Detection ELISA^{PLUS}, Roche) kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmada her bir örnek ve kontrol için üç tekrar yapılarak 405 nm dalga boyundaki absorbans değerlerinin ortalaması alınmış ve aşağıda verilen eşitliğe göre rölatif absorbans değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen değer, her bir örnekteki mono ve oligo-nükleozom miktarının kontroldekine oranını ifade etmektedir.

$$\text{Rölatif Absorbans Değeri} = A_1/A_2 \quad (1)$$

Verilen eşitlikte; A_1 = Bitki ekstresi uygulanan hücrelerin absorbans değerlerinin ortalaması ve A_2 = Kontrol hücrelerinin 405 absorbans değerlerinin ortalamasıdır. Elde edilen değer, her bir örnekteki mono- ve oligo-nükleozom miktarının kontroldekine oranını ifade etmektedir.

İstatistik Analizler

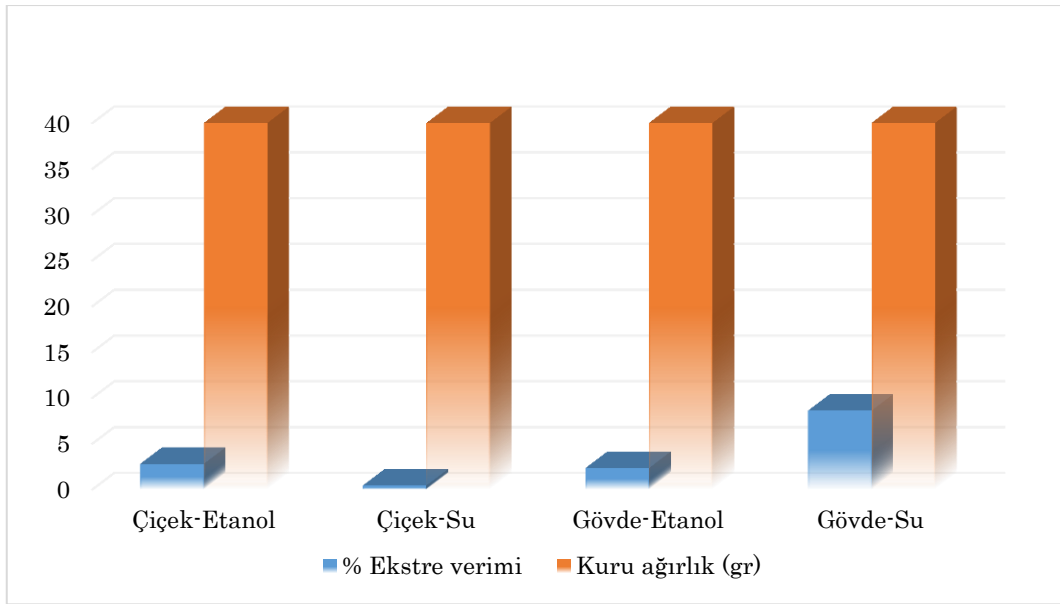
Analizler en az üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve istatistiksel olarak standart ortalama ve standart sapma (ortalama \pm SS) şeklinde hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz için GraphPad InStat version 3.05 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, ABD) kullanılmıştır. Student's *t* testi, ikili

grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında kullanılırken; üçlü grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında ise ANOVA yapılmıştır. Elde edilen skorlar Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak $P < 0.05$ güven aralığından küçük olan veriler anlamlı; $P < 0.01$ güven aralığından küçük olan veriler ise çok anlamlı olarak kabul edilmiştir (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).

BULGULAR

Ekstre Verimliliğine İlişkin Bulgular

Gaziantep ili ve çevresinde doğal olarak yayılış gösteren *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitkisinin dH₂O ve EtOH çözücüler kullanılarak çiçek ve gövde kısımlarından elde edilen ekstraların, başlangıç miktarları ve ekstraksiyon sonrası elde edilen miktarlarına bağlı olarak elde edilen ekstre verimlilikleri yüzde (%gr gr⁻¹) olarak Şekil 2'de verilmiştir. Bitki türünün gövde kısmından elde edilen yüzde (%) ekstrakt veriminin çiçek kısmından elde edilen ekstraktlara göre daha fazla olduğu ve en yüksek verimin gövde kısmından dH₂O kullanılarak elde edilen ekstraktlarda (%8.59) olduğu görülmektedir (Şekil 2).



Şekil 2. Bitkinin yüzde (%gr gr⁻¹) ekstre verimliliği
Figure 2. Percentage (gr gr⁻¹ %) extract yield of the plant

Antikanser Aktiviteye İlişkin Bulgular

C. serpyllifolium subsp. *serpyllifolium* bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen bitki ekstralarının A549, H1299 ve C6 kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivite potansiyeline bağlı olarak kanser gelişimi üzerine etkinlikleri doz ve zamana bağlı olarak analiz edilmiş ve test edilen her bir ekstre için hücrelerin %50'sinin çoğalmasını inhibe etmek için

gerekli olan doz miktarı hesaplanmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgular IC₅₀ (µg/mL) \pm S.S. (standart sapma) olarak Çizelge 1'de sunulduğu gibidir.

Bitkinin çiçek ve gövde kısımlarının antikanser aktivitesini belirlemeye yönelik yapılan analizlerde, ekstraların 5.28 \pm 0.10 µg ml⁻¹ ile 37.92 \pm 1.18 µg ml⁻¹ arasında değişen IC₅₀ değerleriyle güçlü sitotoksik etkiye sahip oldukları ve A549, H1299 ve C6 olmak

üzere her üç kanser hücrelerdeki, hücre canlılık aktivitelerinin azaltarak, hücreleri ölüme teşvik ettiği gözlenmiştir. Çalışma bulguları doğrultusunda; bitkinin çiçek ve gövde kısımlarından elde edilen bitki özütleri en yüksek oranda A549 hücre hattına ($IC_{50}=5.28\pm 0.10-10.20\pm 0.51 \mu\text{g ml}^{-1}$) karşı etkili bulunurken; C6 ($IC_{50}=25.63\pm 0.40-37.92\pm 1.18 \mu\text{g ml}^{-1}$) hücre hatlarına karşı ise en düşük oranda antikanser

aktivite gösterdiği ortaya konulmuştur. *C. serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitkisinin kullanılan farklı kısımlarına göre ise; çiçek kısmının 5.28 ± 0.10 ile $28.01\pm 0.64 \mu\text{g ml}^{-1}$ aralığında değişen IC_{50} değerleri ile gövde kısmına kıyasla daha yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Bitki ekstrelerinin akciğer kanseri ve beyin glioma hücre hatlarına karşı antikanser aktiviteleri
Table 1. Anticancer activities of plant extracts against lung and brain glioma cell lines

Hücre hatları <i>Cell lines</i>	Bitki kısımları ve özütler <i>Plant parts and extracts</i>	IC_{50} değerleri ^a ($\mu\text{g mL}^{-1}$) <i>IC₅₀ values</i> ^a ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
A549	Çiçek (<i>Flower</i>)	EtOH	$6.40 \pm 0.47^{**}$
		dH ₂ O	$5.28 \pm 0.10^{**}$
	Gövde (<i>Stem</i>)	EtOH	$10.20 \pm 0.51^*$
		dH ₂ O	$9.15 \pm 0.36^{**}$
H1299	Çiçek (<i>Flower</i>)	EtOH	$14.78 \pm 1.03^*$
		dH ₂ O	$14.05 \pm 0.76^{**}$
	Gövde (<i>Stem</i>)	EtOH	$20.98 \pm 0.24^{**}$
		dH ₂ O	$18.32 \pm 0.09^*$
C6	Çiçek (<i>Flower</i>)	EtOH	$28.01 \pm 0.64^*$
		dH ₂ O	$25.63 \pm 0.40^{**}$
	Gövde (<i>Stem</i>)	EtOH	$37.92 \pm 1.18^{**}$
		dH ₂ O	$30.07 \pm 1.23^{**}$
HUVEC	Çiçek (<i>Flower</i>)	EtOH	$9.08 \pm 0.90^{**}$
		dH ₂ O	$7.23 \pm 0.05^{**}$
	Gövde (<i>Stem</i>)	EtOH	$15.02 \pm 0.34^*$
		dH ₂ O	$12.61 \pm 0.56^{**}$
Doksorubisin ^b		7.04 ± 0.29	

^a Veriler IC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$) \pm S.S. (standart sapma) olarak ifade edilmiştir (n=3).

^b Doksorubisin, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

*P < 0.05 ve ** P < 0.01

Antiproliferatif Aktiviteye İlişkin Bulgular

Bitkinin çiçek ve gövde kısmından elde edilen farklı ekstrelerin antiproliferatif aktiviteleri; A549, H1299 ve C6 kanser hücrelerinde hücrelerin canlılıkları üzerine etkileri konsantrasyon ve muamele sürelerine bağlı olarak analiz edilmiştir. Hücreler, 24, 48 ve 72 saat olmak üzere farklı zaman aralıklarında, uygulanan ekstre konsantrasyonuna bağlı olarak sayılmış ve kanserli hücre soylarından elde edilen hücre canlılık oranları, kontrol hücre hattı olan HUVEC hücrelerindeki canlılık oranları ile kıyaslanmıştır. Çalışma kapsamında, 48 saat ekstre uygulaması sonrasında elde edilen bulgular yüzde (%) hücre canlılığı olarak Şekil 3'te verilmiştir.

MTT analizlerinden elde edilen bulgulara benzer şekilde; *C. serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitkisinin çiçek kısmından dH₂O kullanılarak hazırlanan ekstrakt, kanser hücrelerinde hücre çoğalmasını en yüksek oranda engelleyen ve böylece güçlü antiproliferatif aktivite gösteren bitki ekstraktı olarak tespit edilmiştir. Bitki materyalinin gövde kısmından EtOH ile elde edilen ekstrakt ise; test edilen her üç hücre hattında da en az antiproliferatif kapasiteye sahip özüt olarak belirlenmiştir. Bitkiden elde edilen farklı ekstrelerin genel olarak hücre

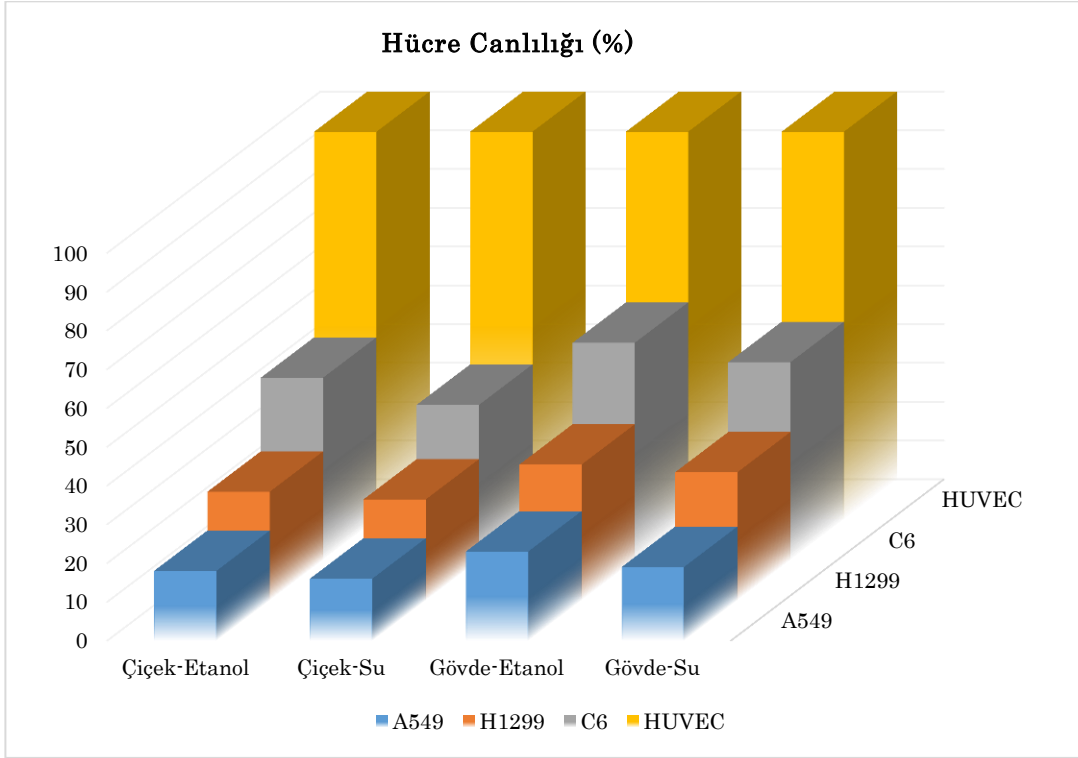
canlılıkları değerlendirildiğinde ise, %16-23 arasında değişen hücre canlılık oranlarıyla hücre canlılığının en yüksek oranda azaltılabildiği kanserli hücre hattının A549; en az azaltılabildiği hücre hattının ise %40-56 arasında değişen canlılık oranları ile C6 hücreleri olduğu belirlenmiştir (Şekil 3).

Apoptotik DNA Fragmentasyonuna İlişkin Bulgular

Farklı konsantrasyonlarda özütler ile muamele edilen A549, H1299 ve C6 kanser hücre soylarında antijen-antikor kompleksi esasına dayanan ELISA testi ile apoptoz seviyesi ölçülmüştür. Sunulan çalışmada, doksorubisin pozitif kontrol olarak kullanılırken; bitki ekstraktı ile muamele edilmemiş olan hücreler ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Bulgular, farklı dozlarda bitki ekstresi uygulanan hücre örneklerinden elde edilen veriler ile kıyaslanmış ve uygulanan tüm bitki konsantrasyonları için negatif kontrole kıyasla istatistiksel açıdan çok önemli (P < 0.01); pozitif kontrol olarak kullanılan doksorubisine oranla da önemli (P < 0.05) olarak bulunmuştur. Ayrıca, bitkinin her iki aksamından elde edilen bitki ekstrelerinin, A549, H1299 ve C6 olmak üzere her üç kanser hücre hattında da muamele edilen ekstre konsantrasyonuna bağlı olarak apoptotik hücre

ölümünü artırdığı belirlenmiştir. Uygulanan farklı ekstre konsantrasyonlarına göre, apoptotik DNA fragmentasyonuna bağlı olarak elde edilen apoptotik

hücre ölüm seviyelerindeki değişimler her bir hücre hattı için rölatif absorbands değerleri olarak Çizelge 2'de gösterilmektedir.



Şekil 3. Bitki ekstralarının akciğer ve beyin glioma hücre hatlarında hücre canlılık oranları

Figure 3. Cell viability rates of the plant extract in lung and brain glioma cell lines

* Veriler 48 saat uygulama sonrasında hücrelerdeki yüzde canlılık olarak ifade edilmiştir.

** HUVEC hücreleri kontrol hücreler olarak kullanılmış ve canlılık oranları %100 olarak kabul edilmiştir.

Apoptotik hücre ölümü üzerine *C. serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitki ekstralarının etkinliğinin ortaya konulduğu bu çalışmada, antikanser ve antiproliferatif aktivite bulgularına benzer şekilde; apoptotik hücre ölümünün en fazla gerçekleştiği hücre hattının A549 hücreleri olduğu tespit edilmiş ve bunu sırasıyla H1299 ve C6 hücrelerinin takip ettiği belirlenmiştir. Ayrıca, 100 µg mL⁻¹ konsantrasyonda test edilen tüm ekstraların A549 hücre soylarında aynı dozda doksorubisinden daha etkili bir şekilde mono ve oligonükleozom oluşumunu artırarak apoptozu tetikleyebildiği gözlenmiştir. Aynı dozun, HUVEC kontrol hücrelerinde hücre canlılığını etkilemediği de çalışmalarda ortaya konulan bulgular arasındadır. Çalışmada kullanılan hücre hatlarında apoptotik DNA fragmentasyonuna bağlı olarak gözlenen mono ve oligonükleozom miktarının, dH₂O-çiçek ekstralarında en yüksek; EtOH-gövde ekstralarında ise apoptotik etkinin en düşük olduğu belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Kanser, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin her ikisinde de günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir. Oluşum mekanizmaları, gelişimi ve sonuçları açısından

kanser; bireyler arasında farklı süreçler ile karakterize edilen, hücresel ve moleküler düzeyde heterojenite ve çeşitlilik gösteren multifaktöryel bir hastalıktır (Tewary ve ark., 2017). Kanser, hücrelerin aşırı ve zamansız çoğalmalarına, immün sistemin gözetiminden kaçmalarına ve nihai olarak da uzaktaki dokuları da istila ederek metastazlar oluşturmalarına yol açan metabolik ve davranışsal değişikliklerin meydana geldiği çok basamaklı bir süreçtir (Searle ve ark., 1982; Sung ve ark., 2021). Bu süreç, büyüme baskılayıcılarından kaçınma, immün yıkımdan korunma, genom kararsızlığı ve mutasyon, hücre ölümüne (apoptoz) direnç, anjiyogenezin indüklenmesi, proliferatif sinyallerin bozulması, replikatif ölümsüzlük, tümör teşvik edici inflamasyon, hücresel enerji mekanizmasının bozulması, invazyon aktivasyonu ve metastaz oluşumu ile karakterizedir (Hanahan ve Weinberg, 2011). Sağlıklı hücrelerde, metabolizmada hücrelerin büyümesi ve çoğalması bir düzen içerisinde ve çeşitli kontrol basamaklarının kontrolü dahilinde gerçekleşmektedir. Ancak kanser durumunda, hücreler anormal şekil ve hızda büyümeye ve kontrolsüz şekilde çoğalmaya başlayarak, tümör adı verilen kitle oluşumuna yol açmakta, buna paralel olarak doku ve organlar da görevlerini normal olarak

yerine getirememektedir (Smith ve Simons, 2018; Ramakrishna ve ark., 2021).

Tıbbi ve aromatik bitkiler ihtiva ettikleri zengin biyoaktif bileşikler ve sekonder metabolitler ile kanser başta olmak üzere pek çok hastalığın tedavisinde ve gelişiminin engellenmesinde ‘tamamlayıcı tıp (bitkisel tedavi)’ olarak yadsınamaz derecede önem arz etmektedir. Yapılan araştırmalar sadece kanser hastalarında değil, sağlıklı bireylerde de bitkisel ürün kullanımına yönelik artan bir ilginin olduğunu göstermektedir (Greenwell ve Rahman,

2015; Roy ve ark., 2018; Gezici ve Sekeroglu, 2019a). Bu doğrultuda, tamamlayıcı tıp alanında da önem arz eden *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitkisinin, çiçek ve gövde kısımları farklı çözücüler ile ekstrakte edilen özütler kullanılarak antikanser, antiproliferatif ve apoptotik aktivitelerinin ortaya konulduğu bu çalışmadan elde edilen veriler ışığında, tıp alanında kanser araştırmalarında ve farmasötik alanda ilaç yapımında kullanılma potansiyelinin literatüre kazandırıldığı düşünülmektedir.

Çizelge 2. Bitki ekstrelerinin akciğer ve beyin glioma hücre hatlarında apoptotik hücre ölümü üzerine etkileri
Table 2. Effects of the plant extracts on apoptotic cell death in lung and brain glioma cells

Bitki özüt Konsantrasyonları (Concentrations of the plant extract)	Absorbans Değeri ^a ± Standart Sapma (Absorbance ^a ± Standard Deviation)			
	Çiçek-EtOH	Çiçek-dH ₂ O	Gövde-EtOH	Gövde-dH ₂ O
A549 Hücre Hatı (A549 Cell Line)				
0 µg mL ⁻¹ ^b	0.968±0.002	0.830±0.045	0.874±0.016	0.801±0.098
10 µg mL ⁻¹	2.382±0.056	2.590±0.008	2.040±0.010	2.083±0.002
20 µg mL ⁻¹	3.270±0.028	4.028±0.091	3.005±0.076	3.296±0.036
50 µg mL ⁻¹	4.102±0.014	4.805±0.007	3.941±0.025	4.069±0.021
100 µg mL ⁻¹	5.351±0.080	5.648±0.050	5.062±0.019	5.302±0.095
Doksorubisin ^c	5.021±0.012 (100µg/mL konsantrasyonda)			
H1299 Hücre Hatı (H1299 Cell Line)				
0 µg mL ⁻¹ ^b	0.902±0.035	0.845±0.017	0.904±0.088	0.851±0.052
10 µg mL ⁻¹	1.640±0.007	1.651±0.090	1.325±0.010	1.412±0.024
20 µg mL ⁻¹	2.561±0.054	2.963±0.027	2.110±0.049	2.408±0.095
50 µg mL ⁻¹	3.258±0.006	4.037±0.039	2.851±0.070	3.170±0.016
100 µg mL ⁻¹	4.369±0.078	4.805±0.066	3.967±0.021	4.164±0.003
Doksorubisin ^c	4.016±0.037 (100µg/mL konsantrasyonda)			
C6 Hücre Hatı (C6 Cell Line)				
0 µg mL ⁻¹ ^b	0.876±0.092	1.001±0.064	0.811±0.001	0.780±0.050
10 µg mL ⁻¹	1.395±0.015	1.624±0.077	0.948±0.009	1.014±0.061
20 µg mL ⁻¹	2.240±0.060	2.650±0.083	1.645±0.079	2.060±0.014
50 µg mL ⁻¹	2.820±0.080	3.142±0.020	2.340±0.036	2.785±0.010
100 µg mL ⁻¹	3.180±0.071	3.592±0.011	2.701±0.009	2.974±0.006
Doksorubisin ^c	3.925±0.049 (100µg/mL konsantrasyonda)			

^a Veriler 24 saat uygulama sonrasında hücrelerdeki DNA fragmentasyonunu ifade eden mono ve oligonükleozom zenginleşmesi ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

^b 0 µg mL⁻¹ özüt uygulanan hücreler, negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

^c Doksorubisin (100 µg ml⁻¹), pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Bitkinin sitotoksik kapasitesine bağlı olarak antikanser özelliğinin ortaya konulmasına yönelik Shehab ve Abu-Gharbieh (2012) tarafından yapılan çalışmada bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan su ekstresinin ve yağının insan kolorektal (HCT-116) ve insan meme (MCF-7) kanseri hücre

hatları üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada bitkinin yağının HCT ve MCF-7 hücrelerinde sırasıyla 10 µg ml⁻¹ ve 12.7 µg ml⁻¹ IC₅₀ değerleri en yüksek oranda sitotoksik etkiyi gösterirken, su özütü ise HCT ve MCF-7 hücrelerinde sırasıyla 11 µg ml⁻¹ ve 19.6 µg ml⁻¹ IC₅₀ değerleri ile

en az sitotoksik etkiyi göstermiştir. Ayrıca El-Huneidi ve ark. (2020) tarafından, bitki türünün farklı konsantrasyonlardaki ekstralarının insan meme (MCF-7) ve kolorektal (HCT-116) kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik aktiviteleri; MCF-7 hücrelerine karşı $99.7 \mu\text{g ml}^{-1}$ ve $208.9 \mu\text{g ml}^{-1}$ aralığında değişen IC_{50} değerleri ile, HCT-116 hücrelerine karşı ise sırasıyla $98.8 \mu\text{g ml}^{-1}$ ve $403.8 \mu\text{g ml}^{-1}$ arasında değişen IC_{50} değerleri ile belirlenmiştir. Çalışma kapsamında araştırılan bitki ekstralarının sahip olduğu güçlü sitotoksik etkinin, bitkinin ihtiva ettiği fenolik asitlerden, flavonoidlerden, monotermen ve seskiterpen olmak üzere zengin biyoaktif bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

C. serpyllifolium subsp. *serpyllifolium* bitkisinin farklı hücre hatlarına karşı antiproliferatif kapasitelerinin ortaya konulmasına yönelik yapılan önceki çalışmalarda, bitkinin sulu ekstresinin insan globlastoma (U-87) hücre hattında önemli ölçüde hücre canlılığını azaltarak antiproliferatif aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Koç ve ark., 2017). Bitkinin etanol ekstresinde RP-HPLC ile belirlenen fenolik asit (gallik asit, kafeik asit, vanilik asit, ferulik asit) ve flavonoid (kuersetin, rutin, kaempferol, apigenin) bileşiklerinin çeşitli kanser hücrelerinde hücre canlılığını azalttığı gösterilmiştir (Kampa ve ark., 2004; Mutalib ve ark., 2016). Bitkinin uçucu yağı ile yapılan başka bir çalışmada, pulegone (%33.40) bileşiminin M14, A2058 ve A375 hücreleri üzerinde; linool (%30.29) bileşiminin ise A549 ve HepG2 hücre hatları üzerinde konsantrasyona bağlı olarak antiproliferatif etki gösterdiği bildirilmiştir (Telci ve Ceylan, 2007; Kladniew ve ark., 2014; Russo ve ark., 2016). Yine bitkinin uçucu yağındaki ana bileşenlerden piperitone, piperitone oksit, α -pinen, β -pinen bileşiklerin kanserli hücre hatlarında proliferasyonun baskılanmasına katkı sağladığı yönünde çalışmalar mevcuttur (Lampronti ve ark., 2006; Sobral ve ark., 2014; Yagi ve ark., 2016). Bitkinin uçucu yağ ve ekstralarında bulunan zengin aktif bileşenlerin, güçlü antiproliferatif aktivite üzerinde önemli ölçüde etkisi olduğu görülmektedir. Bitkinin farklı kısımlarından distile su ve etanol çözücülerini kullanılarak elde edilen ekstraktların A549, H1299 ve C6 hücre hatlarında hücrelerin çoğalmasını engelleyerek ve hücrelerin canlılığını azaltıcı yöndeki güçlü etkileri, literatürde yer alan önceki raporlar ile uyumlu olduğu görülmüştür.

DNA hasarına bağlı olarak *C. serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitki ekstralarının apoptotik hücre ölümünü teşvik edici kapasitelerinin de araştırıldığı bu çalışmada literatür açısından ilk kez tarafımızca gerçekleştirilmiştir. Ekstraktların sahip olduğu apoptotik aktivite; bitkinin bünyesinde yüksek miktarda bulunan kuersitrin (%4.72), ferulik (%4.30), rozmanirik (%4.23) ve benzoik asit (%2.08) başta

olmak üzere fenolik asitler, flavonoidler ve uçucu yağdaki diğer bileşikler ile açıklanabilir (Zhang et al., 2018; El-Huneidi ve ark., 2020).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Son yıllarda yapılan araştırmalar doğrultusunda, tıbbi aromatik bitkiler ve bitkilerden elde edilen biyoaktif bileşenlerin insan sağlığı üzerinde oldukça faydalı biyolojik etkilere sahip olduğu görülmektedir. Özellikle endojen ve ekzojen kaynaklı serbest radikal türlerinin neden olduğu oksidatif stresin; kanser, diyabet, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar başta olmak üzere pek çok hastalığın oluşumuna ve gelişimine yol açtığı bilinmektedir. Tıbbi ve aromatik bitkiler ile diyetle alınan doğal bileşikler ise; serbest radikal türlerinin neden olduğu oksidatif hasarları nötralize edebilecek bileşikler ihtiva etmektedir. Özellikle tamamlayıcı tıp alanında pek çok hastalığın seyrinin yavaşlatılmasında ve tedavisinde, tıbbi özelliğe sahip bitkiler ve bu bitkilerden izole edilen etken maddelerin oldukça önemli bir yere sahip olduğu görülmektedir. Bu bağlamda, Gaziantep ve çevresinde doğal olarak yetişmekte olan ve halk arasında 'taş nanesi' olarak bilinen *Clinopodium serpyllifolium* subsp. *serpyllifolium* bitkisinin çiçek ve gövde kısımlarından farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstralarının antikanser, antiproliferatif ve apoptotik aktiviteleri ortaya konulmuştur. Bitki türü ile ilgili yapılan literatür taramaları doğrultusunda kanser gelişimini önleyici etkiye sahip olup olmadığını ortaya koyan herhangi bir çalışmaya rastlanmadığından, sunulan çalışmadan elde edilen bulgular literatüre yeni bilgiler kazandırma potansiyelindedir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular doğrultusunda, çalışılan bitki türü kanser hücrelerinde sitotoksisteye bağlı olarak hücre çoğalmasını engelleyici ve apoptotik hücre ölümünü teşvik edici etkisiyle tıp ve farmasötik alanlarında daha sonra yapılacak olan çalışmalara ön veri sunmaktadır.

TEŞEKKÜR

Sunulan çalışma Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Yönetim birimi tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Proje kodu: 1928MAP1).

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

SG: Çalışma alt yapısının hazırlanması, laboratuvar analizlerinin gerçekleştirilmesi, istatistiksel hesaplamaların yapılması ve makalenin yazılması; DK: Bitki ekstralarının hazırlanması ve literatürlerin taranması; FY: Bitki materyal temini ve taksonomik açıdan bitkinin tanımlanması; NS: Çalışma fikrinin ortaya atılması ve makalenin düzenlenmesi. Tüm yazarlar makalenin son halini okumuş ve yayınlanması için onay vermişlerdir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Abdulridha MK, Al-Marzoqi AH, Al-Awsi GRL, Mubarak SM, Heidarifard M, Ghasemian A 2020. Anticancer effects of herbal medicine compounds and novel formulations: a literature review. *Journal of Gastrointestinal Cancer*. 51: 765-773
- Ali-Shtayeh MS, Jamous RM 2008. *Traditional Arabic Palestinian Herbal Medicine*, TAPHM. Til, Nablus, Palestine, Biodiversity and Environmental Research Center, BERC. ISBN 978-9950-324-04-6
- Ali-Shtayeh MS, Jamous RM, Abu-Zaitoun SY, Akkawi RJ, Kalbouneh SR, Bernstein N, Dudai, N 2018. Chemical profile and bioactive properties of the essential oil isolated from *Clinopodium serpyllifolium* (M. Bieb.) Kuntze growing in Palestine. *Industrial Crops and Products* 124: 617-625.
- Barboza GE, Cantero JJ, Núñez C, Ariza Espinar L, Pacciaroni ADV 2009. Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora. *Kurtziana*. 34(1): 12-20.
- Batsalova T, Bardarov K, Bardarov V, Moten D, Dzhambazov, B 2017. Cytotoxic properties of *Clinopodium vulgare* L. extracts on selected human cell lines. *Comptes Rendus l'Académie Bulgarienne Des Science*. 70(5): 645-650.
- Baydar H 2020. Tıbbi ve aromatik bitkiler bilimi ve teknolojisi. (8.baskı). Nobel Akademik Yayınları, Ankara, 21 sy.
- Baytop T 1999. Türkiye'de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün. (1.baskı). Nobel Tıp Kitabevleri.
- Bruno MJ, Onreshkova D, Simeonov S, Naidenova E, Pencheva I 2019. Analysis and identification of flavanoids and phenolcarbonic acid in extract plant of *Clinopodium vulgare*. *American Journal of Analytical Chemistry*. 10(12): 641.
- Carvajal F, Huanca A, González-Teuber M, Urzúa A, Echeverría J 2017. Uses of hazardous medicinal plants: composition of the essential oil of *Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze (Lamiaceae), collected in Chile. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 16(5): 486-492.
- Čavar S, Vidic D, Maksimović M 2013. Volatile constituents, phenolic compounds, and antioxidant activity of *Calamintha glandulosa* (Req.) Benth. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93(7): 1758-1764.
- Dunkić V, Kremer D, Grubešić RJ, Rodríguez JV, Ballian D, Bogunić F, Stabentheiner E 2017. Micromorphological and phytochemical traits of four *Clinopodium* L. species (Lamiaceae). *South African Journal of Botany*. 111: 232-241.
- El-Huneidi W, Shehab NG, Bajbouj K, Vinod A, El-Serafi A, Shafarin J, Abu-Gharbieh E 2020. *Micromeria fruticosa* induces cell cycle arrest and apoptosis in breast and colorectal cancer cells. *Pharmaceuticals*. 13(6): 115.
- Gezici S, Sekeroglu N 2022. Comparative biological analyses on kenger and kenger coffee as novel functional food products. *Journal of Food Science and Technology*. 59(6): 2328-2338.
- Gezici S 2019. Comparative anticancer activity analysis of saffron extracts and a principle component, crocetin for prevention and treatment of human malignancies. *Journal of Food Science and Technology*. 56(12): 5435-5443.
- Gezici S, Sekeroglu N 2019a. Current perspectives in the application of medicinal plants against cancer: novel therapeutic agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 19(1): 101-111.
- Gezici S, Sekeroglu N 2019b. Neuroprotective potential and phytochemical composition of acorn fruits. *Industrial Crops and Products*. 128: 13-17.
- Gezici S, Sekeroglu N, Kijjoa A 2017. In vitro anticancer activity and antioxidant properties of essential oils from *Populus alba* L. and *Rosmarinus officinalis* L. from South Eastern Anatolia of Turkey. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 51(3): 498-503.
- Greenwell M, Rahman PKSM 2015. Medicinal plants: their use in anticancer treatment. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(10): 4103.
- Hanahan D, Weinberg RA 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 144(5): 646-674.
- Harley RM, Paucar AG 2000. List of species of tropical American *Clinopodium* (Labiatae), with new combinations. *Kew Bulletin*. 917-927.
- Hingst O, Blottner S 1995. Quantification of apoptosis (programmed cell death) in mammalian testis by DNA-fragmentation ELISA. *Theriogenology*. 44(3): 313-319.
- Jaramillo BE, Stashenko E, Martínez JR 2010. Volatile chemical composition of the Colombian *Satureja brownei* (Sw.) Briq. and determination of its antioxidant activity. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 15(1): 52-63.
- Kampa M, Alexaki VI, Notas G, Nifli AP, Nistikaki A, Hatzoglou A, Castanas E 2004. Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action. *Breast Cancer Research*. 6(2): 1-12.
- Kaya A 2019. Morphological characteristics of *Clinopodium acinos* and *Clinopodium suaveolens* (Lamiaceae) growing in Turkey. *Journal of Research in Pharmacy*. 23(1): 62-68.

- Kılıç O, Kutlu MA, Özdemir FA 2017. Essential oil composition of *Clinopodium vulgare* L. subsp. *arundanum* (Boiss.) Nyman from Bingöl (Turkey). *International Journal of Secondary Metabolite*. 4(3, Special Issue 1): 11-15.
- Kladniew BR, Polo M, Villegas SM, Galle M, Crespo R, Bravo MG 2014. Synergistic antiproliferative and anticholesterogenic effects of linalool, 1, 8-cineole, and simvastatin on human cell lines. *Chemico-biological Interactions*. 214: 57-68.
- Koc K, Ozdemir O, Kizilkaya OF, Sengul M, Turkez H 2017. Cytotoxic activity of the aqueous extract of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *serpyllifolia* on human U-87 MG cell lines. *Archives of Biological Sciences*. 69(3): 449-453.
- Lampronti I, Saab AM, Gambari R 2006. Antiproliferative activity of essential oils derived from plants belonging to the Magnoliophyta division. *International Journal of Oncology*. 29(4): 989-995.
- Ludeña HMA. 2017. Método preparativo de ácido ursólico a partir de la planta de medicinal Flor de arena (*Clinopodium revolutum*) (Doctoral dissertation, Pontificia Universidad Católica del Perú-Centrum Católica Peru.
- Mahady GB 2005. Medicinal plants for the prevention and treatment of bacterial infections. *Current Pharmaceutical Design*. 11(19): 2405-2427.
- Matailo A, Bec N, Calva J, Ramírez J, Andrade JM, Larroque C, Armijos C 2019. Selective BuChE inhibitory activity, chemical composition, and enantiomer content of the volatile oil from the Ecuadorian plant *Clinopodium brownei*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 29(6): 749-754.
- Mohanty S, Kamolvit W, Zambrana S, Sandström C, Gonzales E, Östenson CG, Brauner A 2017. Extract of *Clinopodium bolivianum* protects against *E. coli* invasion of uroepithelial cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 198: 214-220.
- Mossman B, Light W, Wei E 1983. Asbestos: mechanisms of toxicity and carcinogenicity in the respiratory tract. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 23(1): 595-615.
- Mutalib M A, Ali F, Othman F, Ramasamy R, Rahmat A 2016. Phenolics profile and anti-proliferative activity of *Cyphomandra* Betacea fruit in breast and liver cancer cells. *SpringerPlus*. 5(1): 1-13.
- Pino J A, Estarrón M, Fuentes V 1997. Essential oil of *Satureja brownei* (Sw.) Briq. grown in Cuba. *Journal of Essential Oil Research*. 9(5): 595-596.
- Ramakrishna W, Kumari A, Rahman N, Mandave P 2021. Anticancer activities of plant secondary metabolites: Rice callus suspension culture as a new paradigm. *Rice Science*. 28(1): 13-30.
- Roy A, Jauhari N, Bharadvaja N 2018. 6 Medicinal Plants as. *Anticancer Plants: Natural Products and Biotechnological Implements*. 2: 109.
- Russo A, Formisano C, Rigano D, Cardile V, Arnold NA, Senatore F 2016. Comparative phytochemical profile and antiproliferative activity on human melanoma cells of essential oils of three lebanese *Salvia* species. *Industrial Crops and Products*. 83: 492-499.
- Salameh N, Shraim N, Jaradat N 2018. Chemical composition and enzymatic screening of *Micromeria fruticosa serpyllifolia* volatile oils collected from three different regions of West Bank, Palestine. *BioMed Research International*. 2018: 1-8.
- Salameh N, Shraim N, Jaradat N, El Masri M, Adwan L, K'aibni S, AbuAlhasan M 2020. Screening of antioxidant and antimicrobial activity of *Micromeria fruticosa serpyllifolia* volatile oils: A comparative study of plants collected from different regions of west bank, Palestine. *BioMed Research International*. 2020: 1-7.
- Saldaña-Bobadilla V, Ramirez JK, Perez-Chauca E, Minchan-Herrera P 2020. *Tiquilia paronychioides* (Phil.) at Richardson (Boraginaceae): Una revisión etnobotánica, etnofarmacológica toxicológica. *Ethnobotany Research and Applications*. 19: 1-13.
- Searle J, Kerr JF, Bishop CJ 1982. Necrosis and Apoptosis Distinct Modes Death With Fundamentally Different Significance. *Pathol Annu*. 17: 229-259.
- Senol FS, Sekeroglu N, Gezici S, Kilic E, Orhan, IE 2018. Neuroprotective potential of the fruit (acorn) from *Quercus coccifera* L. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 42(2): 82-87.
- Shehab NG, Abu-Gharbieh E 2012. Constituents and biological activity of the essential oil and the aqueous extract of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *serpyllifolia*. *Pakistan Journal of pharmaceutical Sciences*. 25(3): 687-692.
- Smith JH, Simons C 2004. Development of enzyme inhibitors as drugs. *Enzymes and their inhibitors. Drug Development*. 190-328.
- Sobral MV, Xavier AL, Lima TC, Sousa DP 2014. Antitumor activity of monoterpenes found in essential oils. *The Scientific World Journal*. 95: 1-35.
- Solís Quispe L, Pino JA, Tomaylla-Cruz C, Solís Quispe JA, Aragón-Alencastre LJ, Solís Quispe A 2018. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Minthostachys spicata* (Benth.) Epling and *Clinopodium bolivianum* (Benth) Kuntze against *Premnotrypes latithorax* Pierce. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*. 6(2): 22-28.
- Strober W 2015. Trypan blue exclusion test of cell viability. *Current Protocols in Immunology*, 111(1): 1-2.

- Sung H, Ferlay J., Siegel R L, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: Cancer Journal for Clinicians. 71(3): 209-249.
- Telci I, Ceylan M 2007. Essential oil composition of *Micromeria fruticosa* Druce from Turkey. Chemistry of Natural Compounds. 43(5): 629-631.
- Tewary P, Gunatilaka AL, Sayers TJ 2017. Using natural products to promote caspase-8-dependent cancer cell death. Cancer Immunology, Immunotherapy. 66(2): 223-231.
- The Plant List 2021. (<http://www.theplantlist.org/>)
- Tomas J, Gil L, Llorens-Molina JA, Cardona C, Garcia MT, Llorens L 2019. Biogenic volatiles of rupicolous plants act as direct defenses against molluscs: The case of the endangered *Clinopodium rouyanum*. Flora. 258: 151428.
- Tošić S, Stojičić D, Stankov-Jovanovic V, Mitic V, Mihajilov-Krstev T, Zlatkovic B 2015. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of micropropagated and native *Micromeria pulegium* (Lamiaceae) extracts. Oxidation Communications. 38(1): 55-66.
- Gokyigit N 2021. Türkiye Bitkileri Listesi / Nezahat Gökyigit Botanik Bahçesi 2021. (<https://www.bizimbitkiler.org.tr/yeni>)
- Tuttolomondo T, Licata M, Leto C, Bonsangue G, Gargano ML, Venturella G, La Bella S 2014. Popular uses of wild plant species for medicinal purposes in the Nebrodi Regional Park (North-Eastern Sicily, Italy). Journal of Ethnopharmacology. 157: 21-37.
- Vázquez AM, Aimar ML, Demmel GI, Cabalen ME, Decarlini MF, Cantero JJ, Ruiz GM 2014. Identification of volatile compounds of *Clinopodium odorum* (Lamiaceae): A comparison between HS-SPME and classic hydrodistillation. Boletín latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 13(3): 285-296.
- Yagi S, Babiker R, Tzanova T, Schohn H 2016. Chemical composition, antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from aromatic plants growing in Sudan. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 9(8): 763-770.
- Zhang L, Zhao F, Tao A 2020. Characterization of the complete chloroplast genome of *Clinopodium chinense* (Labiatae), a medicinal plant in southwest of China. Mitochondrial DNA Part B. 5(2): 1491-1493.
- Zhang X, Yu Y, Cen Y, Yang D, Qi Z, Hou Z, Liu K 2018. Bivariate correlation analysis of the chemometric profiles of Chinese wild *Salvia miltiorrhiza* based on UPLC-Qq-MS and antioxidant activities. Molecules. 23(3): 538-551.
- Zheleva-Dimitrova D, Simeonova R, Gevrenova R, Savov Y, Balabanova V, Nasar-Eddin G, Danchev N 2019. In vivo toxicity assessment of *Clinopodium vulgare* L. water extract characterized by UHPLC-HRMS. Food and Chemical Toxicology. 134: 110841.

Kentsel Peyzajda Kullanılan Odunsu Taksonların Arı Çekme Potansiyelleri Bakımından Değerlendirilmesi; Artvin Kent Merkezi Örneği

Derya SARI¹

¹Artvin Çoruh Üniversitesi, Sanat ve Tasarım Fakültesi Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Arhavi, Artvin

¹<https://orcid.org/0000-0001-9440-7343>

✉: deryasari@artvin.edu.tr

ÖZET

Dünyadaki tüm ekosistemlerin devamlılığı için bitkiler ve polinatörler arasındaki ilişkinin sürdürülebilirliği vazgeçilmez bir ihtiyaçtır. Küresel ölçekte tozlaşmanın önemi giderek daha iyi anlaşılmaktadır. Özellikle kentsel alanlarda azalan tozlaştırıcı nüfusunun dengelenmesi ve kent içi biyoçeşitliliğinin desteklenmesi önemli bir konudur. Kentsel yeşil alanlarda yürütülen birçok bitkilendirme faaliyeti bu bağlamda yeşil altyapıları desteklemenin yanı sıra arılar ve diğer tozlayıcılar için insan eliyle oluşturulmuş yeni kaynaklar yaratmaktadır. Ancak kentsel alanlarda kullanılan peyzaj bitkilerinin polinasyon potansiyelleri üzerine çalışmalar oldukça yetersizdir. Bu bakımdan çalışma kapsamında Artvin kent merkezi örneğinde kamusal ve yarı kamusal alanları içeren 8 örnek alanda kullanılan peyzaj süs bitkilerinin bal arıları başta olmak üzere polinatörlerin bu bitkilerden faydalanabilme özellikleri incelenmiştir. Yapılan saha çalışmaları sonucunda 50 familyaya ait toplam 140 odunsu takson tespit edilmiştir. Taksonların özellikleri doğrultusunda veri grafikleri hazırlanmış ve taksonların çiçeklenme periyotları ile Artvin ili ortalama iklim değerleri arasındaki ilişkiler, arıların aktif olduğu dönem ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen verilere göre taksonlardan 108'inin arıların faydalanabileceği polen, nektar ve salgı ürünlerinden en az ikisini barındırdığı ve çiçeklenme periyodu bakımından 7 aya varan bir dönemde arıların faaliyetlerini destekleyen taksonların olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak kentsel peyzajda kullanılan odunsu taksonların arılara kaynak oluşturma açısından önemli bir potansiyeli bulunmaktadır.

Botanik

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 10.07.2021

Kabul Tarihi : 01.10.2021

Anahtar Kelimeler

Arı bitkileri

Artvin

Peyzaj

Polinasyon

Süs bitkileri

Assessment of Woody Taxa Used in Urban Landscape in terms of Bee Plants Attributes; Artvin City Example

ABSTRACT

Sustainability of a healthy relationship between plants and pollinators is an indispensable need for the survival of all ecosystems in the world. The importance of pollination on a global scale is increasingly recognized. Balancing the declining pollinator population in urban areas and supporting urban biodiversity is an important issue. Planting in urban green spaces not only supports green infrastructures, but also creates new man-made resources for bees and other pollinators. However, studies on the pollination potential of landscape plants used in urban areas are insufficient. Within the scope of this study, the ability of pollinators (especially honeybees) to benefit from ornamental plants in 8 public and semi-public sample areas in Artvin city center were examined. As a result of the field studies, a total of 140 woody taxa belonging to 50 families were identified. Data graphics were prepared depending on the characteristics of taxa and the relationships between the flowering periods of taxa and the average climatic values of Artvin province were compared with the period when the bees were active. According to the results, it was determined that 108 of taxa contain at least two

Botanic

Research Article

Article History

Received : 10.07.2021

Accepted : 01.10.2021

Keywords

Artvin

Bee plants

Landscape

Ornamental plants

Pollination

of the pollen, nectar and secretion products that bees can benefit from, and these taxa support the activities of bees for a period of up to 7 months in terms of flowering. Consequently, woody taxa used in urban landscape have an important potential to be a resource for bees.

Atıf Şekli: Sari D, 2022. Kentsel Peyzajda Kullanılan Odunsu Taksonların Arı Çekme Potansiyelleri Bakımından Değerlendirilmesi; Artvin Kent Merkezi Örneği. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 986-998. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.969594>

To Cite : Sari D, 2022. Manuscript Title. Assessment of Woody Taxa Used in Urban Landscape in terms of Bee Plants Attributes; The Sample of Artvin City Center. KSU J. Agric Nat 25 (5): 986-998. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.969594>

GİRİŞ

Tozlaşmayı (polinasyon) sağlayan böceklerin büyük çoğunluğunu arılar oluşturmaktadır (Calderone, 2012). Arılar, ekosistem dengesinin korunması ve bitkisel üretim için esastırlar. Dünya üzerinde bulunan tüm çiçekli bitkilerin yaklaşık %80'i başta arılar olmak üzere polinatör hayvanlara ihtiyaç duymaktadır (Güler, 2016). Bu bakımdan polinatör böcekler, küresel biyoçeşitliliğin anahtar bileşenidirler (Potts ve ark., 2010; Bağrıaçık, 2017). Arılar ve diğer polinatörlerin yardımıyla oluşan tozlaşma sayesinde bitki genetik çeşitliliğine katkı sağlanmış olur.

Polinatörler tarafından gerçekleştirilen tozlaşma sonucu elde edilen ürünler, insan gıdasının yaklaşık %35'ini oluşturmaktadır (Özdemir ve Ulus, 2018). Bal arıları olmadığı durumda çoğu kültür bitkilerinde %90'a varan verim kaybı meydana gelecektir (Klein ve ark., 2007; Bağrıaçık, 2017). Bununla birlikte bal arıları (*Apis mellifera* L.) ekonomik açıdan en değerli tozlaştırıcılar (Özbek, 2003). Eski dönemlerde doğal ortamda avcılık yapılarak toplanmaya başlanan bal, günümüzde modern yöntemlerle de üretilmektedir. Son yıllarda bal dışında diğer arı ürünlerinin kullanım alanlarının artışına bağlı olarak polen, propolis, arı sütü, arı zehiri ve apiterapi uygulamalarının önemi de artmıştır (Öztürk ve ark., 2017).

Dünyadaki yaklaşık 250 binden fazla çiçekli bitki türü arasından 20 bininin arılar tarafından ziyaret edildiği bilinmektedir (Geslin ve ark., 2016; Bahadır ve Gül, 2020). Bal arıları beslenmek ve bal depolamak için birçok bitkiyi ziyaret ederler. Bu ziyaretleri sırasında bazı bitkilerden protein kaynağı olarak polen (çiçek tozu), bazılarında uçmaları için gerekli enerjiyi veren nektar (şeker zengin bir sıvı), bazılarında hem polen hem de nektar, bazılarında ise salgı toplarlar (Güler, 2016; Öztürk ve ark., 2017; Karaköse ve ark., 2018). Polen sadece çiçeklerde bulunurken, nektar bazı çiçeklerin özel kısımlarında, gövde, dal, yaprak ve yaprak saplarında bulunur. Salgılar ise gövde, dal, yaprak, yaprak sapı, meyve gibi organlarda bulunabileceği gibi (Öztürk ve ark., 2017) böcek kaynaklı salgılar da söz konusudur. Bitki öz suları ile beslenen Aphidae ve Coccidae

familyası üyelerinden bazı böcekler, yararlanamadıkları şekerleri dışarı atarak arıların faydalandığı "basura" ve "balçığı" olarak adlandırılan böcek kaynaklı nektarları oluştururlar (Korkmaz, 2013).

Bal arılarının bitki tercihinde bitkinin nektar ve polen özellikleri etkili olmaktadır (Sarıkaya ve ark., 2012). Bu durum aynı zamanda nektar ve polen kaynağının yakınlık, miktar, kalite ve varyetesine bağlı olarak da değişebilmektedir (Genç ve Dodoloğlu, 2011). Bitkilerin nektar verimine; bitkinin tür özelliği, nektar - salgı miktarı, çiçeklenme durumu ve süresi gibi faktörlerle birlikte güneş ışığı, hava sıcaklığı, nem ve toprak özellikleri gibi ekolojik faktörler de etki etmektedir. Arılar genel olarak şeker oranı yüksek nektarları tercih etmektedir ve bitkinin ürettiği nektarın kalitesi çiçeklenme süresine, bu süredeki nektar salgılama miktarına ve nektarın şeker oranına bağlıdır (Anonim, 2021a).

Küresel ölçekte tozlayıcıların giderek azaldığı kaydedilmiştir (Garbuzov ve Ratnieks, 2014). İçinde bulunduğumuz yüzyılda artan insan faaliyetleri sonucu değişime uğrayan çevre ve iklim özellikleri birçok polinatör türün ihtiyacı olan habitatların yok olmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla ekonomik ve ekolojik sürdürülebilirlik açısından ekosistemlerde yeri doldurulamaz bir değere sahip olan tozlaştırıcı böceklerin (Bağrıaçık, 2017; Özdemir ve Ulus, 2018) günümüzde değeri daha çok anlaşılmıştır. Bu bağlamda tozlaşma bahçeleri (pollinator gardens), özellikle kentsel alanlarda azalan tozlaştırıcı nüfusunun dengelenmesi ve kent içi biyoçeşitliliğin desteklenmesi açısından önem taşımaktadır. Kentsel yeşil alanlarda yürütülen birçok bitkilendirme faaliyeti bu bağlamda kentsel yeşil altyapıları desteklemenin yanı sıra arılar ve diğer tozlayıcılar için insan eliyle oluşturulmuş yeni kaynaklar yaratmaktadır.

Bal arılarının faydalanabileceği polen ve nektarlı bitkilerin araştırılmasına yönelik bazı çalışmalar mevcuttur (örn; Sorkun ve Doğan, 1994; Sıralı ve Deveci, 2002; Karaca ve ark., 2006; Karaca, 2008; Albaba, 2015; Deveci ve ark., 2015; Güneş Özkan ve ark., 2016; Bekar ve Acar, 2017; Bahadır ve Gül, 2020). Ancak kentsel alanlarda kullanılan ve kentsel

floristik çeşitliliği destekleyen peyzaj süs bitkilerinin polinasyon potansiyelleri üzerine çalışmalar oldukça yetersizdir. Özellikle peyzaj bitkilendirmelerinde yoğun kullanılan süs bitkilerinin ekolojik, fonksiyonel ve morfolojik özelliklerinin bilinmesi, doğru kompozisyonlarda, doğru amaçlar çerçevesinde ve dengeli bir şekilde kullanılması önem arz etmektedir. Bu bakımdan çalışma kapsamında Artvin kent merkezi örneğinde çeşitli kamusal ve yarı kamusal alanlarda peyzaj bitkilendirmesi için kullanılan odunsu taksonların bal arıları başta olmak üzere polinatörlerin bu taksonlardan faydalanabilme özellikleri incelenerek literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Çalışma alanı olan Artvin, Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesinde 40,35 ile 41,32 Kuzey enlemleri ve 41,07 ile 42,00 Doğu boylamları arasında yer almaktadır (Anonim 2021b). Sahip olduğu coğrafi özellikleri nedeniyle engebeli bir topoğrafyaya sahiptir. Türkiye'nin önemli nehirlerinden biri olan Çoruh nehri, şehrin içinden geçmektedir. Bu sayede Çoruh nehri ve oluşturduğu havza önemli bir mikro iklim yaratarak Artvin ilinde farklı iklim tiplerinin bir arada görülmesine olanak sağlamaktadır. Vadinin iklimi tipik olarak Karadeniz, Akdeniz ve çoğunlukla da İç Anadolu Bölgelerinin karasal iklim özelliklerini gösterir. Böylece yazları sıcak ve kurak, kışları ise normal karasal iklime oranla kısmen ılık ve daha az yağışlı bir iklim görülür (Çizelge 1). İklimdeki bu çeşitlilik kısa mesafelerde bile çok çeşitli bitki örtüsü tipleri ve zengin bir floranın gelişmesine neden

olmuştur (Sarı ve Karaşah, 2020).

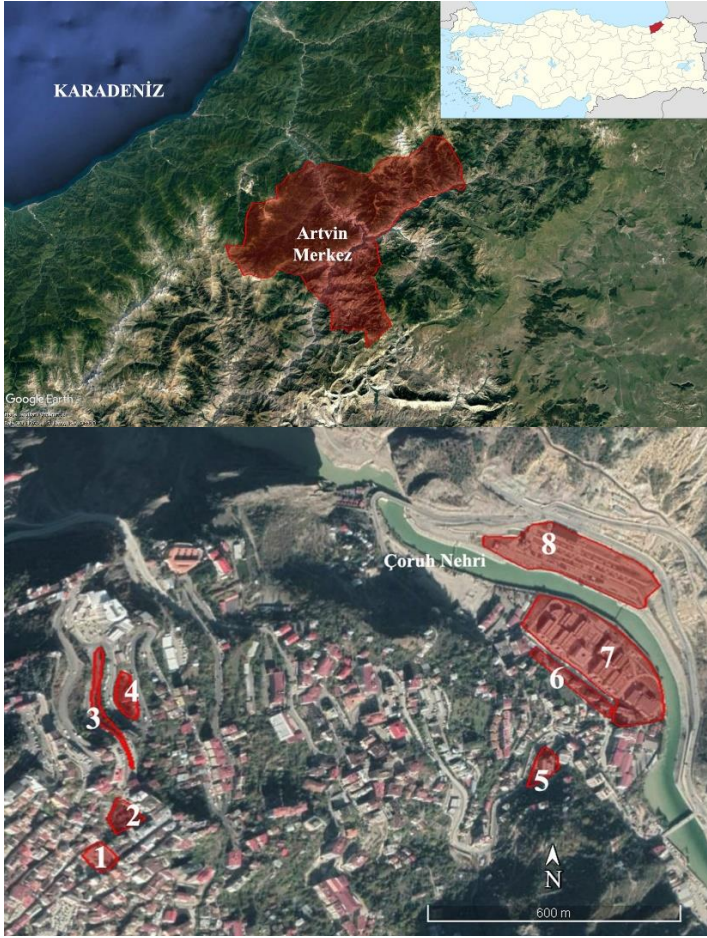
Çalışma kapsamında örnek alanlar belirlenirken Artvin il merkezinin kısa mesafede değişen hareketli topoğrafik yapısı da dikkate alınarak kentsel peyzaj dokusu içerisinde yer alan farklı alanlardan kamusal ve yarı kamusal mekanlar tercih edilmiştir. Bu bağlamda, Valilik ve tören alanı, Atapark, kent merkezi cadde ve refüj alanı, kurum lojmanları, ÇEDAŞ kurum bahçesi, üniversite lojmanları, Artvin Çoruh Üniversitesi (AÇÜ) merkez yerleşkesi, DSİ Çoruh Park olmak üzere 8 örnek alanda incelemeler yapılmıştır (Şekil 1). Örnek alanlardan en alt rakımda olan AÇÜ Merkez Yerleşkesi (210m) ile en üst rakımda olan Valilik ve Tören Alanı arasındaki kot farkı yaklaşık 300 m'dir. 2018-2019 yılları arasında yapılan saha gezilerinde, her bir örnek alanın sahip olduğu açık yeşil alanlardaki mevcut odunsu bitki taksonları envanter tablolarına işlenmiş ve fotoğraflanmıştır. Örnek alanlarda bulunan otsu peyzaj bitkileri mevsimlik olarak kullanıldıkları ve kalıcı olmadıkları için araştırma kapsamına alınmamıştır. Teşhis çalışmasının kolay olması için ilkbahar ve yaz mevsimlerinde ziyaretler gerçekleştirilmiştir. Teşhis çalışmaları ve bitki türlerinin özellikleri için çeşitli literatür kaynaklardan ve bitki veri tabanı web sitelerinden faydalanılmıştır (Davis 1965-1988; Sorkun, 2008; Anonim, 2013; Akkemik, 2014a; Akkemik, 2014b; Eminağaoğlu, 2015; Johannsmeier, 2016; Öztürk ve ark., 2017; Karaköse ve ark., 2018; Anonymous, 2021a; Anonymous, 2021b; Anonymous, 2021c; Anonim, 2021c).

Çizelge 1. Artvin ili ortalama iklim değerleri (1949 - 2020) (Anonim, 2021d)
Table 1 Average climate values of Artvin province (1949 - 2020) (Anonim, 2021d)

ARTVİN	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Yıllık
Ortalama Sıcaklık(°C)	2.6	3.8	7.0	11.8	16.0	18.9	20.9	21.1	18.3	14.2	9.0	4.4	12.3
Ortalama Güneşlenme Süresi (saat)	2.4	3.3	4.3	5.2	6.3	7.1	6.7	6.8	6.4	4.8	3.2	2.1	4.9
Ortalama Yağışlı Gün Sayısı	12.4	11.1	13.6	14.1	16.1	14.6	9.8	10.0	10.3	12.3	11.8	11.6	147.7
Aylık Yağış Ortalaması (mm)	84.1	71.3	59.2	53.3	53.1	49.1	30.6	29.4	37.7	61.1	74.7	86.2	689.8

Saha çalışmalarından sonra bitki özelliklerine ilişkin ham envanter tabloları Excel ortamına aktarılmıştır. Örnek alanlarda tespit edilen her bir bitki taksonunun bilimsel adı, familyası, Türkçe adı, doğal – egzotik durumu, büyüme formu, yaprak özelliği (herdem yeşil, yaprak dökken), arı çeken özelliği (polen, nektar, salgı), örnek alanda bulunma durumu (0 ve 1 olarak), alanda bulunma adedi, çiçeklenme dönemi (ay olarak) bilgileri girilerek örnek alanlara göre dağılımları ve diğer gruplandırma analizleri

yapılmıştır. Hazırlanan veri grafiklerinde, taksonların çiçeklenme periyotları ile Artvin ili ortalama iklim değerleri arasındaki ilişkiler, arıların aktif olduğu dönem ile karşılaştırılmıştır. Bu bilgiler ışığında Artvin kentinde arı bitkisi potansiyeli taşıyan odunsu taksonlar ortaya konularak, kentsel alanlarda arılara kaynak oluşturması bakımından peyzaj süs bitkilerinin önemi irdelenmiş ve kullanım alanlarına yönelik bazı öneriler getirilmiştir.



Şekil 1. Artvin Merkez ve örnek alanların konumu (1: Valilik ve tören alanı, 2: Atapark, 3: Kent merkezi cadde ve refüj alanı, 4: Kurum lojmanları, 5: ÇEDAŞ kurum bahçesi, 6: Üniversite lojmanları, 7: AÇÜ merkez yerleşkesi, 8: DSİ Çoruh Park)

Figure 1. Location of Artvin city center and sample areas (1: Governorship and ceremony area, 2: Atapark, 3: City center street and refuge area, 4: Institutional housing, 5: ÇEDAŞ garden, 6: University housing, 7: AÇÜ central campus, 8: DSİ Çoruh Park)

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışma kapsamında incelenen 8 örnek alanlarda, 36'sı açık tohumlu (Gymnosperm), 104'ü kapalı tohumlu (Angiosperm) olmak üzere 50 familyaya ait toplam 140 takson tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Takson çeşitliliğinin örnek alanlara göre dağılımına bakıldığında en fazla takson sayısına AÇÜ Merkez Yerleşkesi'nde (69 takson), en az takson sayısına ise Kurum lojmanlarında (12 takson) rastlanmıştır (Şekil 2). Bitki türü çeşitliliğinin fazla ve ya az olmasında, örnek alanların sahip olduğu yeşil alan büyüklüğü ve kullanım amacı etkili olabilmektedir.

Örnek alanlarda en fazla taksona sahip familya grupları sırası ile Rosaceae (20 takson), Cupressaceae (18 takson), Pinaceae (14 takson), Sapindaceae (13 takson), Oleaceae (8 takson), Leguminosae (5 takson) olarak sıralanmaktadır (Şekil 3).

71 adet takson herdem yeşil, 69 adet takson ise yaprak döken özelliğe sahiptir. Taksonların % 63'ü egzotik ve egzotik-kültür kökenli, geri kalanı ise

doğal taksonlardan oluşmaktadır (Şekil 4). Türkiye'de özellikle kentsel yeşil alanlarda yöreye ait bitki türlerinden ziyade çoğu egzotik kökenli olan süs bitkilerinin ağırlıklı olarak kullanıldığı görülmektedir (Karaşah ve Sarı, 2018). Burada dikkat çeken bulgulardan biri de çalışma alanında belirlenen doğal taksonların çoğu Türkiye için doğal olmakla birlikte bazı taksonlar Artvin ili için doğal değildir (örn; *Cercis siliquastrum*). Bununla birlikte Artvin için doğal bazı taksonların, ornamental (süs) bitki olarak yetiştirilip peyzajda kullanılan taksonlardan (örn; *Acer cappadocicum* 'Aureum') olduğu belirlenmiştir.

Büyüme formu bakımından, taksonların % 52'si ağaç, % 12'si ağaççık, % 1'i çalı – ağaççık, % 29'u çalı, % 4'ü sarmaşık, % 1'i bodur ağaçtır. Tespit edilen taksonların arı çeken özelliklerine göre oransal dağılımları, polen ve nektar üreten takson sayısı % 52, polen % 20, polen ve salgı % 15, polen, nektar ve salgı % 10, hiçbirisi % 1, nektar % 1, salgı % 1 şeklinde sıralanmaktadır (Şekil 5).

Çizelge 2. Çalışma kapsamında tespit edilen taksonlar ve özellikleri (familyaların alfabetik sırasına göre sıralanmıştır)

Table 2. A list of taxa identified in study areas and their attributes (listed in alphabetical order of families)

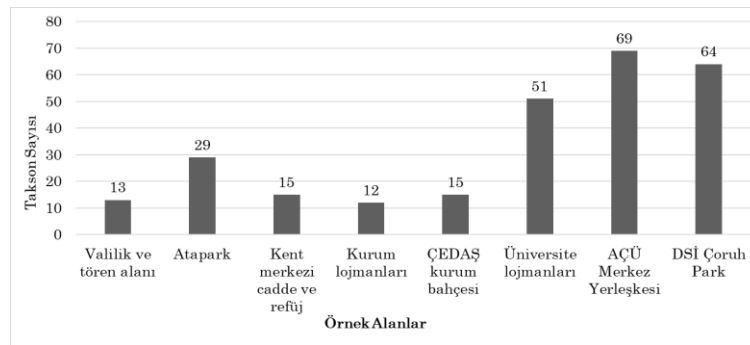
Takson adı	Türkçe adı	Özellik	Büyüme formu	Bulunma yüzdesi	Toplam takson adedi	Çiçeklenme dönemi	Arı çeken özellik
Adoxaceae							
<i>Viburnum opulus</i> L.	Gilaburu, adi kartopu	Doğal	Çalı*	38	45	5-7	PN
<i>Viburnum tinus</i> L.	Defneyapraklı kartopu	Doğal	Çalı**	50	127	2-4	PN
Agavaceae							
<i>Agave americana</i> L.	Sabırlık, yüz yıl bitkisi	Egzotik	Çalı**	13	9	7-9	PN
Altingiaceae							
<i>Liquidambar styraciflua</i> L.	Amerika sığla ağacı	Egzotik	Ağaç*	25	12	3-5	PN
Anacardiaceae							
<i>Cotinus coggygia</i> Scop.	Duman ağacı, peruka çalısı, boyacı sumağı	Doğal	Ağaççık*	25	13	6-7	PN
Apocynaceae							
<i>Nerium oleander</i> L.	Zakkum	Doğal	Çalı**	63	45	6-10	Yok
Araliaceae							
<i>Fatsia japonica</i> (Thunb.) Decne. & Planch.	Japon aralyası, Japon çınarı	Egzotik	Çalı**	13	1	9-10	PN
<i>Hedera helix</i> L.	Orman sarmaşığı	Doğal	Sarmaşık**	38	57	8-11	PN
Areaceae							
<i>Chamaerops humilis</i> L.	Bodur yelpaze palmyesi	Egzotik-Kültür	Ağaç**	13	5	4-6	PN
<i>Trachycarpus fortunei</i> (Hook.) H.Wendl. (<i>Chamaerops excelsa</i>)	Çin yelpaze palmyesi, telli palmye	Egzotik	Ağaç**	13	1	5-6	PN
Asparagaceae							
<i>Yucca filamentosa</i> L.	Avize çiçeği	Egzotik	Çalı**	13	9	6-8	PN
Berberidaceae							
<i>Berberis thunbergii</i> 'Atropurpurea'	Japon kadıntuzluğu	Egzotik-Kültür	Çalı*	38	453	4-5	PN
<i>Nandina domestica</i> Thunb. 'Nana'	Bodur cennet bambusu	Egzotik-Kültür	Çalı**	13	30	6-7	PN
Betulaceae							
<i>Betula alba</i> L.	Adi huş	Doğal	Ağaç*	13	30	3-4	S
Bignoniaceae							
<i>Catalpa bignonioides</i> Walter	Katalpa, sigara ağacı, Hint fasulye ağacı	Egzotik	Ağaç*	25	11	5-7	PN
Buxaceae							
<i>Buxus sempervirens</i> L.	Şimşir	Doğal	Çalı**	25	100	3-5	PN
Caprifoliaceae							
<i>Abelia x grandiflora</i> (André) Rehd	Büyük çiçekli abelya	Egzotik-Kültür	Çalı *	13	20	6-9	PN
<i>Lonicera caprifolium</i> L.	Sarılcı hanımeli	Doğal	Sarmaşık**	25	21	5-7	PN
Celastraceae							
<i>Euonymus alatus</i> (Thunb.) Siebold	Çin taflanı, yanar çalı	Egzotik	Çalı*	13	7	5-7	PN
<i>Euonymus japonicus</i> 'Aureus'	Altuni taflan	Egzotik-Kültür	Çalı**	38	220	5-7	PN
<i>Euonymus japonicus</i> Thunb.	Japon taflanı	Egzotik	Çalı**	25	2	5-7	PN
Cornaceae							
<i>Cornus alba</i> L.	Süs kızılçığı	Egzotik	Çalı*	13	50	5-6	PN
Cupressaceae							
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i> (A.Murray bis) Parl.	Lawson yalancı servisi	Egzotik	Ağaç**	13	3	3-5	P
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i> 'Columnaris Glauca'	Sütun formulu mavi lawson yalancı servisi	Egzotik-Kültür	Ağaç**	13	6	4-5	P
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i> 'Ellwoodii'	Elvudi lawson yalancı servisi	Egzotik-Kültür	Ağaç**	13	3	3-4	P
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i> 'Pembury Blue'	Mavi lawson yalancı servisi	Egzotik-Kültür	Ağaç**	13	2	4-5	P
<i>Chamaecyparis nootkatensis</i>	Sarkık nutka servisi	Egzotik-	Ağaç**	13	3	5	P

Pendula' <i>Cryptomeria japonica</i> 'Globosa Nana'	Japon çamı	Kültür Egzotik- Kültür	Ağaç**	13	4	2-5	P
<i>Cupressus arizonica</i> 'Conica'	Konik formlu Arizona servisi	Egzotik- Kültür	Ağaç**	13	25	8-9	PS
<i>Cupressocyparis x leylandii</i> 'Gold rider'	Altuni melez servi	Egzotik- Kültür	Ağaç**	38	15	3-4	PS
<i>Cupressocyparis x leylandii</i> (A.B.Jacks. & Dallim.) Dallim.	Melez servi	Egzotik- Kültür	Ağaç**	13	57	3-4	PS
<i>Cupressus macrocarpa</i> 'Gold Crest'	Limoni Monteri servisi	Egzotik- Kültür	Ağaç**	38	14	4-6	PS
<i>Cupressus sempervirens</i> L.	Yeşil servi	Doğal	Ağaç**	13	7	4-5	PS
<i>Juniperus chinensis</i> L.	Çin ardıcı	Egzotik	Ağaç**	25	406	4	P
<i>Juniperus communis</i> L. 'Compressa'	Adi ardıç	Doğal - Kültür	Ağaç**	13	5	5-6	P
<i>Juniperus sabina</i>	Sabin ardıcı	Doğal	Çalı**	25	16	4-5	P
<i>Juniperus horizontalis</i> Moench	Sürünücü ardıç	Egzotik	Çalı**	13	40	4-5	P
<i>Platyclusus orientalis</i> (L.) Franco	Doğu mazısı	Doğal	Ağaç**	75	23	4-5	PS
<i>Thuja occidentalis</i> L. ('Thuja occidentalis' 'Smaragd')	Batı mazısı	Egzotik- Kültür	Ağaç**	63	35	4-5	P
<i>Thuja plicata</i> Donn ex D.Don	Boylu mazi	Egzotik	Ağaç**	13	2	3-4	P
Cycadaceae							
<i>Cycas revoluta</i> Thunb.	Yalancı sagu palmiyesi	Egzotik	Ağaç**	13	4	5-7	P
Ericaceae							
<i>Arbutus unedo</i> L.	Koca yemiş	Doğal	Ağaççık**	13	5	9-11	PN
Fagaceae							
<i>Quercus ilex</i> L.	Pırnal meşesi	Doğal	Ağaç**	13	15	5-6	PS
Ginkgoaceae							
<i>Ginkgo biloba</i> L.	Mabet ağacı, ginko	Egzotik	Ağaç*	25	4	4-5	P
Hydrangeaceae							
<i>Hydrangea macrophylla</i> (Thunb.) Ser.	Ortanca	Egzotik	Çalı*	25	120	6-9	PN
<i>Philadelphus coronarius</i> L.	Filbahri	Doğal	Çalı*	25	31	5-6	PN
Hypericaceae							
<i>Hypericum calycinum</i> L.	Büyük çiçekli binbirdelik çalısı	Egzotik	Çalı**	13	80	6-9	P
Juglandaceae							
<i>Juglans regia</i> L.	Ceviz	Doğal	Ağaç*	13	1	4-5	P
Lamiaceae							
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Lavanta	Doğal	Çalı**	25	250	6-8	PN
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Biberiye	Doğal	Çalı**	25	31	4-6	PN
Lauraceae							
<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J.Presl	Kâfur ağacı, tarçın ağacı	Egzotik	Ağaç**	13	3	4-5	PN
<i>Laurus nobilis</i> L.	Defne	Doğal	Ağaççık**	13	6	4-5	PN
Leguminosae							
<i>Albizia julibrissin</i> Durazz.	Gülibrişim	Egzotik	Ağaç*	13	4	6-8	PN
<i>Cercis siliquastrum</i> L.	Erguvan	Doğal	Ağaç*	25	14	3-4	PNS
<i>Gleditsia triacanthos</i> 'Sunburst'	Gladiçya	Egzotik- Kültür	Ağaç*	13	3	5-7	PN
<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	Yalancı akasya	Egzotik	Ağaç*	25	11	4-6	PN
<i>Wisteria sinensis</i> (Sims) Sweet	Mor salkım	Egzotik	Sarmaşık*	25	51	4-7	PN
Lythraceae							
<i>Lagerstroemia indica</i> L.	Oya ağacı	Egzotik	Ağaççık*	50	24	7-9	PN
Magnoliaceae							
<i>Liriodendron tulipifera</i> L.	Amerikan lale ağacı	Egzotik	Ağaç*	13	1	5-7	PN
<i>Magnolia grandiflora</i> L.	Büyük çiçekli manolya	Egzotik	Ağaç**	25	4	6-9	P
<i>Magnolia x soulangeana</i> Soul.-Bod.	Mor çiçekli manolya	Egzotik	Ağaççık*	25	7	3-4	P
Malvaceae							
<i>Hibiscus syriacus</i> L.	Ağaç hatmi	Egzotik	Çalı*	50	23	6-9	PN
<i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	Büyük yapraklı ihlamur	Doğal	Ağaç*	25	2	6-7	PNS
<i>Tilia tomentosa</i> Moench	Gümüşü ihlamur	Doğal	Ağaç*	50	26	6-7	PNS
Mimosaceae							
<i>Acacia dealbata</i> Link	Mimoza	Egzotik	Ağaç*	38	24	2-3	PN
Moraceae							
<i>Ficus carica</i> L.	İncir	Doğal	Ağaç*	13	2	6-8	Yok
<i>Morus alba</i> L.	Akdut	Doğal	Ağaç*	38	8	3-5	P
<i>Morus alba</i> 'Pendula'	Sarkık dut	Doğal - Kültür	Ağaççık*	38	16	4-5	P

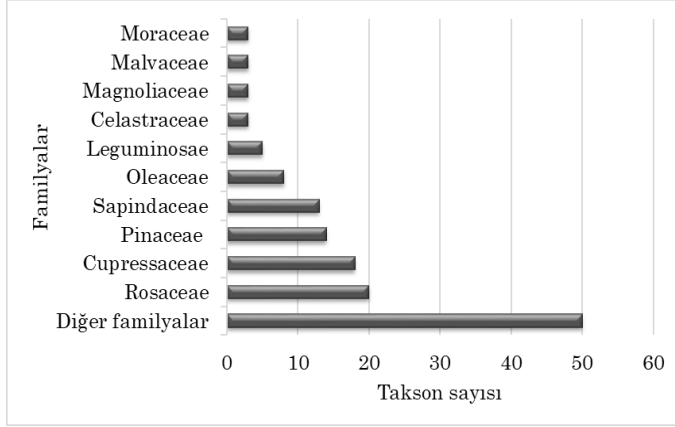
Myrtaceae							
<i>Callistemon citrinus</i> (Curtis) Skeels	Fırça çalısı	Egzotik	Çalı**	50	42	4-10	PN
<i>Leptospermum scoparium</i> J.R.Forst. & G.Forst.	Okyanus mersini (manuka)	Egzotik	Çalı**	13	6	5-7	PN
Oleaceae							
<i>Forsythia x intermedia</i> Zabel	Altınçanak	Egzotik	Çalı*	13	10	3-4	P
<i>Fraxinus americana</i> L.	Amerika dişbudacı	Egzotik	Ağaç*	13	15	4-5	P
<i>Fraxinus ornus</i> L.	Çiçek dişbudak	Doğal	Ağaç*	13	4	4-5	P
<i>Jasminum officinale</i> L.	Gerçek yasemin	Egzotik	Sarmaşık*	13	10	6-9	N
<i>Ligustrum japonicum</i> Thunb.	Japon kurtbağrı	Egzotik	Çalı, Ağaççık**	25	102	6-9	PN
<i>Ligustrum vulgare</i> L.	Adi kurtbağrı	Doğal	Çalı, Ağaççık**	25	31	5-6	PN
<i>Olea europaea</i> L.	Zeytin	Doğal	Ağaççık**	38	25	4-6	P
<i>Syringa vulgaris</i> L.	Leylak	Egzotik	Çalı*	38	73	4-5	PN
Onagraceae							
<i>Gaura lindheimeri</i> Engelm. & A.Gray	Gavura çiçeği	Egzotik	Çalı* (yarı odunsu)	25	230	5-10	PN
Paulowniaceae							
<i>Paulownia tomentosa</i> Steud.	Tüylü pavlonya, Çin kavağı	Egzotik	Ağaç*	13	1	5-6	PN
Pinaceae							
<i>Abies nordmanniana</i> (Steven) Spach	Doğu Karadeniz göknarı	Doğal	Ağaç**	13	2	4	PS
<i>Cedrus atlantica</i> (Endl.) Manetti ex Carrière	Atlas sediri	Egzotik	Ağaç**	13	10	9-11	PS
<i>Cedrus atlantica</i> 'Pendula'	Sarkık dallı mavi atlas sediri	Egzotik-Kültür	Ağaççık**	38	2	9-11	PS
<i>Cedrus deodara</i> (Roxb. ex D.Don) G.Don	Himalaya sediri	Egzotik	Ağaç**	63	21	9-11	PS
<i>Cedrus libani</i> A.Rich.	Toros sediri	Doğal	Ağaç**	13	1	9-11	PS
<i>Picea abies</i> (L.) H.Karst.	Avrupa ladini	Egzotik	Ağaç**	38	154	5-6	PS
<i>Picea glauca</i> 'Conica'	Konik ak ladin	Egzotik-Kültür	Ağaç**	13	3	4-5	PS
<i>Picea orientalis</i> (L.) Link.	Doğu ladini	Doğal	Ağaç**	25	11	4-5	PS
<i>Picea pungens</i> 'Glauca'	Mavi ladin	Egzotik-Kültür	Ağaç**	38	59	4-5	PS
<i>Pinus mugo</i> 'Mughus'	Bodur dağ çamı	Egzotik-Kültür	Bodur Ağaç**	13	2	5-6	PS
<i>Pinus pinea</i> L.	Fıstık çamı	Doğal	Ağaç**	75	59	5-6	PS
<i>Pinus strobus</i> L.	Veymut çamı	Egzotik	Ağaç**	13	1	4-5	PS
<i>Pinus sylvestris</i> L.	Sarıçam	Doğal	Ağaç**	25	2	7-9	PS
<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco	Yeşil duglas göknarı	Egzotik	Ağaç**	13	1	3-5	P
Pittosporaceae							
<i>Pittosporum tobira</i> (Thunb.) W.T.Aiton	Yıldız çalısı	Egzotik	Ağaççık**	38	22	4-6	PN
<i>Pittosporum tobira</i> 'Nana'	Bodur yıldız çalısı	Egzotik-Kültür	Çalı**	25	53	4-6	PN
Plantaginaceae							
<i>Hebe x franciscana</i> 'Variegata'	Yavşan çalısı, veronica çalısı	Egzotik	Çalı**	13	30	3-10	PN
Platanaceae							
<i>Platanus orientalis</i> L.	Doğu çınarı	Doğal	Ağaç*	63	11	3-5	PNS
Podocarpaceae							
<i>Podocarpus macrophyllus</i> (Thunb.) Sweet	Taş porsuğu	Egzotik	Ağaççık**	13	5	4-5	P
Proteaceae							
<i>Grevillea juniperina</i> R.Br.	Grevilya çalısı, çiçekli ardıç	Egzotik	Çalı**	25	6	11-8	PN
Punicaceae							
<i>Punica granatum</i> L.	Nar	Doğal	Ağaççık*	25	13	5-7	PN
Rosaceae							
<i>Chaenomeles japonica</i> (Thunb.) Lindl. ex Spach	Japon ayvası, bahar dalı	Egzotik	Çalı*	38	10	2-6	PN
<i>Cotoneaster dammeri</i> C.K.Schneid.	Herdem yeşil dağ muşmulası	Egzotik	Çalı**	13	200	5-6	PN
<i>Cotoneaster horizontalis</i> Decne.	Yaylıcı dağ muşmulası	Doğal	Çalı*	50	255	5-6	PN
<i>Cotoneaster lacteus</i> W.W.Sm.	Geç dağ muşmulası	Egzotik	Çalı**	13	1	6-7	PN
<i>Cydonia oblonga</i> Miller	Ayva	Doğal	Ağaç*	13	3	5-6	PN
<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Malta eriği,	Egzotik	Ağaç**	38	6	11-01	PN

	yenidünya						
<i>Malus x purpurea</i> 'Eleyii'	Süs elması	Egzotik	Ağaççık*	25	83	4-5	PN
<i>Malus</i> sp.	Elma	Doğal	Ağaç*	13	1	4-6	PNS
<i>Photinia x fraseri</i> 'Red Robin'		Egzotik-					
(<i>Photinia serrulata</i> 'Red Robin')	Alev çalısı	Kültür	Çalı**	25	180	4-6	PN
<i>Prunus avium</i> (L.) L.	Kiraz	Doğal	Ağaç*	25	3	3-5	PN
<i>Prunus cerasifera</i> 'Atropurpurea'	Süs eriği	Doğal-	Ağaççık*	38	62	3-4	PN
		Kültür					
<i>Prunus serrulata</i> 'Kanzan' (<i>Cerasus serrulata</i> var. <i>serrulata</i>)	Süs kirazı	Egzotik-	Ağaççık*	38	69	4-5	PN
		Kültür					
<i>Prunus</i> sp.	Erik	Doğal	Ağaççık*	13	2	3-4	PN
<i>Pyracantha coccinea</i> M. Roem.	Ateş dikenini	Doğal	Çalı**	38	308	4-6	PN
<i>Pyrus calleryana</i> Decne.	Süs armudu	Egzotik	Ağaç*	13	15	3-4	PN
<i>Pyrus</i> sp.	Armut	Doğal	Ağaç*	13	2	3-4	PN
<i>Rosa</i> sp.	Gül	Egzotik-	Çalı*	75	428	4-10	P
		Kültür					
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	Kuş üvezi	Doğal	Ağaç*	13	16	5-6	PN
<i>Spiraea japonica</i> (L.) Desv.	Japon ispiryası	Egzotik	Çalı*	13	70	7-9	PN
<i>Spiraea x vanhouttei</i> (Briot)/Zab.	Keçisakalı	Egzotik	Çalı*	13	1	4-5	PN
Sapindaceae							
<i>Acer campestre</i> L.	Ova akçaağaç	Doğal	Ağaç*	13	5	4-6	PNS
<i>Acer cappadocicum</i> 'Aureum'	Altuni beşparmak akçaağaç	Doğal-	Ağaç*	13	3	4-5	PNS
		Kültür					
<i>Acer negundo</i> L.	Dişbudak yapraklı akçaağaç	Egzotik	Ağaç*	13	1	3-4	PNS
<i>Acer platanoides</i> 'Crimson Sentry'	Çınar yapraklı kırmızı akçaağaç	Doğal-	Ağaç*	13	5	3-5	PN
		Kültür					
<i>Acer platanoides</i> L.	Çınar yapraklı akçaağaç	Doğal	Ağaç*	25	33	3-5	PNS
<i>Acer pseudoplatanus</i> 'Atropurpureum'	Kırmızı yapraklı dağ akçaağacı	Doğal-	Ağaç*	13	2	4-5	PNS
		Kültür					
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	Yalancı çınar yapraklı akçaağaç	Doğal	Ağaç*	13	1	3-4	PNS
<i>Acer saccharinum</i> L.	Gümüşi akçaağaç	Egzotik	Ağaç*	25	1	3-4	PNS
<i>Acer palmatum</i> 'Dissectum'	Japon akçaağacı	Egzotik-	Ağaççık*	13	2	4-5	PN
		Kültür					
<i>Acer saccharum</i> Marshall	Şeker akçaağacı	Egzotik	Ağaç*	25	45	3-4	PNS
<i>Aesculus x carnea</i> Zeyh.	Kırmızı çiçekli atkestanesi	Egzotik	Ağaç*	13	3	4-5	PN
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Atkestanesi	Egzotik	Ağaç*	13	20	4-5	PN
<i>Koelreuteria paniculata</i> Laxm.	Güvey kandili, fener ağacı	Egzotik	Ağaç*	13	3	7-8	PN
Scrophulariaceae							
<i>Buddleja davidii</i> Franch.	Kelebek çalısı	Egzotik	Çalı*	13	80	7-10	PN
Simaroubaceae							
<i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	Kokar ağaç	Egzotik	Ağaç*	38	10	5-6	PS
Tamaricaceae							
<i>Tamarix</i> sp.	İlgün	Doğal	Ağaççık*	13	6	4-8	PN
Taxaceae							
<i>Taxus baccata</i> L.	Porsuk	Doğal	Ağaç**	25	11	4-5	P
Theaceae							
<i>Camellia japonica</i> L.	Japon kamelyası	Egzotik	Çalı**	25	7	11-4	PN
Vitaceae							
<i>Parthenocissus quinquefolia</i> (L.) Planch.	Amerikan sarmaşığı	Egzotik	Sarmaşık*	38	79	5-6	PN

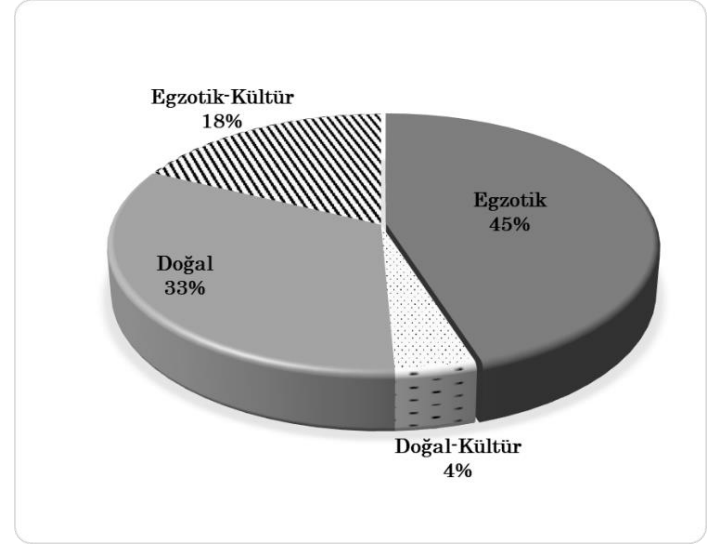
*: yaprak dökken, **: herdem yeşil, P: polen, N: nektar, S: Balçığı, böcek salgısı



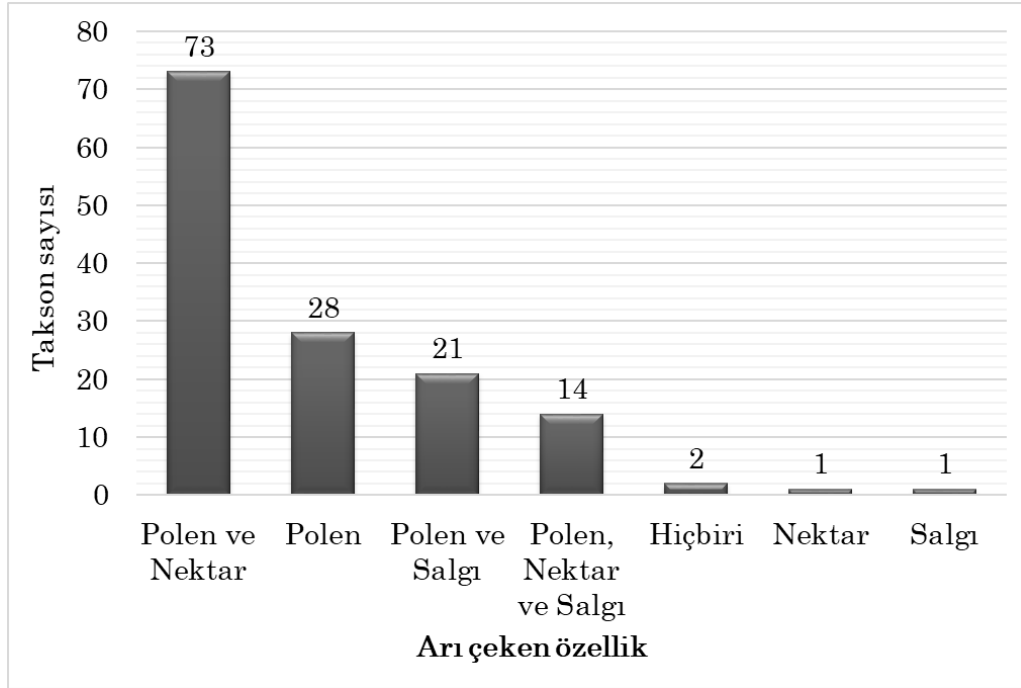
Şekil 2. Takson çeşitliliğinin örnek alanlara göre dağılımı
Figure 2. Distribution of taxa diversity in sample areas



Şekil 3. Taksonların familyalara göre dağılımı
Figure 3. Distribution of taxa according to families



Şekil 4. Taksonların doğal-egzotik olma oranları
Figure 4. The exotic to domestic ratio of the taxa



Şekil 5. Taksonların arı çeken özelliklerine göre sayısal dağılımları
Figure 5. Numerical distribution of taxa according to their bee-attracting attributes

Çalışmada elde edilen verilere göre hem polen hem nektar hem de salgı kaynağı bakımından arıların faydalandığı 14 takson belirlenmiştir: *Acer campestre*, *A. cappadocicum* 'Aureum', *A. negundo*, *A. saccharinum*, *A. saccharum*, *A. platanoides*, *A. pseudoplatanus*, *A. pseudoplatanus* 'Atropurpureum', *Cercis siliquastrum*, *Malus* sp., *Platanus orientalis*, *Robinia pseudoacacia*, *Tilia platyphyllos*, *Tilia tomentosa*.

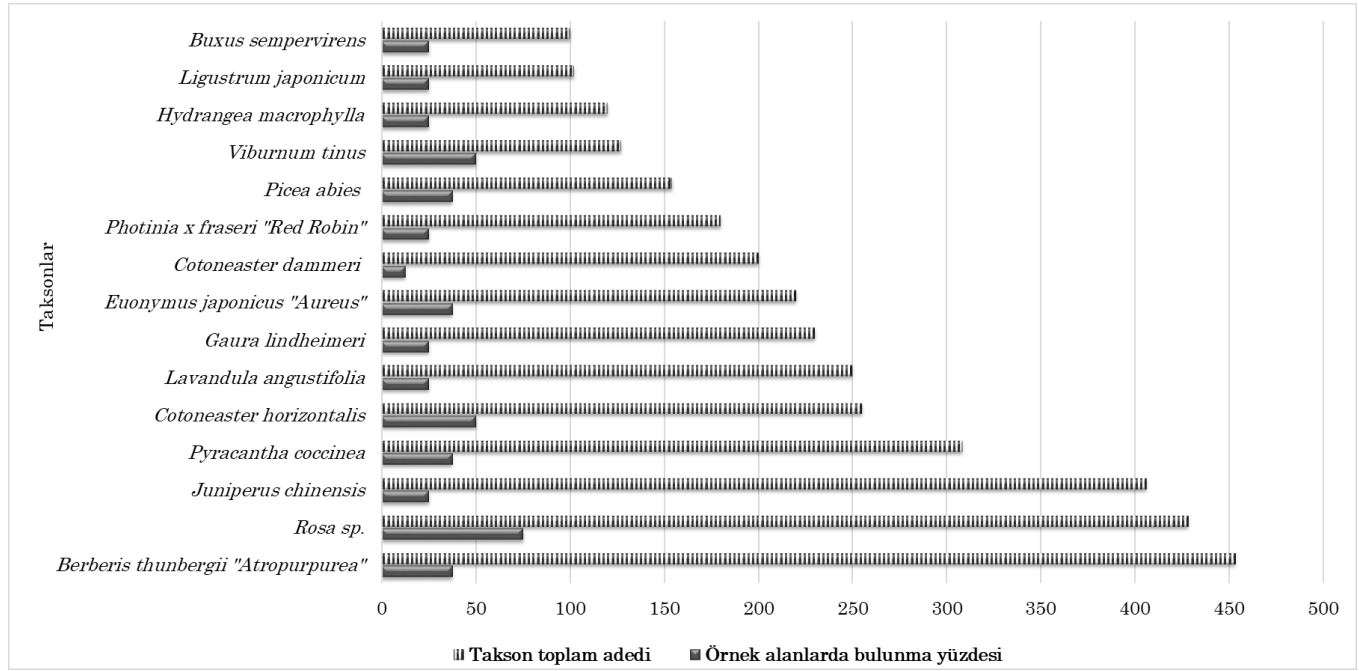
Çalışmada elde edilen verilere göre hem polen hem nektar hem de salgı kaynağı bakımından arıların

faydalandığı 14 takson belirlenmiştir: *Acer campestre*, *A. cappadocicum* 'Aureum', *A. negundo*, *A. saccharinum*, *A. saccharum*, *A. platanoides*, *A. pseudoplatanus*, *A. pseudoplatanus* 'Atropurpureum', *Cercis siliquastrum*, *Malus* sp., *Platanus orientalis*, *Robinia pseudoacacia*, *Tilia platyphyllos*, *Tilia tomentosa*.

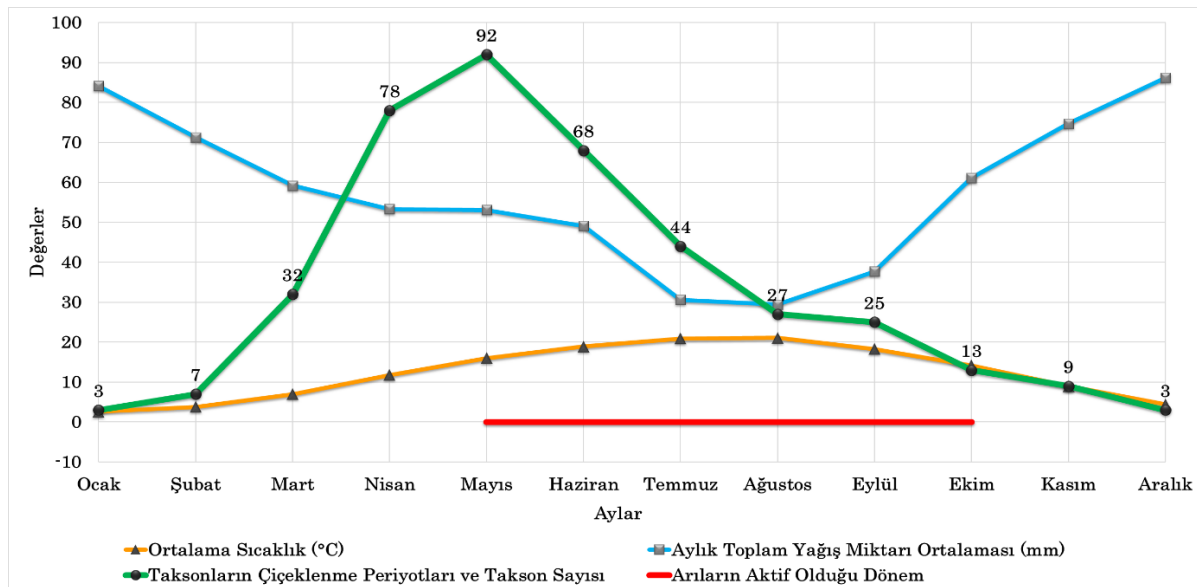
Örnek alanlarda bulunma oranı bakımından 8 alanın 6'sında bulunan (bulunma yüzdesi % 75) taksonlar *Pinus pinea* (59 adet), *Platycladus orientalis* (23) ve *Rosa* sp.'dir (428). Ancak bu taksonların örnek

alanlardaki toplam takson adedi, *Pinus pinea* 59 adet, *Platycladus orientalis* 23 adet ve *Rosa sp.* 428 adet olmak üzere değişiklik göstermektedir. Dolayısıyla örnek alanlarda tespit edilen bitkilerin bulunma yüzdesi ve kullanım adedi bakımından taksonların dağılımına bakıldığında değerler arasında farklılık olduğu görülmektedir (Şekil 6). Arı çekme potansiyeli olan taksonların kullanım adedinin fazla olması ortamda bu bitkilerden faydalanma

olanağını da arttıracaktır. Şekil 6'da görüldüğü üzere örnek alanlarda bulunma sayısı 100 adet ve üzeri olan 15 taksonun çoğu arılar için nektar ve polen kaynağı olabilmektedir. Burada dikkat çekici olan, örnek alanlarda toplam takson sayısı bakımından en fazla olan *Berberis thunbergii* 'Atropurpurea' (toplam 453 adet), peyzaj tasarımlarında her ne kadar çok sayıda kullanılsa da eser miktarda nektar ve polen kaynağı oluşturmaktadır.



Şekil 6. Örnek alanlarda bulunma yüzdesi ve kullanım adedi bakımından taksonların dağılımı
Figure 6. Distribution of taxa in terms of percentage of existence and number of uses in sample areas.



Şekil 7. Taksonların çiçeklenme periyotları, ortalama iklim değerleri ve arıların aktif olduğu dönem arasındaki ilişkiler
Figure 7. Correlation between flowering periods of taxa, average climate values and bee activity

Taksonların çiçeklenme periyotları ile Artvin ili ortalama iklim değerleri arasındaki ilişkiler Şekil 7'de izlenebilmektedir. Karaköse ve ark. (2018)'nın da elde ettikleri benzer sonuçlara göre bitkilerde çiçeklenme en üst seviyeye ulaştığında sıcaklık uygun, yağış ise en az seviyede seyretmektedir. Böylece sıcaklık, yağış ve çiçekli bitkiler arasında doğrudan bir ilişki olduğu görülebilir. Bal arıları 12 – 13 °C'nin altında çalışamazlar (Korkmaz, 2015). Bu durumda elde edilen verilere göre arıların en fazla aktif olduğu dönem Mayıs ile Ekim ayları arasındadır. Ancak Artvin kent merkezinin sahip olduğu mikro iklim etkisi ve yükselti farklılıkları nedeniyle arıların Mart ayından itibaren faaliyete başlamaları söz konusu olabilmektedir.

Şekil 7'de görüldüğü üzere polen, nektar, salgı üreten takson sayısı ile iklim verileri karşılaştırıldığında arıların bitkilerden en fazla yararlandığı ay Mayıs (92 takson) olarak izlenebilmektedir. Mart ve Nisan aylarında arıların faydalanabileceği takson sayısı fazla olmakla birlikte iklim değerleri ortalamalarına göre uygun değer aralıkları dışında kaldığı için grafikteki bu bölümler işaretlenmemiştir. Günlük sıcaklık koşullarının uygun olması halinde faaliyete başlayabilen arıların örnek alanlardaki bitki taksonlarından genel olarak Mart ayı itibarı ile faydalanabilme potansiyeli vardır. Diğer taraftan çiçekli taksonların çiçeklenme dönemleri çevresel etkiler, mikro iklim ve bitki bakım koşulları gibi çeşitli değişkenlerden etkilenerek literatürde belirtilen periyotlardan daha erken veya geç dönemlere sarkabilmektedir.

Çalışma kapsamında tespit edilen bazı peyzaj süs bitkilerinin arı çekme özelliklerine ilişkin değerlendirme ve gözlemler aşağıda özetlenmiştir:

Peyzaj tasarımlarında çok fazla kullanılan akçağaçlar (*Acer* sp.) nektar, polen, balçığı ve propolis kaynağı olarak arıların sıkça ziyaret ettiği ağaçlardır. Genellikle Mart – Mayıs ayları arasında gerçekleşen çiçeklenme dönemi sona erince Mayıs – Haziran aylarında Akçağaç üzerine yaşayan bir afid tarafından salgılanan balçığı arıları kendine çekebilmektedir. Örnek alanlarda 10 adet akçağaç taksonu tespit edilmiştir. Güneş Özkan ve ark. (2016)'nın çalışma alanında yayılış yapan taksonlardan en yüksek nektar verimine sahip olan türler olarak *Tilia tomentosa*, *Robinia pseudoacacia* ve *Acer campestre* gösterilmiştir. Buna göre *Acer campestre* hem Artvin için doğal bir tür olması hem de peyzaj bitkisi olarak kentin çeşitli alanlarında kullanılıyor olmasıyla arılar ve diğer polinatörler için verimli bir kaynak oluşturmaktadır. Ancak araştırma bulgularına göre örnek alanlarda %13'lük bulunma yüzdesi ile Artvin kent peyzajında kullanım sayısı az olan bu doğal türün arı bitkisi olarak değerlendirilerek daha fazla sayıda kullanılması

faydalı olacaktır.

Konifer bitkilerden çamlar (*Pinus* sp.), köknarlar (*Abies* sp.), ladinler (*Picea* sp.), serviler (*Cupressus*), mazılar (*Thuja* sp.) rüzgar ile tozlaştığından arılar bazen az miktarda polen için bu ağaçları ziyaret edebilirler. Özellikle çamlar başta olmak üzere birçok iğne yapraklı cinsten oluşan balçığı nedeniyle arılar salgı balı kaynağı olarak bu ağaçları ziyaret edebilmektedir. Bununla birlikte arılar konifer bitkilerin tomurcuk, reçine, uçucu yağlar ve polenlerinden faydalanabilirler ve az miktarda propolis kaynağı olarak da bu bitkileri ziyaret edebilirler. Çalışma kapsamında 35 konifer taksonun örnek alanlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Süs bitkisi olarak kentlerde çeşitli çam türlerinin kullanılması dolaylı olarak arılara katkı sağlayabilmektedir. Diğer taraftan örnek alanlarda da tespit edilen *Cycas revoluta* (yalancı sagu palmiyesi) ve *Ginkgo biloba* (mabet ağacı), Gymnosperm türler olarak arılara pek çekici gelmesi de çiçeklenme döneminde az miktarda polen kaynağı olarak ziyaret edilebilmektedir.

Bazı çiçekli bitkilerin polen ve nektarları bal arıları için zehirli sınıfa girmektedir. Örneğin Ericaceae, Ranunculaceae, Euphorbiaceae, Solanaceae, Plantaginaceae ve Acanthaceae gibi bazı familyalar içerisinde, toksik özellik taşıyan polen ve nektarları nedeniyle insanlar ve arılar için zararlı bal üretimine neden olan bazı bitki türleri bulunmaktadır (Hassen ve Muche, 2020). İncelenen örnek alanlarda bulunma yüzdesi %13 olan *Arbutus unedo* ve *Hebe x franciscana* 'Variegata' taksonlarından başka bu familyalara ait dikkate değer bir oranda odunsu takson tespit edilmemiştir. Bununla birlikte örnek alanlarda bulunma yüzdesi %63 olan *Nerium oleander*'in (zakkum) güzel kokulu ve gösterişli çiçekleri uzun süreli olsa da, arılar ve kelebekler için zararlıdır ve polen – nektar kaynağı olarak kullanılmazlar. Kentsel peyzajda kullanılan ve toksik özellikleri pek bilinmeyen birçok süs bitkisi bulunmaktadır. Dikkatsiz olunması halinde sadece insan sağlığına değil aynı zamanda birçok hayvan türüne de zarar verme potansiyeli olan bazı taksonlara karşı daha bilinçli olunması ve kentsel alanlarda bitki seçimi ve kullanım miktarlarının uzmanlar tarafından planlanması daha doğru olacaktır.

Tüm Türkiye'de olduğu gibi Artvin kentinde de sık karşılaşılan bir süs bitkisi olan *Rosa* sp. (gül), örnek alanlarda bulunma yüzdesi (%75) ve kullanım adedi bakımından (428 adet) ikinci sırada yer almaktadır. Ancak cazip çiçeklere sahip olsa da arılar için nektardan ziyade sadece polen kaynağıdır. Bununla birlikte Rosaceae familyası içerisinde, özellikle meyve ağaçları (örn; *Prunus* sp., *Malus* sp.) ve bazı çalılar (örn; *Cotoneaster* sp., *Spiraea* sp.) arıların en fazla

ziyaret ettiği bitkilerdir. Örnek alanlarda Rosaceae familyasından 20 odunsu takson tespit edilmiştir ve bu taksonlar buldukları ortamda arılar için iyi birer besin kaynağı sağlamaktadır.

Türkiye'nin birçok kentinde süs bitkisi olarak kullanılan ve çalışma kapsamında da DSİ Çoruh Park'ta tespit edilen *Buddleja davidii* (kelebek çalısı) her ne kadar özellikle kelebekleri kendine çekse de, arılar için eser oranda (< % 3) polen ve nektar kaynağı (Sorkun, 2008) oluşturmaktadır. Benzer şekilde *Lonicera caprifolium* (sarılıcı hanımeli) oldukça güzel kokulu çiçeklere sahip olsa da arılar için eser oranda nektar ve polen kaynağıdır. Diğer taraftan peyzaj tasarımlarında sıkça yer bulmaya başlayan ve örnek alanlarda da %25'lik bulunma yüzdesine sahip olan *Lavandula angustifolia* (lavanta) güzel kokulu çiçekleri ile dikkat çekici bir tıbbi aromatik bitkidir. Arılar bu bitkinin çiçeklerinden, uçucu yağlarından, nektar ve poleninden faydalanmaktadır. Dolayısıyla kentsel ortamlarda tozlaşmayı destekleme potansiyeli olan önemli bir peyzaj bitkisidir.

Örnek alanlarda tespit edilen bazı odunsu taksonların arı çekme özellikleri incelendiğinde, polen ve nektar dışında propolis kaynağı olarak da arıların faydalandığı taksonlar olduğu belirlenmiştir. Örneğin *Liquidambar styraciflua* (Amerikan sığla ağacı) ve *Liriodendron tulipifera* (Amerika lale ağacı), polen ve nektar kaynağı olması yanında arıların propolis için de ziyaret ettiği egzotik ağaçlardır. Çalışma alanlarında 2 taksonu tespit edilen (*Fraxinus americana*, *F. ornus*) *Fraxinus* cinsi (Dişbudaklar) genel olarak polen kaynağı olmakla birlikte aynı zamanda propolis kaynağı olarak da arıların faydalandığı ağaçlardır. Diğer taraftan örnek alanlarda %13'lük bulunma yüzdesine sahip olan *Ficus carica* çiçek oluşturmadığı için arılar tarafından fazla ziyaret edilmez, ancak az miktarda propolis kaynağı olarak kullanılabilir. Benzer şekilde %13'lük bulunma yüzdesi ile örnek alanlarda tespit edilen *Betula alba*, arılar için nektar ve polen kaynağı oluşturmaz, onun yerine sadece Temmuz ayında oluşan salgı – balçığı için ve propolis kaynağı olarak arıların dikkatini çekmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma sonucunda, Artvin kent merkezindeki örnek alanlarda tespit edilen 140 odunsu taksonun gerek kentsel floristik çeşitlilik gerekse de polinasyon açısından önemli bir değere sahip olduğu belirlenmiştir. Kaydedilen taksonlardan 108'inin arıların faydalanabileceği polen, nektar ve salgı ürünlerinden en az ikisini barındırdığı ve çiçeklenme periyodu bakımından 7 aya varan (nispeten mart – eylül arası) bir dönemde arıların faaliyetlerini destekleyen taksonların olduğu tespit edilmiştir. Bu bakımdan kentsel peyzajda kullanılan odunsu

taksonların önemli bir potansiyeli bulunmaktadır.

Bal arılarının beslenmek için kısıtlı mesafelere seyahat ettikleri bilinmektedir. Dolayısıyla doğal alanlardan kentlere, kentlerden de tekrar doğal alanlara bağlantı oluşturan sürdürülebilir yeşil sistemlerin kurgulanması ve bu sistemlerin içerisinde arıların ve diğer polinatörlerin yakın mesafelerde faydalanabileceği tozlayıcı dostu odunsu bitki taksonlarını içeren yeşil alanların tesisi önem arz etmektedir.

Sonuç olarak peyzaj bitkilerinin estetik özelliklerinin yanı sıra arılar ve diğer polinatörlere sağladıkları faydalar açısından da özelliklerinin bilinmesi ve kentsel yeşil alanlarda tozlaşmayı destekleyici uygulamaların ve uygun bitki tercihlerinin yapılması son derece önemlidir. Bu çalışma sonucu elde edilen verilerin polinasyona katkı sağlayacak kentsel peyzaj bitkilendirmeleri için yararlı olacağı 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

- Akkemik Ü 2014a. Türkiye'nin Doğal – Egzotik Ağaçları ve Çalıkları I. Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara, 736 sy.
- Akkemik Ü 2014b. Türkiye'nin Doğal – Egzotik Ağaçları ve Çalıkları II. Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara, 680 sy.
- Albaba I 2015. A List of Important Honeybee Nectariferous and Polleniferous Plant Species in the West Bank Governorates, Palestine. *Journal of Agricultural Science and Technology A* (5): 114-121.
- Anonim 2013. Bal Ormanı Eylem Planı 2013-2017, T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü. <https://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/Yayinlar/Bal%20Orman%C4%B1%20Eylem%20Plan%C4%B1%20%282013-17%29.pdf>
- Anonim 2021a. Ballı Bitkiler. <http://www.aricilikgazetesi.com.tr/aricilik/11-balli-bitkiler-aricilik-gazetesi-turkey-beekeeping-newspaper-guner-kayral.html>. (Alınma tarihi: 28.05.2021).
- Anonim 2021b. Coğrafi Durum, Artvin Valiliği. <http://www.artvin.gov.tr/cografi-durum>. (Alınma tarihi: 24.06.2021).
- Anonim 2021c. TUBİVES, 2021. Turkish Plants Data Service. <http://www.tubives.com/>
- Anonim 2021d. Meteoroloji Genel Müdürlüğü. <https://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve>

- ilceler-istatistik.aspx?k=A&m=ARTVIN. (Alınma tarihi: 18.06.2021).
- Anonymous 2021a. The Plant List. <http://www.theplantlist.org/>
- Anonymous 2021b. Invasive species compendium. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/>
- Anonymous 2021c. Plants for a future, Database. <https://pfaf.org/user/>
- Bağrıaçık N 2017. Polinatör Böcekler ve Küresel Tozlaşma Krizi (Pollinator Insects and Global Pollination Crisis). Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 7(4): 37-41.
- Bahadırlı NP, Gül A 2020. Bal Arısının (*Apis mellifera* L.) Mustafa Kemal Üniversitesi Kampüsünde Bulunan Bazı Bazı Bitkiler Üzerindeki Bitki Tercihi. MKU Tarım Bilimleri Dergisi 25(2): 211-216.
- Calderone NW 2012. Insect Pollinated Crops, Insect Pollinators and US Agriculture: Trend Analysis of Aggregate Data for the Period 1992–2009. PLoS ONE 7(5): e37235.
- Davis PH 1965–1988. Flora of Turkey and East Aegean Islands, Vol. I – XI, Edinburg.
- Deveci M, Cınbirtoğlu Ş, Demirkol G 2015. İlkbahar Dönemi Bitkileri ve Arıcılıkta Polen Kaynağı Bakımından Önemi. Akademik Ziraat Dergisi 4(1): 1-12.
- Eminağaoğlu Ö 2015. Artvin'in Doğal Bitkileri. Promat, İstanbul, 456 sy.
- Sarıkaya E, Sıralı R, Deveci M 2012. Bal Arılarının Bitki Tercihinde Etkili Olan Faktörler. Arıcılık Araştırma Dergisi 7: 32-33.
- Garbuzov M, Ratnieks FLW 2014. Listmania: The Strengths and Weaknesses of Lists of Garden Plants to Help Pollinators. BioScience 64(11): 1019-1026.
- Genç F, Dodoloğlu A 2011. Arıcılığın Temel Esasları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Yayın No: 931-341-88, Erzurum, 386 sy.
- Geslin B, Oddie M, Folschweiller M, Legras G, Seymour CL, Van-Veen FJF, Thébault E 2016. Spatiotemporal Changes Inflying Insect Abundance and their Functional Diversity as a Function of Distance to Natural Habitats in a Mass Flowering Crop. Agric Ecosyst Environ 229: 21–29.
- Güler Y 2016. Polinatör Arı Popülasyonlarının Desteklenmesinde Süs Bitkilerinin Rolü. VI. Süs Bitkileri Kongresi, Tam Metin Bildirileri Kitabı, 19 – 22 Nisan 2016, Antalya, 122-128.
- Güneş Özkan N, Aksoy N, Değermenci AS 2016. Hasanlar Barajı (Düzce-Yığılca) ve Çevresinin Ballı Bitkileri. Ormançılık Dergisi 12(2): 44-65.
- Hassen A, Muche M 2020. Preliminary Survey of Poisonous, Useful and Medicinal Bee Plants in Ethiopia: Review. Bulletin of Pure and Applied Sciences 39B(2): 106-121.
- Johannsmeier MF 2016. Beeplants of South Africa. Sources of Nectar, Pollen, Honeydew and Propolis for Honeybees. Strelitzia 37. South African National Biodiversity Institute, Pretoria, 550 pp.
- Karaca A 2008. Aydın Yöresinde Bal Arılarının (*Apis mellifera* L.) Yararlanabileceği Bitkiler ve Bazı Özellikleri. ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 5(2): 39-66.
- Karaca A, Kösoğlu, Boz Ö 2006. Aydın ili Çine-Karpuzlu Yöresinde Bal Arılarının (*Apis mellifera* L.) Nektar ve Poleninden Faydalanabileceği Bitkiler. ADÜ Ziraat Fak Dergisi 3(1): 21-26.
- Karaköse M, Polat R, Rahman M, Çakılcıoğlu U 2018. Traditional Honey Production and Bee Flora of Espiye, Turkey. Bangladesh J Plant Taxon 25(1): 79-91.
- Karavaş B, Sarı D 2018. Kent Kimliğinde Etkili Bir Bileşen: Doğal Bitkiler. International Social Sciences Studies Journal. 4(26): 5539-5545.
- Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T 2007. Importance of Pollinators in Changing Landscapes for World Crops. Proc R Soc B Biol Sci 274: 303–313.
- Korkmaz A 2013. Anlaşılabilir Arıcılık. Samsun Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü Yayını, Samsun, 330 sy.
- Korkmaz A 2015. Bal Arısı Polinasyonu, Samsun Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü Yayını, Samsun, 72 sy.
- Özbek H 2003. Türkiye'de arılar ve tozlaşma sorunu. Uludağ Arıcılık Dergisi 3: 41-44.
- Özdemir A, Ulus A 2018. Kent Ekolojisine Farklı Bir Yaklaşım: Tozlaşma Bahçeleri. Inonu University Journal of Art and Design 8(18): 17-28.
- Öztürk F, Erkan C, Ölçücü C, Çiriğ N, Özok N, Ögün E 2017. Van İli Peyzaj Bitkilerinin Arıcılık Açısından Değerlendirilmesi. YYÜ Tar Bil Derg 27(4): 601-607.
- Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE 2010. Global Pollinator Declines: Trends, Impacts and Drivers. Trends in Ecology and Evolution 25: 345–353.
- Sarı D, Karavaş B. 2020. Future Adaptability of Urban Trees due to the Effects of Climate Change: the Case of Artvin, Turkey. Journal of Environmental Science and Management 23(1): 60-70.
- Sıralı R, Deveci M 2002. Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) İçin Önemli Olan Bitkilerin Trakya Bölgesinde İncelenmesi. Uludağ Arıcılık Dergisi 2(1): 17-26.
- Sorkun K 2008. Türkiye'nin Nektarlı Bitkileri, Polenleri ve Balları. Palme yayıncılık, Ankara 341 sy.
- Sorkun K, Doğan C 1994. Nektarlı Bitkilerin Çiçeklenme Dönemleri ve Yayılı Alanları Üzerine Bir Çalıma. Teknik Arıcılık 44: 2-11.

Stellaria kotschyana (Caryophyllaceae) Taksonomisine Katkılar ve Yeni Bir Sinonim

Lütfi BEHÇET¹, Yakup YAPAR²

^{1,2}Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bingöl, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-8334-7816>, ²<https://orcid.org/0000-0002-5298-0085>

✉: yyapar25@gmail.com

ÖZET

Jany Renz tarafından 1951 yılı Temmuz ayında Bitlis-Tatvan arasındaki bozkırlarda, 1700-1900 metreler arasından bazı *Stellaria kotschyana* örnekleri toplandı. Ancak henüz çiçekli olan bu örnekler olgun kapsül taşımadığı ve kök kısımları bulunmadığı için Renz tarafından tek yıllık olarak kabul edilerek hatalı bir değerlendirme sonucu *Lepyrodiclis holosteoides* olarak teşhis edilmiştir. *Stellaria* cinsine ait olmasına karşın, *L. holosteoides* olarak teşhis edilen bu örnekler (iki dublet) Cenevre Herbaryumunda muhafaza altına alınmıştır. Daha sonra, cins düzeyinde yanlış teşhis edilen bu örnekler sahip oldukları taksonomik karakterler bakımından *Lepyrodiclis* cinsine benzememelerine rağmen, bu cinse ait oldukları kabul edilerek bilim dünyası için yeni bir tür olarak yayınlanmıştır. Mart 2021 tarihinde basılan bu yeni tür yayında, sadece Renz'in Bitlis'ten topladığı çiçekli örneklerden yararlanılmıştır. Oysaki Türkiye'de yetiştiği için meyveli ve köklü örnekler toplanabilir ve doğru cins teşhisi yapılabilirdi. Söz konusu yayında tanıtılan *L. alinihatii*'ye ait betimleme ve resimlerinin tamamı *S. kotschyana* ile birebir aynıdır. Bu çalışmada *L. alinihatii* olarak yayınlanan türün *S. kotschyana*'nın sinonimi olduğu; orijinal yayınlar, floralardaki tanımlar, arazi gözlemleri ve herbaryum örnekleri gözden geçirilerek ortaya konmuştur. Ayrıca *S. kotschyana*'nın taksonomik bazı özellikleri ve yeni yayılış alanları üzerinde de durulmuştur.

Botanik

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 24.08.2021

Kabul Tarihi : 05.11.2021

Anahtar Kelimeler

Sinonim

Stellaria kotschyana

Lepyrodiclis alinihatii

Taksonomi

Contributions to the Taxonomy of *Stellaria kotschyana* (Caryophyllaceae) and a New Synonym for This Species

ABSTRACT

Some *Stellaria kotschyana* samples were collected by Jany Renz in July 1951 in the steppes between Bitlis and Tatvan, between 1700-1900 meters. However, these specimens, which are still flowering, do not bear mature capsules and do not have root parts, so they were accepted as annuals by Renz and were identified as *Lepyrodiclis holosteoides* as a result of an erroneous evaluation. Although belonging to the genus *Stellaria*, these specimens (two doublets) identified as *L. holosteoides* were kept in the Geneva Herbarium. Later, although these specimens, which were misdiagnosed at the genus level, did not resemble *Lepyrodiclis* in terms of their taxonomic characters, they were accepted as belonging to this genus and published as a new species for the scientific world. In this new species publication, published very recently (March 2021), only the flowering specimens Renz collected from Bitlis were used. However, since it was grown in Turkey, fruity and rooted specimens could be collected and the correct genus diagnosis could be made. All of the descriptions and pictures of *L. alinihatii* introduced in the aforementioned publication are exactly the same as *S. kotschyana*. The species published as *L. alinihatii* in this study is a synonym for *S. kotschyana*; Original publications, descriptions of flora, field observations and herbarium specimens were reviewed. In addition, some taxonomic features and new distribution areas of *S. kotschyana* were emphasized.

Botany

Research Article

Article History

Received : 24.08.2021

Accepted : 05.11.2021

Keywords

Synonym

Stellaria kotschyana

Lepyrodiclis alinihatii

Taxonomy

Atıf Şekli: Behçet L, Yapar Y 2022. *Stellaria kotschyana* (Caryophyllaceae) taksonomisine katkılar ve yeni bir sinonim. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 999-1006. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.986692>

To Cite : Behçet L, Yapar Y 2022. Contributions to the taxonomy of *Stellaria kotschyana* (Caryophyllaceae) and a new synonym for this species. Manuscript Title. KSU J. Agric Nat 25 (5): 999-1006. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.986692>

GİRİŞ

Ülke veya bölge floraları ile ilgili yayınlarda verilen herhangi bir kategori (familya, cins, tür, tür altı gibi) üyesinin özellikleri; bütün iyi niyet ve gayretlere rağmen bazen hatalı yorumlanıp yayımlanabilmektedir. Bunun sonucu olarak da bitki örneklerinin tanım ve teşhislerinde problemler ortaya çıkmaktadır.

Özellikle bazı familyalara ait cinsleri ayırmada kullanılan toprak altı kısımlarının (kök özellikleri, toprak altı gövde yapıları gibi) toplanan örneklerde yer almayışı veya eksik yer alması, olgunlaşmamış çiçek ve meyve özellikleri gibi eksik materyal ile hatalı teşhis yapılması yanlış değerlendirmelerin en önemli sebeplerindedir.

Apiaceae, Caryophyllaceae gibi bazı familyalara ait örnekleri, olgun meyve bulunmadan ayırt etmek ve doğru teşhis yapmak çok zordur. Çünkü kanatlı meyve yapısına sahip bir Apiaceae üyesinin genç dönemdeki meyvelerinde kanat gelişmediğinden bu haldeki meyveyi damarlı veya kanatsız meyve olarak kabul edip teşhise çalışan kişi; bu örnekleri ilgisiz bir gruba, cinse dahil ederek hatalı değerlendirmeler yapabilmektedir (Davis, 1972). Benzer bir durum bazı Caryophyllaceae cinsleri için de geçerlidir. Bazı Caryophyllaceae cinslerinin ayırımında olgun kapsülün kaç dişle açıldığı son derece önemlidir. Genç kapsüllerin uçta kaç dişle açıldığı anlaşılabilir. Örneğin 3 stilusa sahip *Minuartia* L. cinsi üyelerinde olgun kapsüller 3 dişle açılırken; yine 3 stiluslu *Arenaria* L. ve *Eremogone* Fenzl üyelerinde kapsüller 6 dişle açılır. Genel görünüşleri ile birbirine benzetilen bu cinslerin özellikle bazı üyeleri olgun meyve olmadığı durumlarda cins düzeyinde bile rahatlıkla hatalı değerlendirmelere yol açmaktadır (Davis, 1967). Benzer şekilde Caryophyllaceae familyasına ait *Stellaria* L. cins üyelerini *Lepyrodiclis* Fenzl cinsi üyelerinden ayıran en önemli özellik olgun kapsülün diş sayısıdır. *Stellaria* türlerinde olgun kapsül 4 dişle açılırken, *Lepyrodiclis* türlerinde olgun kapsül 2 dişle açılır (Coode, 1967; Cullen, 1967). Olgun kapsülün olmaması durumunda, bu iki cinse ait örneklerin cins ve tür düzeyinde teşhisi oldukça zordur.

Bu çalışmada Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Türkiye Florası) adlı eserin 2. cildinde yer alan *Stellaria kotschyana* Fenzl türünün tanımı diğer ülke floralarındaki tanımlarla karşılaştırılmıştır (Coode, 1967; Cullen, 1967; Rechinger, 1988; Schischkin, 1936; Ghanzafar ve Nasir, 2011; Ghazanfar ve Edmondson, 2016). Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinin farklı coğrafyalarından toplanan

örneklerin yapısal özellikleri dikkate alınarak, Türkiye Florasında yer alan *S. kotschyana* tanımındaki eksiklikler giderilmiş ve mevcut hatalar düzeltilmiştir. Diğer taraftan Jany Renz (25 Haziran 1907-10 Ağustos 1999) tarafından Bitlis-Tatvan arasından toplanan, ancak olgun kapsülü olmadığı için hatalı bir şekilde *Lepyrodiclis holosteooides* (C.A.Mey.) Fenzl ex Fisch. & C.A.Mey. olarak teşhis edilen Cenevre Herbaryumu (G) örneklerinin *S. kotschyana* türüne ait olduğu üzerinde durulmuştur. Ayrıca Renz tarafından Bitlis'ten toplanan örneklerin gerçekte *S. kotschyana*'ya ait çiçekli bireyler olduğu ve bu örneklerle dayanılarak tanımlanan *Lepyrodiclis alinihatii* Menemen, Yalçınkaya & Erden türünün *S. kotschyana* altında sinonim olduğu orijinal yayınlar, floralardaki tanımlar, arazi gözlemleri ve herbaryum örnekleri gözden geçirilerek karşılaştırmalı olarak sunulmuştur (Altıok ve Behçet 2005; Davis, 1967; Coode, 1967; Cullen, 1967; Ghanzafar ve Nasir, 2011; Ghazanfar ve Edmondson, 2016; Menemen ve ark., 2021; Rechinger, 1988; Rüstemoğlu ve Behçet, 2015; Schischkin, 1936; Yapar ve Behçet, 2018).

MATERYAL ve METOD

Çalışmanın materyalini 2008-2020 yılları arasında Bingöl, Bitlis, Elazığ ve Şırnak illerinden toplanan *Stellaria kotschyana* türüne ait herbaryum örnekleri ve *Lepyrodiclis alinihatii* türüne ait ilgili literatür ve resimler oluşturmaktadır (Altıok ve Behçet 2005; Davis, 1967; Coode, 1967; Cullen, 1967; Ghanzafar ve Nasir, 2011; Ghazanfar ve Edmondson, 2016; Menemen ve ark., 2021; Rechinger, 1988; Rüstemoğlu ve Behçet, 2015; Schischkin, 1936; Yapar ve Behçet, 2018). Yazarlar tarafından toplanan örnekler Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi (Bingöl Üniv. Herb.) herbaryumunda muhafaza edilmektedir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Renz tarafından 1951 yılında Bitlis-Tatvan arasında bozkır habitatından toplanan çiçekli örnekler, olgun kapsül ve kök yapısı olmadığı için hatalı bir değerlendirme sonucu *Lepyrodiclis holosteooides* olarak teşhis edilmiştir. Oysaki *Stellaria* ve *Lepyrodiclis* cinslerinde olgun kapsülde açılan diş sayısı ayırt edici karakterdir. *L. alinihatii* türünün dayandırıldığı Renz örneği (G00446762) incelendiğinde, gövde sürgünlerinin kökten koptuğu ve kapsülün henüz açılmayacak kadar genç olduğu göze çarpmaktadır (Menemen ve ark., 2021). Bu çiçekli ve kök kısmı olmayan örnekler Renz tarafından tek yıllık olarak kabul edilmiş ve yanlış

değerlendirme ile *L. holosteoides* olarak teşhis edilmiştir.

Stellaria kotschyana türünün Türkiye Florasında yer alan tanımında bu türün hayat formunun tek veya çok yıllık da olabildiği belirtilmektedir. Halbuki *S. kotschyana*'nın, yayılışının olduğu diğer ülke

floralarında (Rechinger, 1988; Schischkin, 1936; Ghanzafar ve Nasir, 2011; Ghazanfar ve Edmondson, 2016) verilen tanımlarında; türün; çok derinde, odunsu ve güçlü köklerinin bulunduğu belirtilmektedir (Çizelge 1).

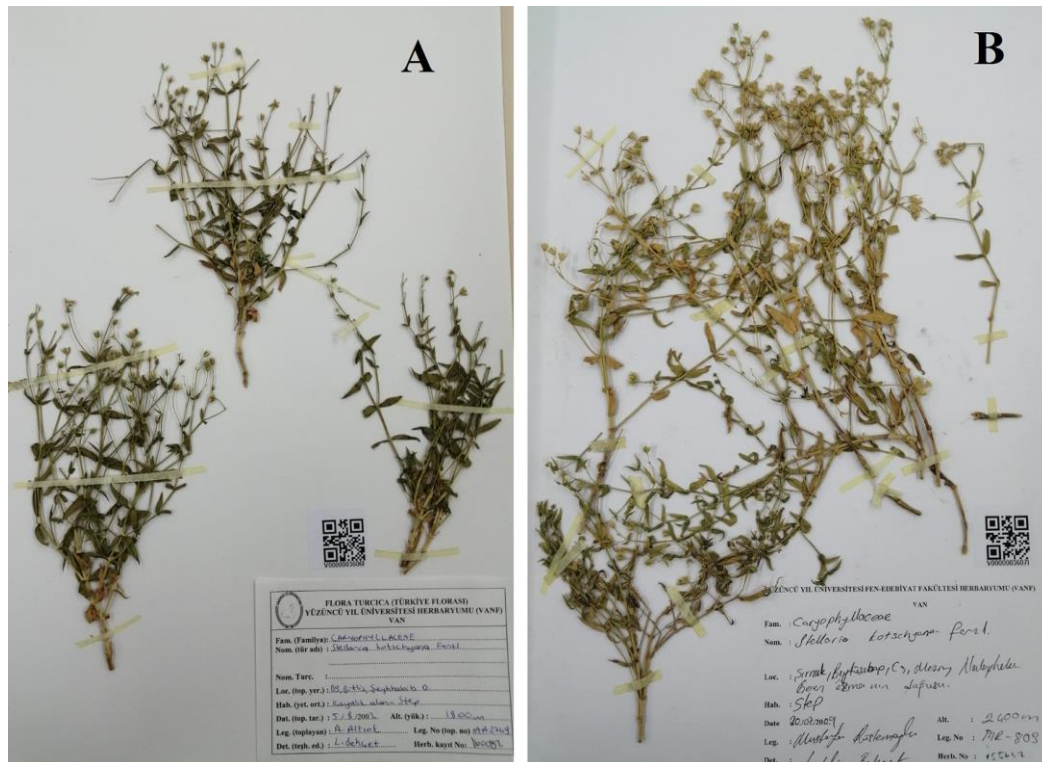
Çizelge 1. *Stellaria kotschyana* türünün farklı ülke floralarında verilen tanımları ve incelenen herbaryum örneklerinde tespit edilen yaşam süresi ve kök özellikleri

Table 1. Descriptions of *Stellaria kotschyana* species in different country flora and life expectancy and root characteristics detected in herbarium samples examined

Karakterler Characters	Türkiye (Coode, 1967)	Rusya (Schischkin, 1936)	İran (Rechinger, 1988)	Irak (Ghazanfar ve Edmondson, 2016)	Pakistan (Ghazanfar ve Nasir, 2011)	İncelenen herbaryum örnekleri
Yaşam süresi Duration	Tek yıllık ve çok yıllık	Çok yıllık	Çok yıllık	Çok yıllık	Çok yıllık	Çok yıllık
Kök (Root)	-----	Oldukça güçlü ve derinde	Kök derinde	-----	-----	Oldukça güçlü ve derinde

İncelenen herbaryum örnekleri (Şekil 1) ve Türkiye'nin doğusundaki değişik adreslerden (Şırnak, Elazığ, Bingöl ve Bitlis) yapılan arazi incelemelerine (Şekil 2,3,4,5) göre; *S. kotschyana* örnekleri çok yıllık ve oldukça güçlü bir kök yapısına sahiptir. 1951 yılında Bitlis-Tatvan arasından toplanan köksüz ve henüz çiçekte olan (olgun meyve yok) eksik *Stellaria kotschyana* örnekleri, Renz tarafından *Lepyrodiclis holosteoides* olarak yanlış cinse ait bir tür olarak teşhis edilmiştir. G herbaryumunda muhafaza edilen

söz konusu örnekler 70 yıl sonra incelenmiş ve örnek etiketinde yazan cins adı doğru kabul edilerek *Lepyrodiclis alinihatii* şeklinde yeni bir tür olarak tanımlanmıştır (Menemen ve ark., 2021). *L. alinihatii*'nin orijinal yayınında verilen tanımlama ve resimler incelendiğinde, "tek yıllık" özelliği ve kapsülün "iki diş" ile açılması haricinde diğer tüm özelliklerin *S. kotschyana* ile aynı olduğu görülmektedir (Çizelge 2).

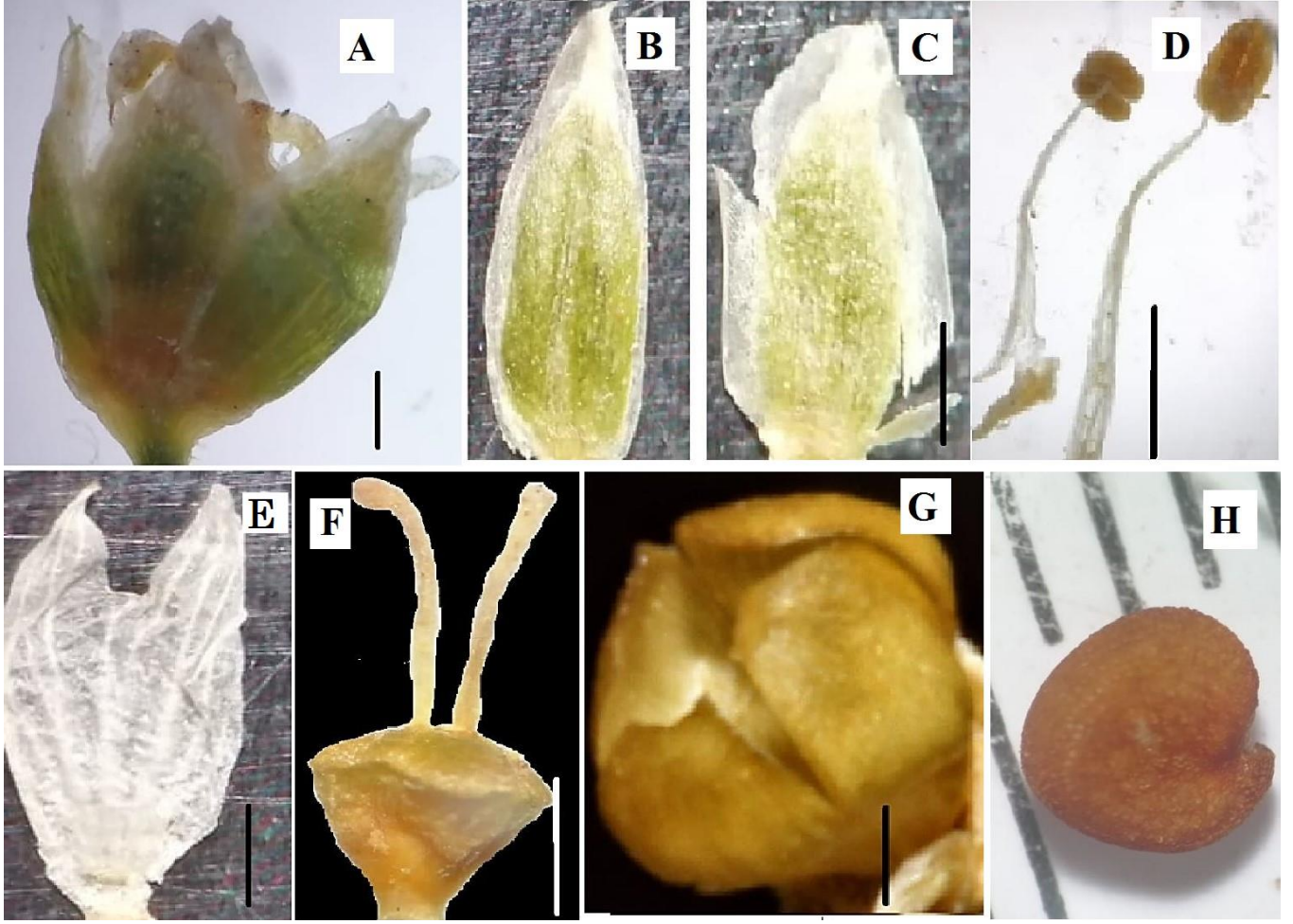


Şekil 1. A-*Stellaria kotschyana* (Bitlis'ten (Türkiye) toplanmış örnekler; VANF, V0000003606I!), C-*Stellaria kotschyana* (Şırnak'tan (Türkiye) toplanmış örnekler; VANF, V0000003607I!)

Figure 1. A-*Stellaria kotschyana* (samples collected from Bitlis (Turkey); VANF, V0000003606I!), C-*Stellaria kotschyana* (samples collected from Şırnak (Turkey), VANF, V0000003607I!)



Şekil 2. *Stellaria kotschyana* A. genel görünüş (Bingöl Üniversitesi Herbariumu 9807!), B. çiçek C. ovaryum, D. Kapsül
Figure 2. *Stellaria kotschyana* A. general view (Bingol University Herbarium 9807!), B. flower C. ovary, D. Capsule



Şekil 3. *Stellaria kotschyana* A- çiçek, B- dış sepal, C- iç sepal D- petal, E- stamen, F- ovaryum, G- kapsül, H-tohum (ölçek: 1 mm) (VANF, V0000003606I!; Bingöl Üniversitesi Herbariumu 9807!, 9809!.)
Figure 3. *Stellaria kotschyana* A- flower, B- outer sepal, C- inner sepal D- petal, E- stamen, F- ovary, G- capsule H-seed(scale: 1 mm) (VANF, V0000003606I!, Bingol University Herbarium 9807!, 9809!)



Şekil 4. *Stellaria kotschyana*'nın kök-gövde bağlantı bölgesinin görünümü (L. BEHÇET tarafından çekilmiştir)
Figure 4. View of the root-stem attachment area of *Stellaria kotschyana* (by L. BEHÇET)



Şekil 5. *Stellaria kotschyana*'nın kök ve gövdeli görüntüsü (Bingöl Üniversitesi Herbariyumu 9810!)
Figure 5. Root and stem view of *Stellaria kotschyana* (Bingöl University Herbarium 9810!)

Çizelge 2. *Stellaria kotschyana* ile *Lepyrodiclis alinihatii*'nin morfolojik yapı özelliklerinin karşılaştırılması
Table 2. Comparison of morphological structural features of *Stellaria kotschyana* and *Lepyrodiclis alinihatii*

Karakterler (<i>Characters</i>)	<i>Stellaria kotschyana</i>	<i>Lepyrodiclis alinihatii</i>
Yaşam süresi (<i>Duration</i>)	çok yıllık	çok yıllık olmasına karşın, örnekte kök olmadığından tek yıllık olarak değerlendirilmiş
Gövde duruşu ve dallanması <i>Stem and branching</i>	dik, üstten dallanmış	dik, üstten dallanmış
Yaprak boyutları <i>Leaf sizes</i>	10–40 × 4–7(–10) mm	5–30 × 2–7 mm
Pedisel boyu ve tüy durumu <i>Pedicel length and indumentum</i>	1–16 mm, tüysüz	3–10 mm, tüysüz
Sepal boyutları, tüy durumu ve yapısı <i>Sepal sizes, indumentum and structure</i>	(2–)3–6 × 2–3 mm, tüysüz, kenarları 0.3–0.5 mm zarımsı	3.0–4.2 × 2.5–3.5 mm, tüysüz, kenarları 0.4–0.7 mm zarımsı
Petal boyutları <i>Petal sizes</i>	3–6 × 1.5–2.7 mm, uçta 2 loblu	3.5–4.5 × 1.8–2.9 mm, uçta girintiliden 2 lobluya kadar değişir
Stilus sayısı (<i>Style number</i>)	2–3	2–3
Ovaryum boyut, yapı ve tüy durumu <i>Ovary size, structure and indumentum</i>	1.0–1.5 × 1.0–1.2 mm, 1-odacıklı, 4 ovüllü, tüysüz	1.0–1.2 × 0.7–0.9 mm, 1-odacıklı, 4 ovüllü, tüysüz
Kapsül boyutları, diş sayısı <i>Capsule sizes and teeth number</i>	3–4 × 3–3.5 mm, 4 dişle açılır	tanımın dayandırıldığı örnekte olgun kapsül olmadığından boyutları verilememiş ve bu olgunlaşmamış yapı kapsül olarak kabul edilip “iki valf” ile açılır diye belirtilmiştir
Bir kapsüldeki tohum sayısı <i>Number of seeds in a capsule</i>	genelde 1(–2) adet, ovül sayısı 4	olgun kapsül olmadığından tohum sayısı belirtilmemiş, ovül sayısı 4
Tohum boyutları, şekli ve yüzeyi <i>Seed sizes and surface</i>	2.5–3 × 2.3–2.5(–3) mm, yuvarlağımsı, tüberkülat	olgun kapsül olmadığından tohum boyutları, şekli ve yüzeyi belirtilmemiş

Öte yandan; yeni türe temel oluşturan *Renz* örneğinde kök ve olgun meyve bulunmadığından bitkinin yaşam süresinin “tek yıllık” ve kapsülün “iki diş” ile açıldığını (bkz. Menemen ve ark., 2021: Şekil 1 ve 2) anlamak imkansızdır. Gerek Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde (Bitlis, Şırnak, Elazığ, Bingöl) gerçekleştirilen botanik gezileri esnasında yapılan gözlemler; *S. kotschyana* türünün kök yapısının çok derinde, güçlü ve odunsu bir yapıda. Ayrıca, muhtemelen *Renz* tarafından toplanan örneklerle aynı adres olan “Bitlis Çayı Vadisi Florası” çalışmasında (Altıok ve Behçet 2005) toplanan ve VANF herbaryumunda muhafaza edilen *S. kotschyana* detaylı olarak yeniden incelendi. Söz konusu örneklerin *Renz* tarafından toplanan, ancak kök yapısı ve olgun meyvesi olmadığından yanlışlıkla *Lepyrodiclis holosteoides* olarak teşhis edilen örneklerle aynı olduğu; ilgili çalışma da incelenerek (Menemen ve ark. 2021) belirlendi (Şekil 1, 2 ve 3).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Taksonomik işlem

Stellaria kotschyana Fenzl ex Boiss., Fl. Or. 1:705. 1867. Aitch., in J.L.S. Hot. 18.38.1880; Burkill, Work. List Pl. Baluch. 12. 1908; Schischkin in Kom., Fl. URSS. 6: 422. 1936; Mizushima in Kitam., Fl. Afghan. 117. 1960; in Ft. Pl. W. Pak. & Kashm. 53. 1964; McNeill in Notes R. B. Garden, Edinb. 32(3):392. 1973.

= ***Lepyrodiclis alinihatii*** Menemen, Yalçınkaya & Erden, Turkey, Kleinasien [Anatolia], Bitlis to Tatvan, 1700–1900 m a.s.l., 5 Jul 1951, *Renz* s.n. (holotype: G00446762; isotype: ADO [small parts removed from the holotype]) **yeni sin. / syn. nov.**

Tanım: Çok yıllık; **kök** oldukça güçlü ve derinde. **Gövde** kökten çok sayıda gövde gelişir, (20–)30–70 cm uzunluğunda, dik duruşlu, köke bağlandığı kısım çok kırılğan, gövdelerin toprağa gömülü kısımlarında düğümlerde yassı pullar bulunur, enine kesitte toprak seviyesindeki kısımlar genelde yuvarlağımsı, üste doğru çizgili veya hafifçe 4 köşeli, düğümler kalınlaşmış, üstte oldukça dallanmış, kısa kıvrıkcık tüylü yada tüysüz. **Yapraklar** sapsız, mızraksı, ucu sivri, 1-damarlı, 10–40 × 4–7(–10) mm, gençken yayvan, geç dönemde aşağıya doğru sarkar. **Çiçekdurumu** panikulat, nadiren çiçekler uçtaki kimozlarda, çok çiçekli. **Bırakte** 1.5–2.5 mm uzunluğunda kenarları zarımsı. **Pedisel** 1–16 mm uzunluğunda tüysüz. **Sepaller** (2–)3–6 × 2–3 mm, tüysüz, kenarları 0.3–0.5 mm zarımsı, uçları sivri. **Sitamem** 10 adet, filamentler 2.5–3 mm uzunluğunda ve tüysüz. **Petaller** 3–6 × 1.7–3 mm, uçta 2 loblu. **Ovaryum** 1.0–1.5 × 1.0–1.2 mm, 1-odacıklı, 4 ovüllü, tüysüz. **Meyve** kapsül, 3–4 × 3–3.5 mm, 4 dişle açılır. **Tohum** genelde 1–(2) adet, 2.7–3 × 2.3–2.5(–3) mm, yuvarlağımsı, yüzeyi kabarcıklı.

olduğunu göstermektedir (Şekil 2, 4, 5). Ancak türün gövdeleri kökle bağlantı kısımlarında oldukça kırılğan olması ve odunsu kökün oldukça derinde bulunması dolayısı ile, örnek toplama sırasında gövdeler kök kısmına ulaşılmadan kolaylıkla kopmuş olduğu Menemen ve arkadaşlarının çalışmasındaki şekil 1’den de anlaşılmaktadır (bkz. Menemen ve ark., 2021).

Yapılan arazi çalışmaları ile toplanan örnekler ve literetüre dayalı yapılan değerlendirmeler sonucunda *Lepyrodiclis alinihatii* olarak tanımlanan örneklerin *Stellaria kotschyana* türüne ait olduğu ve *L. alinihatii* türünün *S. kotschyana* türü altında sinonim olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca Türkiye florasında verilen *S. kotschyana* tür tanımının eksik ve yetersiz olduğu dikkate alınarak, türün tanımı güncellenmiştir.

İncelenen örnekler

Bitlis: Şeyhhabib dağı, kayalık alan, 1800 m, 05.08.2002, A.Altıok 1799b, (VANF!, V0000003606I); **Şırnak:** Beytüssebab, Mezra, Asmana tepeleri, doğusu, step, 2400 m, 20.07.2019, M.Rüstemoğlu 803 (VANF!, V0000003607I); **Bingöl:** Şaban köyü güneyi, yayla, step, 2240 m, 18.07.2018, L.Behçet & Y.Yapar 15895 (Bingöl Üniversitesi Herbaryumu 9813!); Şaban köyü ve Ortaköy güneyi, 2 km, step yamaçlar, 2110 m, 12.06.2019, L.Behçet & Y.Yapar 16569 (Bingöl Üniversitesi Herbaryumu 9814!); Yelesen köyü batısı, güneye bakan step yamaçlar, 2350 m, 28.06.2019, L.Behçet & Y.Yapar 17115 (Bingöl Üniversitesi Herbaryumu 7527!); Yelesen köyü güneyi, Yelesen yaylası, güneyi, kayalık, 2200–2300 m, 19.07.2019, L.Behçet & Y.Yapar 17553 (Bingöl Üniversitesi Herbaryumu 9812!); Karababa tepesi, step, 2137 m, 03.07.2015, Y.Yapar 1433 (Bingöl Üniversitesi Herbaryumu 9811!); Aşağıköy girişi, kayalık yamaçlar, 1450 m, 12.06.2021, L.Behçet & Y.Yapar 19465 (Bingöl Üniversitesi Herbaryumu 9810!); **Elazığ:** Arıcak ilçesi, Cubar yaylası güneybatısı, kayalık yamaçlar, 2054 m, 06.07.2019, Y.Yapar 4263 (Bingöl Üniversitesi Herbaryumu 9807!); Arıcak ilçesi, Afir yaylası çevresi, kayalık yamaçlar, 1915 m, 09.08.2017, Y.Yapar 3309 (Bingöl Üniversitesi Herbaryumu 9809!)

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

- Altıok A, Behçet L 2005. The flora of Bitlis river valley. Turkish Journal of Botany 29(5): 355-387.
- Coode MJE 1966. *Stellaria* L. –In: Davis PH (ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 2. Edinb. Univ. Press, pp. 69–72.
- Cullen J 1967. *Lepyrodiclis* Fenzl. –In: Davis PH (ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 2. Edinb. Univ. Press, pp. 67–68.
- Davis PH 1967. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 2. Edinb. Univ. Press, pp. 15- 67.
- Davis PH 1972. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 4. Edinb. Univ. Press, pp. 265-280.
- Ghazanfar SA, Nasir YJ 2011. *Stellaria* L. –In: Flora of Pakistan. Available from: <http://legacy.tropicos.org/Name/40004952?projectid=32> (last accessed march 2021).
- Ghazanfar SA, Edmondson JR 2016. *Stellaria* L. –In: Flora of Iraq, Vol. 5, part 1, Ministry of Agriculture, Iraq & The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 25-26.
- Menemen Y, Yalçinkaya R, Erden A 2021. *Lepyrodiclis alinihatii* (Caryophyllaceae), a new species from Turkey. Nordic Journal of Botany 39(3): 1-8.
- Rechinger KH 1988. *Mesostemma* Vved. – In: Rechinger KH (ed.), Flora Iranica Cont. Vol. 163. Akademik Druck. U, pp. 76–84.
- Rüstemoğlu M, Behçet L 2015. Mezraa Beldesi (Beytüşşebap-Şırnak) ve çevresi florası. Biological Diversity and Conversation 8(3): 25-41.
- Schischkin BK 1936. *Stellaria* L. – In: Komarov VL, Schischkin BK (eds), Flora USSR. Vol. 6. Izdatel 'stvo Akademii Nauk SSSR, pp. 389– 423 [English Translation: 1985. *Stellaria* L. Flora USSR. Vol. 6. Bishen Singh Mahendra Pal Singh Publ.; Koeltz Sci. Books, pp. 299–325].
- Yapar Y, Behçet L 2018. Hiro Yaylası (Adaklı-Bingöl/Türkiye) ve çevresinin florası. Biological Diversity and Conversation 11(3): 126-140.

Macrofungi Determined in Ulukışla (Niğde-Turkey) District

Osman BERBER¹, Yasin UZUN¹, Abdullah KAYA³

¹Karaman Provincial Directorate of Agriculture and Forestry, Karaman, Türkiye, ²Karamanoğlu Mehmetbey University, Ermenek Uysal and Hasan Kalan Health Services Vocational School, Department of Pharmacy Services Karaman, Türkiye, ³Gazi University, Science Faculty, Department of Biology, Ankara, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-0265-4441>, ²<https://orcid.org/0000-0002-6423-6085>, ³<https://orcid.org/0000-0002-4654-1406>

✉: kayaabd@hotmail.com

ABSTRACT

This study was based on the macrofungi samples collected from the region within the boundaries of Ulukışla district of Niğde province. As a result of field and laboratory studies, 92 macrofungi species belonging to 6 classes, 14 orders, 42 families and 70 genera within Ascomycota and Basidiomycota were determined. Routine morphological parameters were used for identification. Ninety one of the determined taxa are new for the district. The taxa were listed together with their habitats and localities.

Botanic

Research Article

Article History

Received : 01.07.2021

Accepted : 01.10.2021

Keywords

Biodiversity

Macrofungi

Taxonomy

Turkey

Ulukışla (Niğde-Türkiye) Yöresinde Belirlenen Makromantarlar

ÖZET

Bu çalışma Niğde'nin Ulukışla ilçe sınırları içinde kalan bölgeden toplanan makromantar örneklerine dayanmaktadır. Arazi ve laboratuvar çalışmaları sonucunda Ascomycota ve Basidiomycota bölümleri içinde yer alan 6 sınıf, 14 takım, 42 familya ve 70 cinse ait 92 makromantar türü belirlenmiştir. Teşhis işlemi rutin morfolojik parametreler kullanılmıştır. Belirlenen tüksonlardan 91 tanesi ilçe için yenidir. Taksonlar habitat ve lokaliteleri ile birlikte listelenmiştir.

Botanik

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 01.07.2021

Kabul Tarihi : 01.10.2021

Anahtar Kelimeler

Biyçeşitlilik

Makromantarlar

Taksonomi

Türkiye

To Cite : Berber O, Uzun Y, Kaya A. 2022. Macrofungi Determined in Ulukışla (Niğde-Turkey) District. KSU J. Agric Nat. 25 (5): 1007-1015. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.960925>

Atf İçin: Berber O, Uzun Y, Kaya A. 2022. Ulukışla (Niğde-Türkiye) Yöresinde Belirlenen Makromantarlar. KSÜ Tarım ve Doğa Derg. 25 (5): 1007-1015. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.960925>

INTRODUCTION

Fungi is known as the second diverse kingdom (Hawksworth et al., 1995) with the members growing almost everywhere in the world as saprophytes, parasites and symbionts (Şelem et al., 2021). Macrofungi constitutes a small group of this kingdom with fruiting bodies larger enough to be seen by naked eye (Uzun and Kaya, 2022).

The current checklist (Sesli et al., 2020) and the latest contributions (Alı et al., 2019; Çağlı and Öztürk, 2020; Işık, 2020; Keleş, 2020; Sesli, 2020; Şelem et al., 2021; Uzun et al., 2020a; Kaygusuz et al., 2021) indicate that more than 2.700 macrofungi have been determined in Turkey. Considering the 15.000 macrofungi taxa determined in Europe (Lukić, 2009) and the macrofungal diversity estimates of

Mueller et al. (2007) regarding the plant/macrofungi ratios of temperate regions, there is still much to be done to determine the complete macrofungal data of Turkey. Although many studies have been carried out across the country for this purpose, more than ¾rd of Turkey are still among the unstudied or less-studied regions (Sesli et al., 2020).

Ulukışla, is a district of Niğde province and located within the transition region of Mediterranean and Central Anatolian Region of Turkey (Fig. 1). The district is located between 37°23' – 37°44' north latitudes and 34°17' – 34°53' east longitudes, and surrounded by Pozantı (Adana) and Çamardı (Niğde) to the east, Bor (Niğde) to the north, Ereğli (Konya) to the west and Halkapınar (Konya) and Çamlıyayla (Mersin) to the south. Ulukışla was also among the

unstudied or less studied regions of Turkey. Though some mycological studies had been carried out in neighboring regions (Kaşık et al., 2001, 2003), and a new record was presented (Uzun et al., 2020b), a detailed macrofungal biodiversity study has not been carried out within the boundaries of the Ulukışla district. The present study aims to determine the macrofungal biodiversity of the region and to contribute to the mycobiota of Turkey.

MATERIALS and METHOD

The research materials were collected from the suitable habitats within the boundaries of Ulukışla district between 2017 and 2019 (Table 1). During field studies, fruit bodies were photographed in their natural habitats and the characteristics which are related to morphology and ecology were noted.

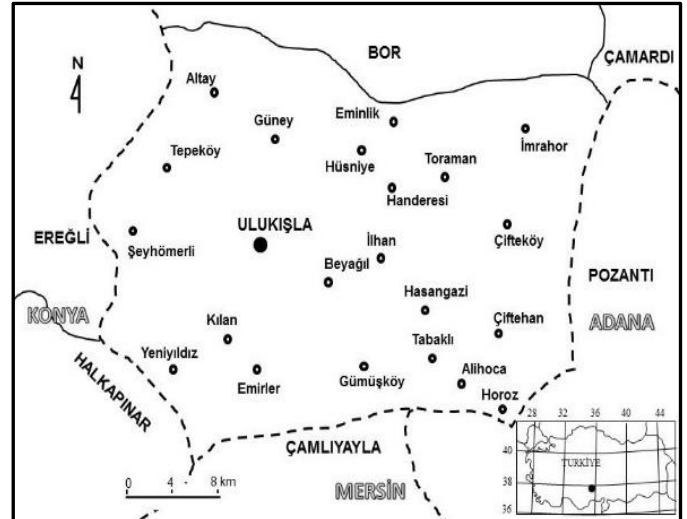


Figure 1. Map of the research area
 Şekil 1. Araştırma alanının haritası

Table 1. Collection localities of the macrofungal samples
 Çizelge 1. Makromantar örneklerinin toplanma lokaliteleri

Loc. No	Locality name	Coordinates	Altitude (m)
1	Alihoca village	37°29'N-34°43'E	1090
2	Altay village	37°39'N-34°27'E	1200
3	Belpınar village	37°12'N-36°45'E	545
4	Çiftehhan village	37°30'N-34°45'E	1000
5	Çiftehhan village	37°30'N-34°46'E	950
6	Çiftehhan village	37°30'N-34°47'E	930
7	Çifteköy village	37°35'N-34°44'E	1150
8	Darboğaz village	37°29'N-34°33'E	1330
9	Darboğaz village	37°29'N-34°34'E	1330
10	Eminlik village	37°38'N-34°37'E	1350
11	Emirler village	37°27'N-34°30'E	1520
12	Emirler village	37°28'N-34°29'E	1560
13	Emirler village	37°29'N-34°30'E	1400
14	Güney village	37°38'N-34°30'E	1360
15	Hacıbekirli village	37°30'N-34°22'E	1540
16	Handeresi village	37°36'N-34°37'E	1460
17	Hasangazi village	37°32'N-34°37'E	1350
18	Horoz village	37°29'N-34°48'E	990
19	Hüsniye village	37°38'N-34°35'E	1410
20	İlhanköy village	37°33'N-34°36'E	1490
21	İmrahor village	37°40'N-34°45'E	1400
22	Kılan village	37°28'N-34°28'E	1560
23	Köşkönü village	37°30'N-34°40'E	1450
24	Köşkönü village	37°30'N-34°41'E	1100
25	Köşkönü village	37°31'N-34°39'E	1170
26	Köşkönü village	37°31'N-34°39'E	1170
27	Saklıbahçe village	37°30'N-34°44'E	980
28	Tabaklı village	37°30'N-34°40'E	1450
29	Toraman village	37°38'N-34°40'E	1300
30	Yeni yıldız village	37°27'N-34°22'E	1575
31	Yeni yıldız village	37°27'N-34°23'E	1600
32	Yeni yıldız village	37°28'N-34°25'E	1630

Then the samples were transferred to the fungarium. Microscopic characteristics were investigated under a Nikon Eclipse Ci-S trinocular light microscope after mounting the specimens in water, KOH, Congo red, and Melzer's reagent. Identification was carried out with the help of Dennis and Itzerott (1973), Moser (1983), Philips (1981, 2010), Breitenbach and Kränzlin (1984-2000), Arora (1986), Wang and Kimbrough (1992), Benkert (1995,2007), Courtecuisse and Duhem (1995), Pegler et al. (1995), Abbott and Currah (1997), Bessette et al. (1997, 2007), Cappelli (1997), Hansen and Knudsen (1992, 1997, 2000), Montecchi and Sarasini (2000), Kränzlin (2005), Medardi (2006), Antonin and Noordeloos (2010), Buczacki (2012), Thompson (2013), Beug et al. (2014), Cripps et al. (2016) and Siegel and Schwarz (2016). The samples are kept in Department of Biology, Science Faculty, Karamanoğlu Mehmetbey University, Karaman, Türkiye.

RESULTS

The taxa determined in the region were listed alphabetically, in accordance with Index Fungorum (www.indexfungorum.org; accessed 5 May 2021). Habitats, collection dates, and accession numbers were also provided.

Ascomycota Whittaker

Chaetomellales Crous & Denman

Marthamycetaceae Baral, Lantz, Hustad & Minter

1. *Cyclaneusma minus* (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter: On dead pine needles in pine forest, locality 31, 22.12.2018, O. Ber-291.

Helotiales Nannf.

Lachnaceae Raitv.

2. *Lachnum virgineum* (Batsch) P. Karst.: On *Quercus* sp. cupules in mixed forest, locality 31, 16.04.2018, O. Ber-163; locality 22, 02.03.2019, O. Ber-311.

Mollisiaceae Rehm

3. *Mollisia cinerea* (Batsch) P. Karst.: On decaying wood, locality 5, 07.12.2019, O. Ber-366.

Hypocreales Lindau

Nectriaceae Tul. & C. Tul.

4. *Nectria peziza* (Tode) Fr.: On dead *Populus* sp. branches, locality 22, 01.06.2018, O. Ber-183.

Patellariales D. Hawksw. & O.E. Erikss.

Patellariaceae Corda

5. *Patellaria atrata* (Hedw.) Fr.: On *Quercus* L. sp. twigs in mixed forest, locality 2, 11.06.2017, O. Ber-065.

Pezizales J. Schröt.

Helvellaceae Fr.

6. *Helvella acetabulum* (L.) Quél.: Among leaf litter in *Quercus* sp. forest, locality 2, 02.03.2019, O. Ber-307; locality 31, 17.03.2019, O. Ber-327.

7. *Helvella fibrosa* (Wallr.) Korf: On soil among leaf litter under *Corylus* sp., locality 18, 19.05.2017, O. Ber-022.

8. *Helvella fusca* Gillet: Among leaf litter in poplar grove, locality 22, 19.05.2017, O. Ber-010; among leaf litter under *Quercus* sp., locality 11, 01.06.2018, O. Ber-180.

9. *Helvella leucomelaena* (Pers.) Nannf.: On soil in mixed forest, locality 6, 19.05.2017, O. Ber-036; 23.03.2019, O. Ber-045; locality 26, 23.03.2019, O. Ber-335.

10. *Helvella leucopus* Pers.: On sandy soil under *Salix* and *Populus* sp., locality 9, 17.03.2019, O. Ber-326; among leaf litter under *Quercus* sp., locality 12, 17.03.2019, O. Ber-328.

Morchellaceae Rchb.

11. *Morchella esculenta* (L.) Pers.: On soil in fruit garden, locality 22, 19.05.2017, O. Ber-018; on soil in mixed forest, locality 6, 19.05.2017, O. Ber-039; locality 31, 16.04.2018, O. Ber-170.

12. *Verpa conica* (O.F. Müll.) Sw.: On soil among leaf litter under *Corylus* sp., locality 18, 23.03.2019, O. Ber-349.

Pezizaceae Dumort.

13. *Peziza fimeti* (Fuckel) E.C. Hansen: On cow dung, locality 13, 23.03.2019, O. Ber-134.

14. *Sarcosphaera coronaria* (Jacq.) J. Schröt.: In soil under needle litter, locality 6, 23.03.2019, O. Ber-341; in mixed forest, locality 31, 23.03.2019, O. Ber-354.

15. *Terfezia claveryi* Chatin: In soil among *Helianthemum* sp., locality 10, 14.04.2018, O. Ber-141; locality 21, 23.03.2019, O. Ber-354.

Pyronemataceae Corda

16. *Anthracobia melaloma* (Alb. & Schwein.) Arnould: On ash, locality 5, 07.12.2019, O. Ber-359.

17. *Genea lobulata* (Mor.-Arr., J. Gómez & Calonge) P. Alvarado & Mor.-Arr.: In soil under *Quercus* sp., Locality 31, 16.04.2018, O. Ber-167.

18. *Lamprospora miniata* De Not.: On moss in *Pinus* sp. forest, locality 6, 22.12.2018, O. Ber-277.

19. *Octospora leucoloma* Hedw.: Among moss, in mixed forest, locality 22, 07.12.2019, O. Ber-385.

20. *Octospora musci-muralis* Graddon: Among mosses in *Pinus* sp. forest, locality 26, 23.03.2019, O. Ber-356; among mosses in mixed forest, locality 4, 07.12.2019, O. Ber-374.

21. *Octospora neerlandica* Benkert & Brouwer: On soil among mosses under *Pinus* sp., locality 6, 07.01.2018, O. Ber-108.

22. *Octospora polytrichi* (Schumach.) Caillet & Moyne: On mosses in *Pinus* sp. forest, locality 6, 04.11.2018, O. Ber-138.

23. *Picoa juniperi* Vittad.: In soil among grasses, locality 10, 14.04.2018, O. Ber-142.

24. *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire: In soil among grasses, locality 21, 16.04.2018, O. Ber-171.

Sarcoscyphaceae Le Gal ex Eckblad

25. *Pithya cupressina* (Batsch) Fuckel: On dead branches of *Juniperus* sp., locality 4, 07.12.2019, O. Ber-368.

Tuberaceae Dumort.

26. *Tuber* sp.: In soil under *Pinus* sp., locality 6, 23.03.2019, O. Ber-334.

Basidiomycota R.T. Moore

Agaricales Underw.

Agaricaceae Chevall.

27. *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers.: On soil among grasses, locality 22, 19.05.2017, O. Ber -019; locality 8, 23.03.2019, O. Ber-169.

28. *Leucoagaricus leucothites* (Vittad.) Wasser: On soil among grasses, locality 10, 11.06.2017, O. Ber-064; locality 16, 01.06.2018, O. Ber-178.

29. *Tulostoma fimbriatum* Fr.: On soil under *Juniperus* sp., locality 22, 07.01.2018, O. Ber-095; locality 32, 16.04.2018, O. Ber-152.

Bolbitiaceae Singer

30. *Conocybe apala* (Fr.) Arnolds: On soil among grasses, locality 24, 19.05.2017, O. Ber-038; locality 10, 11.06.2017, O. Ber-061.

31. *Conocybe deliquescens* Hauskn. & Krisai: On soil among grasses, locality 9, 15.04.2018, O. Ber-148.

Chromocyphellaceae Knudsen

32. *Chromocyphella muscicola* (Fr.) Donk: On mosses in *Pinus* sp. forest, locality 5, 07.12.2019, O. Ber-375.

Hygrophoraceae Lotsy

33. *Arrhenia obscurata* (D.A. Reid) Redhead, Lutzoni, Moncalvo & Vilgalys: On soil, roadside, locality 4, 07.12.2019, O. Ber-382.

34. *Arrhenia rickenii* (Hora) Watling: On soil among mosses in *Pinus* sp. forest, locality 5, 07.12.2019, O. Ber-376.

35. *Arrhenia spathulata* (Fr.) Redhead: On moss in *Pinus* sp. forest, locality 5, 07.12.2019, O. Ber-363.

Hymenogastraceae Vittad.

36. *Hymenogaster bulliardii* Vittad.: In soil in mixed forest, locality 30, 02.03.2019, O. Ber-309.

37. *Psilocybe coronilla* (Bull.) Noordel.: On soil among grasses under *Juniperus* sp., locality 13, 07.01.2018, O. Ber-095; locality 31, 22.12.2018, O. Ber-268.

Incertae Sedis

38. *Crucibulum laeve* (Huds.) Kambly: On soil or on decaying hardboard particles, locality 10, 11.06.2017, O. Ber-062.

39. *Cyathus stercoreus* (Schwein.) De Toni: On dung, locality 14, 19.05.2017, O. Ber-042.

40. *Cystodermella cinnabarina* (Alb. & Schwein.) Harmaja: On soil among *Pinus* sp. needles, locality 28, 01.12.2017, O. Ber-088; locality 6, 07.01.2018, O. Ber-111; locality 5, 07.12.2019, O. Ber-362.

41. *Lepista nuda* (Bull.) Cooke: On soil among plant debris, locality 6, 16.12.2018, O. Ber-242.

42. *Panaeolina foenicicii* (Pers.) Maire: On manured

soil among grasses, locality 2, 01.06.2018, O. Ber-176.

Inocybaceae Jülich

43. *Pseudosperma rimosum* (Bull.) Matheny & Esteve-Rav.: On soil in mixed forest, locality 30, 11.06.2017, O. Ber-050; locality 22, 22.06.2017, O. Ber-079.

Lycoperdaceae Chevall.

44. *Lycoperdon molle* Pers.: On soil among mosses in pine forest, locality 26, 23.03.2019, O. Ber-336; locality 6, 23.03.2019, O. Ber-346.

45. *Lycoperdon nigrescens* Pers.: On soil in *Pinus* sp. forest, locality 4, 07.12.2019, O. Ber-373.

Marasmiaceae Roze ex Kühner

46. *Marasmius epodius* Bres.: On decaying herb remains in pine forest, locality 23, 07.01.2018, O. Ber-028; locality 6, 07.01.2018, O. Ber-109.

Mycenaceae Overeem

47. *Hemimycena lactea* (Pers.) Singer: On needle litter in pine forest, locality 28, 07.01.2018, O. Ber -100; locality 6, 07.01.2018, O. Ber-109.

48. *Mycena epipterygioides* A. Pearson: Among needle litter in pine forest, locality 6, 07.01.2018, O. Ber-121.

49. *Mycena meliigena* (Berk. & Cooke) Sacc.: On decaying barks of *Pinus* sp., locality 31, 07.12.2019, O. Ber-387.

50. *Mycena seynii* QuéL.: Among needle litter in pine forest, locality 6, 07.01.2018, O. Ber-114; locality 26, 22.12.2018, O. Ber-282.

51. *Xeromphalina caudicinalis* (Fr.) Kühner & Maire: On soil under *Populus* and *Salix* sp., locality 6, 01.12.2017, O. Ber-091; locality 31, 22.12.2018, O. Ber-253.

Phyllostopsidaceae Locquin ex Olariaga, Huhtinen, Læssøe, J.H. Petersen & K. Hansen

52. *Phyllostopsis nidulans* (Pers.) Singer: On rotting wood in *Pinus* sp. forest, locality 4, 07.12.2019, O. Ber-380.

Physalacriaceae Corner

53. *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer: Around *Salix* sp. stump, locality 11, 07.01.2018, O. Ber-097; locality 18, 16.12.2018, O. Ber-241.

Pleurotaceae Kühner

54. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.: On *Populus* sp. stump, locality 10, 1.12.2017, O. Ber-085; locality 13, 04.11.2018, O. Ber-216.

Psathyrellaceae Vilgalys, Moncalvo & Redhead

55. *Coprinellus disseminatus* (Pers.) J.E. Lange: Among herbaceous plant debris, locality 25, 14.10.2018, O. Ber-189; locality 31, 04.11.2018, O. Ber-202.

56. *Coprinellus micaceus* (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson: Around *Populus* sp. stump, locality 22, 19.5.2017, O. Ber-011; locality 27, 19.05.2017, O. Ber-027; locality 25, 19.05.2017, O. Ber-029; locality 7, 22.06.2017, O. Ber-076; locality 17, 16.04.2018, O. Ber-164.

57. *Coprinopsis atramentaria* (Bull.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo: Among plant debris aronud *Populus* sp. stump, locality 11, 14.10.2018, O. Ber-190.
58. *Coprinopsis nivea* (Pers.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo: On cow dung, locality 17, 16.04.2018, O. Ber-168; locality 19, 14.10.2018, O. Ber-188.
59. *Psathyrella bipellis* (Quél.) A.H. Sm.: On soil among grasses in mixed forest, locality 22, 23.12.2018, O. Ber-302.
60. *Psathyrella candolleana* (Fr.) Maire: On soil around *Populus* sp. stump, locality 6, 19.05.2017, O. Ber-040; locality 20, 16.04.2018, O. Ber-165.
- Schizophyllaceae** Quél.
61. *Schizophyllum amplum* (Lév.) Nakasone: On decaying *Populus* sp. twigs, locality 27, 19.05.2017, O. Ber-026; locality 9, 22.12.2018, O. Ber-276.
62. *Schizophyllum commune* Fr.: On decaying *Populus* sp. stump, locality 27, 19.05.2017, O. Ber-024; locality 24, 19.05.2017, O. Ber-276.
- Strophariaceae** Singer & A.H. Sm.
63. *Agrocybe molesta* (Lasch) Singer: On soil among grasses, locality 14, 01.06.2018, O. Ber-035; locality 21, 15.04.2018, O. Ber-145; locality 10, 01.06.2018, O. Ber-179.
64. *Agrocybe vervacti* (Fr.) Singer: On soil among grasses, locality 10, 15.04.2018, O. Ber-146; locality 19, 01.06.2018, O. Ber-177.
65. *Pholiota populnea* (Pers.) Kuyper & Tjall.-Beuk.: On *Salix* sp. trunk, locality 31, 04.11.2018, O. Ber-198.
- Tricholomataceae** R. Heim ex Pouzar
66. *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm.: On soil among needle litter in pine forest, locality 28, 01.12.2017, O. Ber-089; locality 11, 07.01.2018, O. Ber-137; locality 1, 16.12.2018, O. Ber-236.
- Tubariaceae** Vizzini
67. *Cyclocybe cylindracea* (DC.) Vizzini & Angelini: Around *Populus* sp. stump, locality 31, 11.06.2017, O. Ber-055; locality 9, 11.06.2017, O. Ber-057.
68. *Tubaria furfuracea* (Pers.) Gillet: On soil among plant debris, locality 11, 01.12.2017, O. Ber-090; locality 22, 07.01.2018, O. Ber-130.
- Boletales** E.-J. Gilbert
- Diplocystidiaceae** Kreisel
69. *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morgan: Among leaf-needle litter in mixed forest, locality 6, 01.12.2017, O. Ber-087; locality 27, 07.01.2018, O. Ber-112.
- Gomphidiaceae** Maire ex Jülich
70. *Chroogomphus rutilus* (Schaeff.) O.K. Mill.: Among leaf-needle litter in mixed forest, locality 1, 07.01.2018, O. Ber-135; locality 27, 7.1.2018, O. Ber-112.
- Paxillaceae** Lotsy
71. *Melanogaster broomeanus* Berk.: In soil under mixed forest, locality 22, 22.06.2017, O. Ber-071.
- Rhizopogonaceae** Gäum. & C.W. Dodge
72. *Rhizopogon luteolus* Fr.: Among soil in mixed forest, locality 11, 07.01.2018, O. Ber-136; locality 7, 22.12.2018, O. Ber-283.
73. *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr.: Among soil in pine forest, locality 1, 04.11.2018, O. Ber-219; locality 13, 04.11.2018, O. Ber-222.
- Sclerodermataceae** Corda
74. *Pisolithus arhizus* (Scop.) Rauschert: On soil under *Populus* & *Salix* sp., locality 26, 22.06.2017, O. Ber-081; locality 18, 01.06.2018, O. Ber-175.
- Suillaceae** Besl & Bresinsky
75. *Suillus collinitus* (Fr.) Kuntze: On soil among needle litter, locality 31, 16.12.2018, O. Ber-237; locality 6, 22.12.2018, O. Ber-285.
- Dacrymycetales** Henn.
- Dacrymycetaceae** J. Schröt.
76. *Dacrymyces capitatus* Schwein.: On decaying logs in pine forest, locality 6, 07.01.2018, O. Ber-115; locality 4, 07.12.2019, O. Ber-375.
- Geastrales** K. Hosaka & Castellano
- Geastraceae** Corda
77. *Geastrum minimum* Schwein.: On soil in *Pinus* sp. forest, locality 4, 07.12.2019, O. Ber-378.
78. *Schenella pityophila* (Malençon & Rioussset) Estrada & Lado: In soil under leaf litter in mixed forest, locality 6, 23.03.2019, O. Ber-343.
- Gloeophyllales** Thorn
- Gloeophyllaceae** Jülich
79. *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill: On rotting wood in *Pinus* sp. forest, locality 4, 07.12.2019, O. Ber-379.
- Hymenochaetales** Oberw.
- Hymenochaetaceae** Donk
80. *Inonotus hispidus* (Bull.) P. Karst.: On *Malus* sp. trunk, locality 6, 22.06.2017, O. Ber-080.
81. *Phellinus igniarius* (L.) Quél.: On *Salix* sp. trunk, locality 6, 22.06.2017, O. Ber-077; locality 23, 01.06.2018, O. Ber-182.
82. *Phellinus lundellii* Niemelä: On *Amygdalus* sp. trunk, locality 6, 22.06.2017, O. Ber-314.
- Hysterangiales** K. Hosaka & Castellano
- Trappeaceae** P.M. Kirk
83. *Trappea darkeri* (Zeller) Castellano: (Uzun et al., 2020b).
- Polyporales** Gäum.
- Laetiporaceae** Jülich
84. *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill: On *Salix* sp. trunk, locality 29, 01.12.2017, O. Ber-086; locality 14, 15.04.2018, O. Ber-147.
- Phanerochaetaceae** Jülich
85. *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst.: On *Populus* sp. stump, locality 16, 01.12.2017, O. Ber-084; locality 11, 07.01.2018, O. Ber-098.
- Polyporaceae** Fr. ex Corda
86. *Cerioporus squamosus* (Huds.) Quél.: On decaying *Salix* sp. stump, locality 26, 07.01.2018, O. Ber-098.
87. *Fomes fomentarius* (L.) Fr.: On *Populus* sp.

stump, locality 22, 04.11.2018, O. Ber-223.

88. *Lentinus arcularius* (Batsch) Zmitr.: On dead branches of *Quercus* sp., locality 27, 19.05.2017. O. Ber-023.

89. *Lentinus tigrinus* (Bull.) Fr.: Around *Salix* sp. stumps, locality 17, 14.10.2018, O. Ber-186; locality 11, 04.11.2018, O. Ber-220.

90. *Trametes trogii* Berk.: On decaying *Populus* sp. stump, locality 22, 19.05.2017, O. Ber-001.

Russulales Kreisel ex P.M. Kirk, P.F. Cannon & J.C. David

Russulaceae Lotsy

91. *Lactarius deliciosus* (L.) Gray: On soil among needle litter in pine forest, locality 6, 22.06.2017, O. Ber-082.

Stereaceae Pilát

92. *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers.: On decaying *Quercus* sp. stump in mixed forest, locality 22, 07.01.2018, O. Ber-128.

DISCUSSION

Ninety two macrofungi species were determined within the boundaries of Ulukışla district. Twenty six (%28.26) of them belong to *Ascomycota* and 66 (%71.74) to *Basidiomycota*. All the taxa are new for the region except, *Trappea darkeri* which was reported before (Uzun et al., 2020). The taxa determined in the region are distributed in 6 classes (Fig. 2), 14 orders (Fig. 3), 42 families and 70 genera. *Pyronemataceae*, *Agaricaceae*, *Psathyrellaceae*, *Helvellaceae*, and *Mycenaceae* were found to be the most crowded 5 families with, 9, 8, 6, 5 and 5 taxa respectively. The most crowded 4 genera were determined as *Helvella*, *Octospora*, *Arrhenia* and *Mycena* with 5, 4, 3, and 3 taxa respectively. Following 10 genera (*Agrocybe*, *Conocybe*, *Coprinellus*, *Coprinopsis*, *Lentinus*, *Lycoperdon*, *Phellinus*, *Picoa*, *Psathyrella*, *Rhizopogon*, *Schizophyllum*) are represented with two taxa while the other genera are represented with only one taxa in the region.

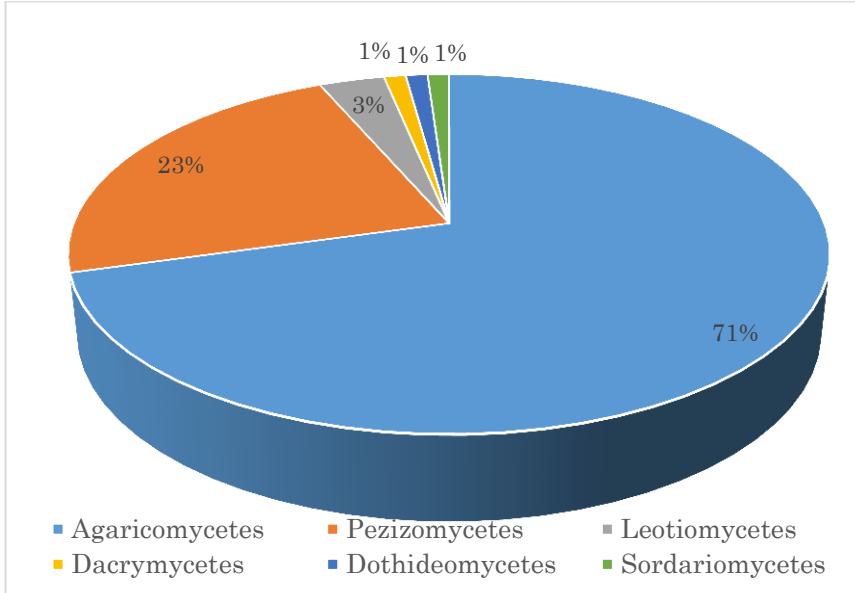


Figure 2. Class-wise distribution of the determined taxa
Şekil 2. Tespit edilen taksonların sınıf bazında dağılımı

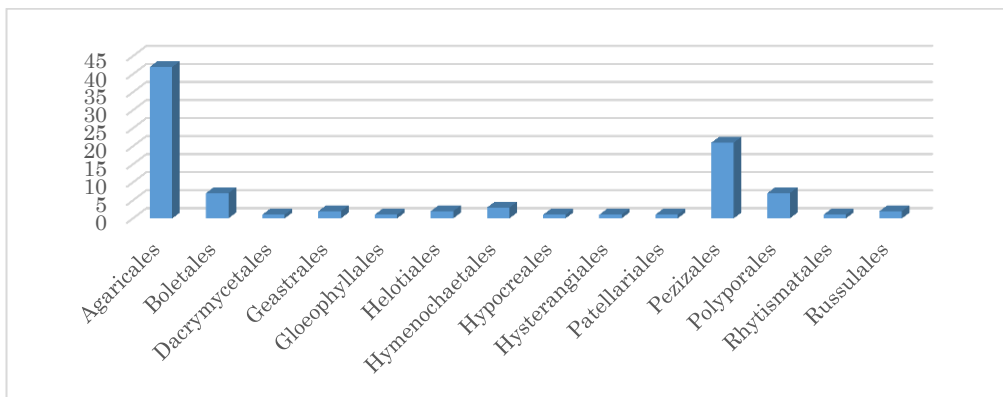


Figure 3. Order-wise distribution of the determined taxa
Şekil 3. Tespit edilen taksonların takım bazında dağılımı

Comparison of the determined taxa with the literature data indicate that 26 of them (*Cerioporus squamosus*, *Chroogomphus rutilus*, *Coprinellus disseminatus*, *C. micaceus*, *Coprinus comatus*, *Cyclocybe cylindracea*, *Flammulina velutipes*, *Helvella acetabulum*, *H. leucomelaena*, *H. leucopus*, *Lactarius deliciosus*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinus tigrinus*, *Lepista nuda*, *Leucoagaricus leucothites*, *Lycoperdon molle*, *Morchella esculenta*, *Pleurotus ostreatus*, *Psathyrella candolleana*, *Rhizopogon luteolus*, *R. roseolus*, *Suillus collinitus*, *Terfezia claveryi*, *Tricholoma terreum*, *Tuber* sp., *Verpa conica*) are edible. Nine of the edible species are collected and consumed by local public with different local names (Table 2). Among the edible taxa, two of them have local economic importance. During spring *Morchella esculenta* and *Terfezia claveryi* are collected and sold in public bazaars. Sixty two of the determined taxa are regarded as inedible while four of them (*Coprinopsis atramentaria*, *Inocybe rimosa*, *Psilocybe coronilla*, *Sarcosphaera coronaria*) are more or less poisonous (Thomas et al., 1977; Gücin et al., 2000).

Fourty four of the determined taxa are terricolous, 25 are lignicolous (*Bjerkandera adusta*, *Cerioporus squamosus*, *Coprinellus micaceus*, *Cyclaneusma minus*, *Dacrymyces capitatus*, *Fomes fomentarius*, *Gloeophyllum trabeum*, *Inonotus hispidus*, *Lachnum virgineum*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinus arcularius*, *L. tigrinus*, *Mollisia cinerea*, *Mycena meliigena*, *Nectria peziza*, *Patellaria atrata*, *Phellinus igniarius*, *Ph. lundellii*, *Phyllotopsis nidulans*, *Pithya cupressina*, *Pleurotus ostreatus*, *Schizophyllum amplum*, *S. commune*, *Stereum hirsutum*, *Trametes trogii*), 8 are bryophilous

(*Arrhenia rickenii*, *A. spathulata*, *Chromocyphella muscicola*, *Lamprospora miniata*, *Octospora leucoloma*, *O. musci-muralis*, *O. neerlandica*, *O. polytrichi*), 3 are coprophilous (*Coprinopsis nivea*, *Cyathus stercoreus*, *Peziza fimeti*) while one of them (*Anthracobia melaloma*) was found to be growing on ash. Twelve of them (*Genea lobulata*, *Hymenogaster bulliardii*, *Melanogaster broomeanus*, *Picoa juniperi*, *P. lefebvrei*, *Rhizopogon luteolus*, *R. roseolus*, *Sarcosphaera coronaria*, *Schenella pityophila*, *Terfezia claveryi*, *Trappea darkeri*, *Tuber* sp.) were also determined to be hypogeous or semi-hypogeous.

Table 2. Locally consumed taxa and their regional Turkish names

Tablo 2. Yöresel olarak tüketilen taksonlar ve onların bölgedeki Türkçe isimleri

Locally consumed taxa	Local Turkish name of the taxa
<i>Coprinus comatus</i>	Ekin mantarı
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Kavak mantarı
<i>Leucoagaricus leucothites</i>	Çayır mantarı
<i>Terfezia claveryi</i>	Domalan, dolaman, keme
<i>Morchella esculenta</i>	Kuzu göbeği
<i>Lycoperdon molle</i>	Puf mantarı
<i>Tricholoma terreum</i>	Karakız mantarı
<i>Picoa juniperi</i>	Kara domalan
<i>Picoa lefebvrei</i>	Kara domalan

The comparison of the determined taxa with the findings of the studies carried out in close environs indicated some similarities. These studies and the similarity percentages are given in Table 3. The reason for this similarity may be the common climate and vegetation.

Table 3. Similarity percentages of neighbouring studies with Ulukışla district
 Çizelge 3. Ulukışla bölgesi ile komşu çalışmaların benzerlik yüzdeleri

	# of Identical taxa	Total taxa	Similarity (%)
Kaşık et al. (2001)	14	32	43,75
Kaşık et al. (2002)	16	53	30,19
Kaşık et al. (2003)	20	94	21,28
Doğan and Öztürk (2006)	30	202	14,85
Doğan et al. (2007)	21	95	22,11
Türkoğlu et al. (2007)	12	31	38,71
Kaya et al. (2009)	30	110	27,27

Author's Contributions

Authors declare the contribution of the authors is equal.

Statement of Conflict of Interest

The authors have declared no conflict of interest.

KAYNAKLAR

Abbott SP, Currah RS 1997. The Helvellaceae:

Systematic Revision and Occurrence in Northern and Northwestern North America. Mycotaxon 62: 1-125.

Allı H, Tevlim G, Şen İ 2019. A New Record for Turkey's Mycobiota from an Interesting Habitat in the Mugla Province: *Hortiboletus bubalinus* (Oolbekk. & Duin) L. Albert & Dima" Mugla Journal of Science and Technology 5(1): 114-118.

Antonin V, Noordeloos ME 2010. A Monograph of Marasmioid and Collybioid Fungi in Europe. IHW-

- Verlag, 480 s, Berchtesgaden-Almanya.
- Arora D 1986. Mushrooms Demystified. Ten Speed Press, 1056 s, USA.
- Benkert D 1995. Becherlinge als Moosparasiten. *Boletus* 19: 97-127.
- Benkert D 2007. Zur Kenntnis des Vorkommens bryophiler Pezizales (Ascomycota) in Südost-Europa. *Mycologia Montenegrina* 10: 7-21.
- Bessette AE, Bessette AR, Fischer DW 1997. Mushrooms of northeastern North America. Hong Kong, Syracuse University Press.
- Bessette AE, Roody WC, Bessette AR, Dunaway DL 2007. Mushrooms of the Southeastern United States.
- Beug MW, Bessette AE, Bessette AR 2014. Ascomycete Fungi of North America. A Mushroom Reference Guide. Pp. 502.
- Breitenbach J, Kränzlin F 1984-2000. Fungi of Switzerland, vols. 1-5 Lucerne, Verlag Mykologia.
- Buczacki S 2012. Collins Fungi Guide, Collins. Harper Collins Publishers Ltd., 640 s., London.
- Çağlı G, Öztürk A 2020. Macromycetes determined in Muradiye (Van) district. *Anatolian Journal of Botany* 4(1): 57-64.
- Cappelli A 1997. *Agaricus*. Libreria editrice Biella Giovanna, Saronno, Pp: 558.
- Courtecuisse R, Duhem B 1995. Collins Field Guide, Mushrooms and Toadstools of Britain and Europe. Harper Collins, Italy.
- Cripps CL, Evenson VS, Kuo M 2016. The essential guide to Rocky Mountain mushrooms by habitat. University of Illinois Press.
- Dennis RWG, Itzerott H 1973. *Octospora* and *Inermisia* in Western Europe. *Kew Bulletin* 28(1): 5-23.
- Doğan HH, Öztürk C 2006. Macrofungi and their distribution in Karaman Province, Turkey. *Turkish Journal of Botany* 30(3): 193-207.
- Doğan HH, Öztürk C, Kaşık G, Aktaş S 2007. Macrofungi Distribution of Mut Province in Turkey. *Pakistan Journal of Botany* 38(1): 293-308.
- Gücin F, Işıloğlu M, Kaya A 2000. Türkiye'nin Zehirli Mantarları. In Mat A (ed.). Türkiye'de Mantar Zehirlenmeleri ve Zehirli Mantarlar. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.
- Hansen L, Knudsen H 1992. Nordic Macromycetes. Volume 2. Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales. Nordsvamp, Copenhagen, Denmark.
- Hansen L, Knudsen H 1997. Nordic Macromycetes. Volume 3. Heterobasidioid, Aphyllophoroid, and Gastromycetoid Basidiomycetes. Nordsvamp (1. Basım). Copenhagen-Denmark: Nordsvamp.
- Hansen L, Knudsen H 2000. Nordic Macromycetes. Volume 1. (Ascomycetes). Nordsvamp, Copenhagen, Denmark.
- Hawksworth DL, Kirk PM, Sutton BC, Pegler DM. 1995. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. 8th edition. CAB International, Wallingford.
- Index Fungorum 2021: <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>. Accessed 5 May 2021.
- Işık H 2020. *Agaricus*, *Steccherinum*, and *Typhula* species new for Turkey. *Mycotaxon* 135(1): 213-222.
- Kaşık G, Öztürk C, Toprak E. 2001. Macrofungi of Niğde Province (Turkey). *The Herb Journal of Systematic Botany* 8(2): 137-142.
- Kaşık G, Öztürk C, Türkoğlu A, Doğan HH 2003. Macrofungi of Yahyalı (Kayseri) Province. *Turkish Journal of Botany* 27(6): 453-462.
- Kaşık G, Öztürk C, Türkoğlu A, Doğan HH. 2002. Macrofungi flora of Yeşilhisar District (Kayseri). *The Herb Journal of Systematic Botany* 9(2): 123-134.
- Kaya A, Uzun Y, Karacan İH 2009. Macrofungi of Göksun (Kahramanmaraş) district. *Turkish Journal of Botany* 33(2): 131-139.
- Kaygusuz O, Türkekul İ, Knudsen H, Menolli N 2021. *Volvopluteus* and *Pluteus* section *Pluteus* (Agaricales: Pluteaceae) in Turkey based on morphological and molecular data, *Turkish Journal of Botany* 45: 224-242.
- Keleş A. 2020. Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Cins (*Gerronema* Singer) Kaydı, *The Journal of Fungus* 11(2): 168-171.
- Kränzlin F 2005. Fungi of Switzerland, Volume 6, Russulaceae 2. Verlag Mykologia, Switzerland, 319 pp.
- Lukić N 2009. The distribution and diversity of *Boletus* genus in central Serbia. *Kragujevac Journal of Science* 31: 59-68.
- Medardi G 2006. Atlante Fotografico Degli Ascomiceti d'Italia. A.M.B. Fondazione, Centro Studi Micologici, 454 s, Italia.
- Montecchi A, Sarasini M 2000. Fungi Ipogei D'Europa. Vicenza: Fondazione Centro Studi Micologici dell'AMB.
- Moser M 1983. Keys to Agarics and Boleti (Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales). Stuttgart, Gustav Fischer Verlag.
- Mueller GM, Schmit JP, Leacock PR, Buyck B, Cifuentes J, Desjardin DE, Halling RE, Hjortstam K, Iturriaga T, Larsson KH, Lodge DJ, May TW, Minter D, Rajchenberg M, Redhead SA, Ryvarden L, Trappe JM, Watling R, Wu Q 2007. Global diversity and distribution of macrofungi. *Biodiversity and Conservation* 16: 37-48.
- Pegler DN, Læssøe T, Spooner BM. 1995. British Puffballs, Earthstars and Stinkhorns. Royal Botanic Gardens, Whitstable.
- Philips R 2010. Mushrooms and Other Fungi of North America. The most comprehensive mushroom guide with over 1000 colour photographs.
- Phillips R 1981. Mushrooms and Other Fungi of Great Britain, Europe, Pan Books, London, 288 s.

- Sesli E 2020. Presence of *Cortinarius atroalbus* M.M.Moser and *C. duracinobtusulus* Rob. Henry (Basidiomycota, Cortinariaceae) in Turkey. *Anatolian Journal of Botany* 4(2): 92-95.
- Sesli E, Asan A, Selçuk F. (edlr.) Abacı Günyar Ö, Akata I, Akgül H, Aktaş S, Alkan S, Allı H, Aydoğdu H, Berikten D, Demirel K, Demirel R, Doğan HH, Erdoğan M, Ergül CC, Eroğlu G, Giray G, Halikî Uztan A, Kabaktepe Ş, Kadaifçiler D, Kalyoncu F, Karaltı İ, Kaşık G, Kaya A, Keleş A, Kırbağ S, Kıvanç M, Ocak İ, Ökten S, Özkale E, Öztürk C, Sevindik M, Şen B, Şen İ, Türkekul İ, Ulukapı M, Uzun Ya, Uzun Yu, Yoltaş A 2020. Türkiye Mantarları Listesi. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul.
- Siegel N, Schwarz C 2016. Mushrooms of the redwood coast: a comprehensive field guide to the fungi of coastal northern California. Ten Speed Press. Berkeley.
- Şelem E, Keleş A, İşler S 2021. Macrofungual biodiversity of Gürpınar (Van) district. *Anatolian Journal of Botany* 5(1): 23- 28.
- Thomas HW, Mitchel DH and Rumack BW 1977. Poisoning from the Mushroom *Stropharia coronilla*. *The Journal of the Arkansas Medical Society* 73(8): 311-312.
- Thompson PI 2013. *Ascomycetes in Colour. Found and Photographed in Mainland*. Xlibris Corporation, USA.
- Türkoğlu A, Kaşık G, Öztürk C, Doğan HH 2007. Some macrofungi of Ihlara Valley. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 7(1): 1-9.
- Uzun Y, Acar İ, Akçay ME, Sadullahoğlu C 2020a. Kağızman (Kars) Yöresi Makrofungusları. *Mantar Dergisi* 11(1): 19-28.
- Uzun Y, Kaya A 2022. Macromycetes Determined in Tonya (Trabzon) District. *KSU J. Agric Nat* 25(1): 66-77.
- Uzun Y, Berber O, Kaya A 2020. First record of *Trappea darkeri* from Turkey. *Mycotaxon* 135(3): 613-616.
- Wang YZ, Kimbrough JW. 1992. Monographic studies of North American species of *Octospora* previously ascribed to *Lamprospora* (Pezizales, Ascomycetes). Special Publication no. 4, National Museum of Natural Science (Taiwan).

Erken Dönemde Lavanta Bitkisinden Alınan Çeliklerin Bazı *in Vivo* ve *in Vitro* Ortamlarda Köklendirilmesi

¹Şeyda SAVALAN, ²Sefer DEMİRBAŞ, ³Elif Ceren PEHLİVAN, ⁴Selen YATKIN, ⁵İbrahim UZ

^{1,2,3,5}Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Değirmenaltı Kampüsü 59030, Süleymanpaşa-Tekirdağ, Türkiye, ⁴Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Araştırma ve Üretim Birimi, Naip Mahallesi, 59000, Süleymanpaşa-Tekirdağ, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-7047-0943>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7201-3888>, ³<https://orcid.org/0000-0001-5632-2955>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-1164-3867>, ⁵<https://orcid.org/0000-0001-9912-8087>

✉: eckalinkara@nku.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, iki farklı lavanta bitkisinden (*Lavandula latifolia* (Portekiz lavantası) ve *L. x intermedia* cv. Süper A) erken dönemde alınan çeliklerde *in vitro* ve *in vivo* koşullarda köklendirme çalışmaları yapılmıştır. Bitkilerden alınan çelikler ile iki farklı *in vivo* [Perlit (P), İndol Bütirik Asit (IBA) +Perlit (IBAP)] ve üç farklı *in vitro* [(Bacto Agar (B), IBA+Bacto Agar (IBAB), Hoagland+IBA+Bacto Agar (HIBAB)] olmak üzere toplamda beş farklı köklendirme denemesi kurulmuştur. Köklenmeye alınan çeliklerde 15 gün sonra uygulamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu, en yüksek köklenme oranının IBAB uygulamasından (%89.58) elde edildiği gözlenirken; P, B ve IBAP uygulamalarında herhangi bir köklenme görülmediği saptanmıştır. Türler arasında kıyaslama yapıldığında, Portekiz lavantasının Süper A çeşidine göre daha hızlı ve daha yüksek köklenme oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Çeliklerde yapılan uygulama sonrası 30. günde en yüksek köklenme oranının 15. günde olduğu gibi IBAB uygulamasında (%94.31), en düşük köklenme oranının ise B uygulamasında (%12.08) gözlenmiştir. Köklenme olan fideler saksıya alınarak önce nem kontrollü seraya, Nisan ayında da sağlıklı fideler koleksiyon bahçesine şaşırtılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, *in vitro* ortamda yapılan köklendirme çalışmalarında IBA kullanımının mevsimsel olgunluk beklemeden erken dönem lavanta çeliklerinde köklenmeyi hızlandırdığı saptanmıştır.

Tarımsal Biyoteknoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 17.04.2021

Kabul Tarihi : 01.11.2021

Anahtar Kelimeler

Lavanta
İndol bütirik asit
Lavandula latifolia
L. x intermedia
Köklendirme

Cuttings Taken From the Lavender Plant in The Early Period For Rooting in Some *in Vitro* and *in Vivo* Conditions

ABSTRACT

Here, *in vitro* and *in vivo* rooting studies were carried out on early cuttings taken from two different lavender plants (*Lavandula latifolia* (Portuguese lavender) and *L. x intermedia* cv. Super A). Two different *in vivo* (Perlite (P), Indole Butyric Acid (IBA) + Perlite (IBAP)) and three different *in vitro* [Bacto Agar (B), IBA + Bacto Agar (IBAB), Hoagland + IBA + Bacto Agar (HIBAB)] thus, a total of five different rooting experiments have been established. It was determined that there was a statistically significant difference between the applications after 15 days in the rooting cuttings. While the highest rooting rate was obtained from IBAB application (89.58%), no rooting was observed in P, B and IBAP applications. When comparing the species, it was determined that Portuguese lavender has a faster and higher rooting rate than the Super A variety. After the application on the cuttings, the highest rooting rate was observed in IBAB application (94.31%) on the 30th day as in the 15th day, and the lowest rooting rate was observed in B application (12.08%). Firstly, seedlings with rooting were taken into pots in the humidity-controlled greenhouse, and healthy seedlings

Agricultural Biotechnology

Research Article

Article History

Received : 17.04.2021

Accepted : 01.11.2021

Keywords

Lavender
Indole butyric acid
Lavandula latifolia
L. x intermedia
Rooting

were transferred to the collection garden in April. According to the results, it was determined that the use of IBA in rooting studies performed *in vitro* condition accelerated rooting in early-stage lavender cuttings without waiting for seasonal maturity.

Atıf Şekli: Savalan S., Demirbaş S., Pehlivan E.C., Yatkın S., Uz İ 2022. Erken dönemde lavanta bitkisinden alınan çeliklerin bazı *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda köklendirilmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1016-1022. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.918832>.

To Cite : Savalan S., Demirbaş S., Pehlivan E.C., Yatkın S., Uz İ 2022. Cuttings taken from the lavender plant in the early period for rooting in some *in vitro* and *in vivo* conditions. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1016-1022. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.918832>.

GİRİŞ

Lamiaceae familyasına ait olan lavanta 1 m'ye kadar boylanabilen, aromatik, yarı çalimsı ve çok yıllık bir bitkidir. Lavanta türleri dünyada doğal olarak Güney Avrupa'nın ve Kuzey Afrika'nın Akdeniz'e komşu olan ülkelerinde yayılış göstermektedir. Genellikle kuru iklim ve yüksek rakımlarda yetişmesine rağmen; farklı iklim ve yükseklik koşullarına da uyum göstermiş olan lavanta bitkisinin Fransa, Bulgaristan, İspanya, İtalya, Yunanistan, İngiltere, ABD, Avusturya ve Kuzey Afrika ülkelerinde yoğun olarak kültürü yapılmaktadır. Bununla beraber Kanarya adalarından Akdeniz kıyılarına ve oradan Hindistan'a kadar uzanan bölgelerde yabani olarak yayılış göstermektedir (Pistelli ve ark., 2017; Sonmezdag ve ark., 2017; Kirimera ve Mokhtarzadeh, 2017). *Lavandula* cinsi toplam 39 yabani türe sahiptir. (Arabacı ve ark., 2007). Lavantanın Türkiye'de yetişen iki türü vardır: *L. x intermedia* ve *L. angustifolia* (Korkunc, 2018). Dünyada ticareti en fazla yapılan 15 uçucu yağdan birisi olan lavanta uçucu yağı bitkinin çiçek ve çiçek saplarından elde edilmektedir (Simon ve ark., 1984). Uçucu yağ bileşenlerinde en fazla linalool, linalil asetat, 1.8-sineol, kafur, alfa-pinen bulunmaktadır. Uçucu yağ kalitesi bu bileşenlerden linalil asetat oranına göre belirlenmektedir (Lawrence, 1994; Arabacı ve ark., 2007). Uçucu yağ lavantanın çiçeklerinden elde edilmekte ve oranı %1-3 arasında değişmektedir (Baydar ve Erbaş, 2007). Lavanta uçucu yağı, en fazla kozmetik, parfüm ve ilaç sanayinde kullanılmaktadır. Uçucu yağların antiseptik, antimikrobiyal ve antifungal etkisi ve toksisitesinin çok düşük olması farmasötik endüstride kullanım avantajı sağlamaktadır (Gonçalves, 2013; Pistelli ve ark., 2017). Lavanta çiçekleri süs, kesme ve kuru çiçek olarak da değerlendirilmektedir. Çiçekleri arıları ve diğer polinatör böcekleri yoğun şekilde kendine çekmektedir (Güler, 2018).

Lavanta, vejetatif ve generatif yollarla üretilmektedir. Lavantanın tohum yapısı ve düşük tohum verimine sahip olması generatif olarak tohumla üretimini sınırlandırmaktadır. Bu nedenle lavanta yetiştiriciliğinde vejetatif üretim tercih edilmektedir. Vejetatif üretim yöntemlerinden çelikle üretim yapılmaktadır. Çelikler genellikle bitkilerin

kış dinlenmesi döneminde ve bitki uyanmadan önce alınmakta ve köklenme ortamına dikilmektedir (Aslanca ve Sarıbaş, 2011). Çelikle üretimde köklendirme ortamı olarak perlit, kum, torf ve humuslu toprak gibi farklı ortamlar kullanılmaktadır. En sık kullanılan uygulama farklı dönemlerde bitkilerden alınan çeliklerde köklendirmeyi teşvik etmek için köklendirme ortamlarına oksin grubu bitki büyüme düzenleyicisi eklenmesidir. *In vitro* ve *in vivo* şartlarda en yaygın kullanılan oksin ise Indol 3-Bütirik Asit (IBA)'tir (Kara ve ark., 2011). IBA'nın bitki dokusunda mobilitesi oldukça yavaştır ve dışarıdan çeliklere uygulanması yoluyla var olan içsel oksin seviyesini artırarak köklenmeyi teşvik etmektedir (Pasqual ve ark., 2001; Hartmann ve ark., 2002).

Akdeniz havzasının en önemli aromatik bitkilerinden biri olan (Sánchez-Gras ve del Carmen Calvo, 1996) *L. latifolia* (Portekiz lavantası) türünün çiçekleri yüksek oranda (%79.5-86.9) monoterpen bileşikler (linalool, sineol ve kafur) içermektedir (Muñoz-Bortemau ve ark., 2007). *L. latifolia* bitkisi, fitokimyasal özelliğinin yüksek oluşu nedeniyle klonal çoğaltım amacı ile seçilmiştir. Süper A çeşidi ise *Lavandula x intermedia* Emeric ex Lois. türüne aittir (Kara ve ark., 2019). Süper A çeşidinin uçucu yağ verimi, diğer türlere göre daha yüksek; fakat bu bileşenlerin kalitesinin daha düşük olmasına karşın, diğer türlere göre linalool bileşiği daha yüksek miktardadır (Kara ve Baydar, 2012).

Bu çalışmanın amacı *L. latifolia* ve *L. x intermedia* cv. Süper A türlerinin vejetatif yolla üretiminde kullanılan erken dönem çeliklerinde *in vivo* ve *in vitro* köklenme durumlarını tespit etmektir.

MATERYAL ve METOD

Bitkisel Materyal

Bu çalışmada *L. latifolia* ve *L. x intermedia* cv. Süper A türleri kullanılmıştır. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Tıbbi Aromatik Bitkiler Eğitim ve Koleksiyon Bahçesinden (40°59'39.6"N 27°34'47.8"E) 23 Ocak 2020 tarihinde alınan *L. latifolia* ve *L. x intermedia* cv. Süper A, 2 farklı lavanta türüne ait 1 yaşlı dallardan hazırlanan 10-12 cm uzunluğundaki

çelikler bitkisel materyal olarak kullanılmıştır. *In vivo* ve *in vitro* köklendirme çalışmaları Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Araştırma ve Üretim Biriminin (ZİRAATBİYOTEK) sera ve tam kontrollü iklim odalarında gerçekleştirilmiştir.

In vivo Köklendirme

Ocak ayında tarla koşullarından alınan çeliklerde 2 farklı *in vivo* ve 3 farklı *in vitro* olmak üzere 5 farklı köklendirme denemesi kurulmuştur. Tüm denemeler 10 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Deneme başlangıcından 15 ve 30 gün sonra çeliklerin köklenme oranları belirlenmiştir. Kontrol grubu olarak alınan çelikler ısıtmasız sera koşullarında her dikim tablasında 100 çelik olacak şekilde perlit (P) ortamına dikilmiştir (Şekil 1a). Bir diğer *in vivo* denemede köklenme hızını arttırmak için çelikler 19.70 mM IBA içeren toz formdaki pudra karışımına 5 sn süresince batırılarak perlit ortamına dikilmiştir (IBAP). Çeliklerin gelişimi, 8-18 °C (gece/gündüz) sıcaklıkta nem kontrollü serada takip edilmiştir.

In vitro Köklendirme

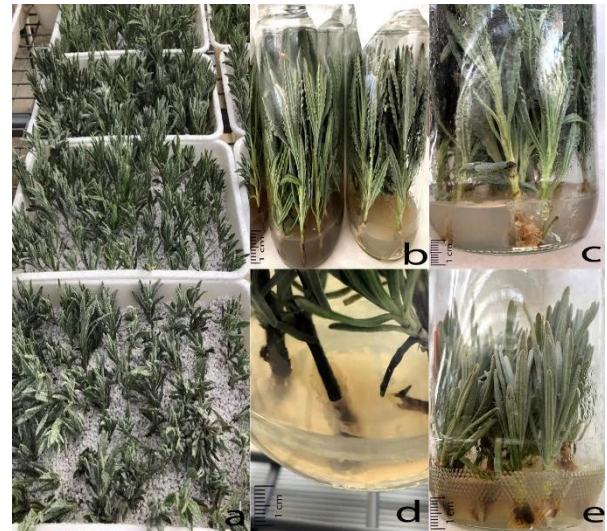
Tarla koşullarında alınan lavanta çelikleri çeşme suyu altında yıkandıktan sonra 1 saat saf suda bekletilmiştir. Saf suda bekletilen çeliklere *in vitro* ortamda 3 farklı köklendirme uygulaması yapılmıştır. *In vitro* köklendirme ortamı olarak; 13 g L⁻¹ bacto agar (Difco Bacto Agar) (B), 19.70 mM IBA + 13 g L⁻¹ bacto agar (IBAB) ve %5'lik Hoagland + 19.70 mM IBA + 13 g L⁻¹ bacto agar (HIBAB) ile katılaştırılmış ortamlar hazırlanmış ve her kültür kabına 10 çelik dikilmiştir (Şekil 1 b-e).

Aklimatizasyon

In vivo ve *in vitro* ortamda yapılan beş farklı köklendirme uygulaması sonucu köklenen bitkiler torf:perlit (3:1) karışımını içeren saksılara şaşırtılarak 15-25 °C (gece/gündüz) sıcaklıkta nem kontrollü seraya aktarılmıştır. Nisan, 2020 tarihinde %90'ı çiçekli olan ve 50-100 cm aralığında boylanan sağlıklı fideler tarla koşullarına aktarılmıştır (Şekil 2 a-d).

İstatistik Analizler

Elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi (tek uçlu ANOVA) ile değerlendirilmiş, ortalama değerler arasındaki farkların $P \leq 0.05$ düzeyindeki istatistiksel anlamda önemlilikleri Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versiyon 18.0 istatistik paket programı kullanılarak belirlenmiştir. Ortalamalar arasındaki önemlilik düzeyi Duncan testi ile belirlenmiştir (Snedecor ve Cochran, 1982).



Şekil 1. a) Perlitte (P) köklendirme uygulaması; *in vitro* kontrol ve IBAB uygulamasında köklenme (30 gün sonra): b) *L. latifolia* (kontrol); c) *L. latifolia*; d) Süper A (kontrol); e) Süper A

Figure 1. a) Rooting application in perlite (P); *in vitro* control and IBAB application (after 30 days): b) *L. latifolia* (control); c) *L. latifolia*; d) Super A (control); e) Super A



Şekil 2. Sera ve koleksiyon bahçesine aktarılan fideler: a) Saksıya alınmış Süper A; b) Koleksiyon bahçesine alınmış Süper A; c) Saksıya alınmış *L. latifolia*; d) Bahçeye alınmış *L. latifolia*

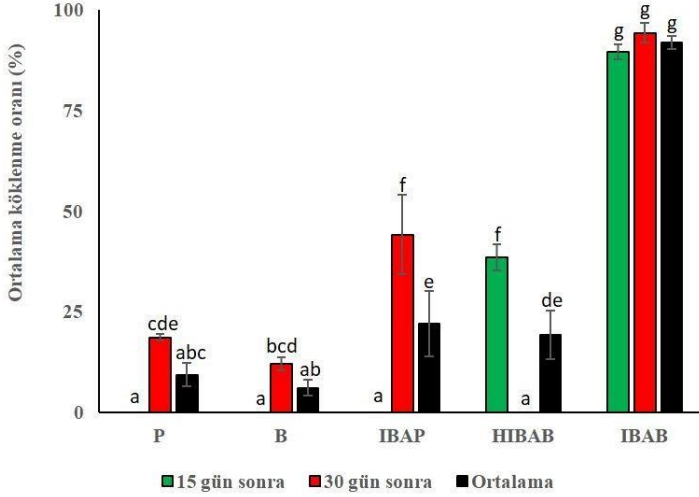
Figure 2. Seedlings transferred to greenhouse and collection garden: a) Potted Super A; b) Super A taken in the collection garden; c) Potted *L. latifolia*; d) *L. latifolia* in the garden

BULGULAR

Bu çalışmada, erken dönemde iki farklı lavanta

türünden alınan çeliklerin köklenme hızının artırılması amacıyla beş farklı uygulama (P, B, IBAP, HIBAB ve IBAB) yapılmıştır. Farklı besin ortamı uygulamalarının köklenmeye olan etkisi karşılaştırıldığında en yüksek köklenme oranının IBAB (%91.94) ortamında olduğu belirlenmiştir. Bunu sırasıyla IBAP (%22.08), HIBAB (%19,24), P (%9.31) ve B (%6.04) uygulamaları takip etmiştir. En

hızlı köklenme yanıtının 15. günde IBAB (%89.58) ve HIBAB (%38.47) ortamlarından elde edilmesine karşın IBAP (%44.17), P (%18.61) ve B (%12.08) uygulamalarında 30 gün sonra köklenme başlamıştır. HIBAB uygulama sonrası 15. günde fidelerde köklenme (%38.47) meydana gelmesine karşın ortamda kontaminasyon meydana geldiğinden dolayı 30. günde bu gruba ait veri alınmamıştır (Şekil 3).

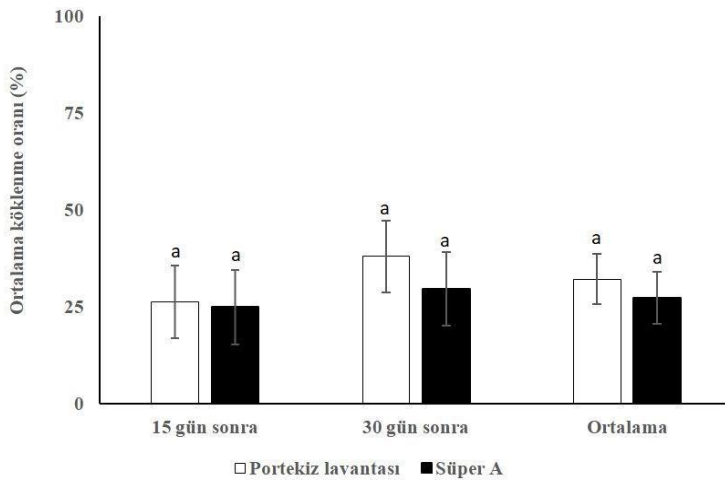


Şekil 3. Uygulamalara ait ortalama köklenme değerleri ve önemlilik grupları. Sonuçlar ortalama \pm standart hata şeklinde verilmiştir. Sütunlar üzerinde gösterilen küçük harfler (a-g) ortalamalar arasındaki önemlilik seviyesini göstermektedir.

Figure 3. Average rooting values and importance groups of applications. Results are given as mean \pm standard error. The lowercase letters (a-g) shown on the columns indicate the level of significance between means.

Çalışmada kullanılan bitkilerden Süper A çeşidine (%27.31) göre *L. latifoliada* (%32.14) köklenme seviyesinin daha yüksek olmasına karşın çeşitler arasında istatistiki düzeyde anlamlı bir fark olmadığı

saptanmıştır. Çeşitlerin uygulamadan 15 ve 30 gün sonra elde edilen köklenme sonuçları arasında da anlamlı bir değişim olmadığı saptanmıştır (Şekil 4).

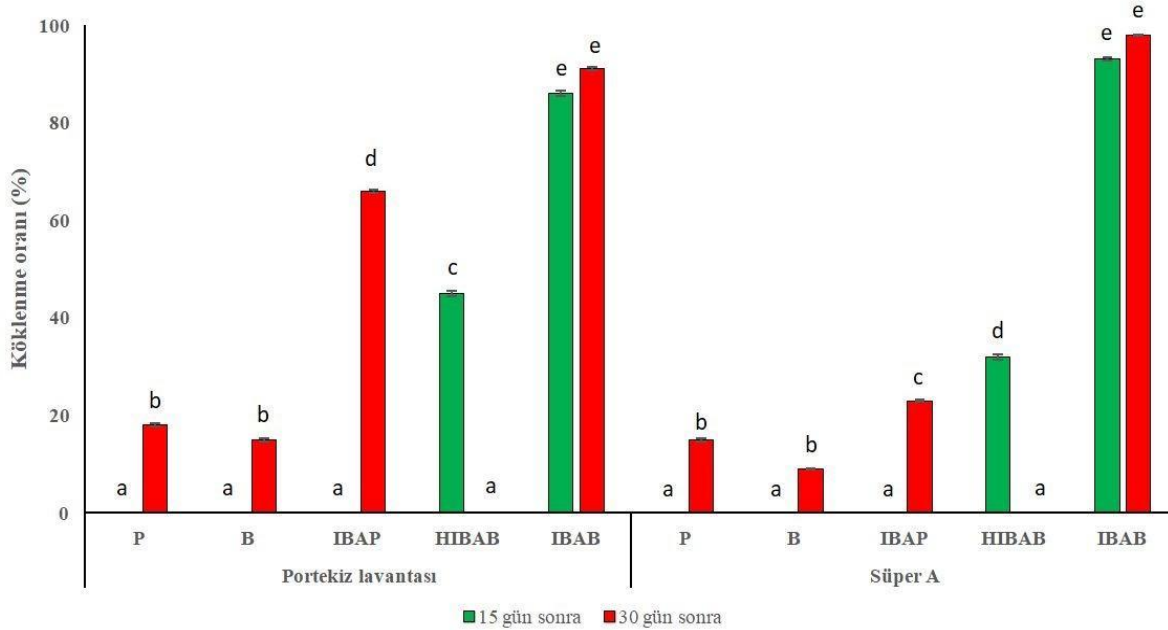


Şekil 4. Bitki ortalama köklenme değerleri ve önemlilik grupları. Sonuçlar ortalama \pm standart hata şeklinde verilmiştir. Sütunlar üzerinde gösterilen harfler (a) ortalamalar arasındaki önemlilik seviyesini göstermektedir.

Figure 4. Plant average rooting values and importance groups. Results are given as mean \pm standard error. The letters (a) shown on the columns indicate the level of significance between averages

Portekiz lavantası ve Süper A türünden alınan çeliklerin köklenme ortamına alınmasından 15 gün sonra köklenmenin başladığı, en yüksek köklenme oranının *in vitro* köklendirme uygulamaları olan IBAB uygulamasında (sırasıyla %86.00 ve %93.00); daha sonra Hoagland besin çözeltisi içeren ortam uygulamasında (HIBAB) (sırasıyla %45.00 ve %32.00) görülmüştür. *In vivo* köklendirme ortamlarında ise 15 günlük sürede iki türde de köklenme meydana gelmemiştir. HIBAB uygulamasında ilk 15 gün içinde

köklenen çelikler kontaminasyon nedeniyle köklendirme denemesine devam edilmemiştir. Uygulama sonrası 30. günde en yüksek köklenme oranı her iki türde (Portekiz lavantası ve Süper A) *in vitro* uygulaması olan IBAB ortamında (sırasıyla %91.00 ve %98.00) gerçekleşmiştir. IBAB uygulamasından sonra her iki türde IBA (sırasıyla %66.00 ve %23.00), P (sırasıyla %18.00 ve %15.00) ve B (sırasıyla %15.00 ve %9.00) uygulama gruplarında köklenme görülmüştür (Şekil 5).



Şekil 5. *Lavandula latifolia* (Portekiz lavantası) ve *L. x intermedia* cv. Süper A bitkilerinden alınan çeliklerin köklenme oranında (%) meydana gelen değişimler.

Bitki türleri kendi aralarında değerlendirilmiş olup sütunlar üzerinde gösterilen küçük harfler (a-e) ortalamalar arasındaki önemlilik seviyesini göstermektedir (P: Perlit; B: Bacto agar; IBAP: IBA + Perlit; HIBAB: Hoagland + IBA + Bacto agar; IBAB: IBA + Bacto agar).

Figure 5. Changes in the rooting rate (%) of cuttings taken from *Lavandula latifolia* (Portuguese lavender) and *L. x intermedia* cv. Super A. Plant species have been evaluated among themselves and the small letters (a-e) shown on the columns indicate the level of significance between the averages (P: Perlite; B: Bacto agar; IBAP: IBA + Perlite; HIBAB: Hoagland + IBA + Bacto agar; IBAB: IBA + Bacto agar).

Lavantalardan alınan çeliklerde köklenmenin çelik tabanından ziyade boğumlardan yoğun bir şekilde çıktığı gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlara ve yapılan gözlemlere göre kök sayısı ve boyu üzerine köklendirme ortamlarının önemli derecede farklılığa neden olmadığı gözlemlenmiştir. *In vivo* ve *in vitro* olarak toplam beş farklı ortamda yapılan köklendirme çalışmasında, çeliklerde köklenme meydana geldikçe fideler ortamlardan çıkarılıp musluk suyu altında üzerinde besi ortamı kalmayınca kadar yıkanmış ve torf:perlit (3:1) karışımı içeren saksılara alınarak 15-25 °C (gece/gündüz) sıcaklıkta nem kontrollü seraya aktarılmıştır. Nisan ayında %90'ı çiçekli olan ve 50-100 cm boylanan sağlıklı fideler tarlaya şaşırtılmıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Lavanta bitkisinin tohumla çoğaltılmasında başarı oranının düşük olmasından dolayı bitkilerin çoğaltımı genellikle çelikle yapılmaktadır (Kara ve Baydar, 2012; İzgi, 2020). Bu çalışmada, farklı besin ortamlarında köklendirme uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişimler olduğu tespit edilmiştir ($P \leq 0.05$). Çalışmada en yüksek köklenme oranı yaklaşık %92 ile *in vitro* ortamında köklendirme yapılan IBAB uygulamasından elde edilmiştir. Bu çalışmada, Portekiz lavantasının Süper A çeşidine göre daha hızlı ve daha iyi bir köklenme oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Farklı araştırmacılar farklı dozlarda IBA'yı lavanta çeliklerine perlit, torf, kum, vermikülit, toprak gibi çeşitli ortam kombinasyonlarında uygulamışlardır (Ayanoğlu ve ark., 2000; Özcan ve ark., 2013). Çelikle

çoğaltmada en önemli kriter başarılı bir köklenmedir. Köklenme oranındaki başarı tür ve çeşit düzeyinde farklılık göstermektedir (de Bona ve ark., 2012). Bunu anaç bitkinin fizyolojik durumu, çeliğin alındığı ortam, çelik alma zamanı ve anaç bitkinin rejenerasyon kapasitesi gibi birçok parametre etkilemektedir. Kumar ve Sreeja (1996) *L. angustifolia* bitkisi ile yaptıkları benzer bir çalışmada, bu çalışmada kullanılan IBA konsantrasyonunun yarısı olacak şekilde 2000 ppm IBA uygulamasıyla %72 oranında köklenme elde etmiştir. Ayanoğlu ve ark. (2000) karabaş otu çeliklerine IBA uygulaması yaptıktan sonra perlit:volkanik tuf (1:2) ortamında köklenmeye almış ve en iyi köklenme oranının (%70) 4000 ppm IBA dozunda elde edildiği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada *L. angustifolia* türünün farklı lokasyonlarından alınan çeliklere 2000 ppm IBA uygulandıktan 40 gün sonra köklenme olduğunu belirtilmiştir (de Bona ve ark., 2012). Ayrıca, Özcan ve ark. (2013) *L. hybrida* türünden şubat ayı sonunda aldıkları çelikleri sera ortamında perlit: torf ve tarla toprağından oluşan iki farklı ortama dikmişler ve yaklaşık 2 ay sonra köklenme oranlarını kıyaslamıştır. Perlit:torf ortamında köklenmenin (%69.17) tarla toprağına (%52.92) göre daha iyi sonuç verdiği ve en yüksek köklenme oranının 4000 ppm IBA (%87.5) uygulanan grupta elde edildiğini ifade etmişlerdir. İzgi (2020) *L. angustifolia* bitkisiyle yaptığı çalışmada 80 gün sonra alınan çeliklerde köklenme olduğunu, en yüksek köklenme oranının perlit ortamında (%78.33) ve en iyi köklenme oranının ise 4000 ppm IBA uygulanan (% 82.50) çeliklerinden elde edildiğini bildirmişlerdir.

Lavantada *in vivo* ortamda IBA ile yaygın şekilde yapılan köklendirmeye ait birçok çalışma mevcuttur (Kumar ve Sreeja, 1996; Ayanoğlu ve ark., 2000; Arslanoğlu ve Albayrak, 2011; de Bona ve ark., 2012; Özcan ve ark., 2013; İzgi, 2020). *In vitro* ortamda lavantada yapılan köklendirme çalışmaları yalnızca mikroçoğaltım çalışmalarının devamı niteliğindedir. Sánchez-Gras ve del Carmen Calvo (1996) *L. latifolia* türünde *in vitro* ortamda aksiller tomurcuktan rejenere olan sürgünlerde en iyi kök oluşumunun yarı katı makro element içeren MS ortamından elde edildiğini belirtmişlerdir. Kara ve Baydar (2012) ise *L. angustifolia* var. Silver ve *L. x intermedia* var. Süper A çeşitleri ile yapmış oldukları mikroçoğaltım çalışmasında, sürgün ucu eksplantından rejenere olan lavanta sürgünlerinde köklenme için MS besin ortamına naftalen asetik asit (NAA) ilave etmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada *in vitro* da 6-7 alt kültür sonucunda oluşan bazı *Lavandula* spp. çeşitlerine ait mikrosürgünlerine üç farklı konsantrasyonda IBA uygulandığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda köklenme ilk kez bir ay sonunda görülürken köklenme oranı bütün

konsantrasyonlarında %15'in altında rapor edilmiştir (Ural 2021).

Sonuç olarak, *in vitro* ortamda yapılan köklendirme çalışmalarında IBA kullanımının mevsimsel uygunluk beklemeden erken dönemde alınan lavanta çeliklerinde köklenmeyi hızlandırdığı saptanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada kullanılan lavanta çeliklerinin temini için Prof. Dr. Canan SAĞLAM'a (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü) 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

- Arabaci O, Bayram E, Baydar H, Tahsin AFS, Ozay N 2007. Chemical Composition, Yield and Contents of Essential Oil of *Lavandula hybrida* Reverchon Grown Under Different Nitrogen Fertilizer, Plant Density and Location. Asian Journal of Chemistry 19(3): 2184.
- Arslanoğlu F, Albayrak Ö 2011. Farklı IBA Dozlarının Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve Lavanta (*Lavandula angustifolia* spica) Gövde Çeliklerinin Köklenmesi Üzerine Etkileri. Türkiye 9. Tarla Bitkileri Kongresi, Bildiri Kitabı, 12-15 sy.
- Aslanca H, Sarıbaş R 2011. Lavanta Yetiştiriciliği. Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayın No: 41.
- Ayanoğlu F, Mert A, Kaya DA 2000. The Effects of Different Locations and Hormone Doses on the Rooting of Cuttings of Karabaş Lavender (*Lavandula stoechas* L.) Grown in the Flora of Hatay. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 24(5): 607-610.
- Baydar H, Erbaş S 2007. Effects of Harvest Time and Drying on Essential Oil Properties in Lavandin (*Lavandula x intermedia* emeric ex loisel.). I. International Medicinal and Aromatic Plants Conference on Culinary Herbs, Antalya, Turkey, 826, pp. 377-382.
- de Bona CM, Masetto MAM, Deschamps C, Biasi LA 2012. Rooting Induction of Different *Lavandula angustifolia* Accessions by Auxin Application. Semina: Ciências Agrárias 33(1): 175-182.
- Gonçalves S 2013. *Anabela romano In Vitro* Culture of Lavenders (*Lavandula* spp.) and The Production of Secondary Metabolites. Biotechnology Advances

- 31(2): 166-174.
- Güler Y 2018. Ormanların İhmal Edilen Canlıları: Yabani Arılar. Doğal Afetler ve Çevre Dergisi 4: 32-37.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies FT, Geneve RL 2002. Plant Propagation: Principles and Practices. 7th edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- İzgi M N 2020. Farklı IBA (İndol-3-Bütirik Asit) Dozları ve Köklendirme Ortamlarının Bazı Tıbbi Bitkilerin Köklenmesi Üzerine Etkileri. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi 7(1): 9-16.
- Lawrence BM 1994. Essential Oils. Allured Publishing Corporation, Wheaton, IL.
- Kara N, Baydar H, Erbaş S 2011. Farklı Çelik Alma Dönemleri ve IBA Dozlarının Bazı Tıbbi Bitkilerin Köklenmesi Üzerine Etkileri. Derim 28(2): 71-81.
- Kara N, Gürbüz G, Baydar H 2019. A Study on Vase Life of Dry Bundle Flower in Lavender. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 6(4): 822-825.
- Kara N, Baydar H 2012. Effects of Different Explant Sources on Micropropagation in Lavender (*Lavandula* sp.). Journal of Essential Oil Bearing Plants 15(2): 250-255.
- Kirimera N, Mokhtarzadeh S 2017. Phytochemical Profiling of Volatile Components of *Lavandula Angustifolia* Miller Propagated Under *In Vitro* Conditions. Industrial Crops and Products 96(2017):120-125.
- Korkunc M 2018. Research of Lavender Plant Propagation in the Province of Diyarbakir. Middle East Journal of Science 4: 58-65.
- Kumar N, Sreeja KV 1996. Effect of Growth Regulator on The Rooting Ability of Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.). Indian Perfumer 40(3): 93-94.
- Muñoz-Bertomeu J, Arrillaga I, Segura J 2007. Essential Oil Variation Within and Among Natural Populations of *Lavandula Latifolia* and Its Relation to Their Ecological Areas. Biochemical Systematics and Ecology 35(8): 479-488.
- Özcan GG, Arabacı O, Öğretmen NG 2013. Lavanta (*Lavandula hybrida*)'nın Köklenmesi Üzerine Farklı Hormon Dozları ve Köklendirme Ortamlarının Etkisi. Türkiye V. Süs Bitkileri Kongresi, 2013, 529 sy.
- Pasqual M, Chalfun NNJ, Ramos JD, Vale MD, Silva CDRE 2001. Fruticultura Comercial: Propagação de Plantas Frutíferas. Lavras: UFLA/Faepe, 137.
- Pistelli L, Najar B, Giovanelli S, Lorenzini L, Tavarini S, Angelini LG 2017. Agronomic and Phytochemical Evaluation of Lavandin and Lavender Cultivars Cultivated in the Tyrrhenian Area of Tuscany (Italy). Industrial Crops and Products 109: 37-44.
- Sánchez-Gras MC, del Carmen Calvo M 1996. Micropropagation of *Lavandula latifolia* Through Nodal Bud Culture of Mature Plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 45(3): 259-261.
- Simon JE, Chadwick AF, Craker LE 1984. Herbs, an Indexed Bibliography, 1971-1980. Elsevier.
- Snedecor GW, Cochran WG 1982. Statistical Methods. 7th edition. Iowa: The Iowa State University Press.
- Sonmezdag AS, Kelebek H, Selli S 2017. Identification of Aroma Compounds of Lamiaceae Species in Turkey Using the Purge and Trap Technique. doi:10.3390/foods6020010.
- Ural Y 2021. Ticari Önemi Yüksek Bazı Lavanta (*Lavandula* spp.) Çeşitlerinin *in vitro* Mikroçoğaltım Özelliklerinin Araştırılması. Şırnak Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 63 sy.

Schefflera arbuticola (Hayata) Merr.Bitkisinin Çelikle Çoğaltılmasında Farklı Yetiştirme Ortamları ile Oksinlerin ve Konsantrasyonların Etkisi

Bekir Erol AK^{1*}, Adil FİDANCI², İbrahim Halil HATİPOĞLU³

¹Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa,^{2,3}Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Şanlıurfa

¹<https://orcid.org/0000-0001-6938-942X>,²<https://orcid.org/0000-0002-5324-3087>,³<https://orcid.org/0000-0002-7236-4976>

✉: beak@harran.edu.tr

ÖZET

Peyzaj ve süs bitkiler yetiştiriciliği; dış mekân, iç mekân ve kesme çiçekçilik başlıkları altında incelenmektedir. İç mekân süs bitkileri diğer iki sınıfın gerisinde kalmıştır. Bu çalışmada, bir iç mekân bitkisi olan ve çelikle çoğaltılmasında bir takım sorunlar yaşanan *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. bitkisinin çoğaltımında değişik yetiştirme ortamlarının ve büyümeyi düzenleyici hormonların etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 6 farklı yetiştirme ortamı (kum:perlit:toprak, torf:perlit, kum:perlit, torf, kum ve perlit), 2 farklı oksin (Indol-3-Bütirik Asit ve Naftalin Asetik Asit) ve bu oksinlerin 5 değişik konsantrasyonu (0, 50, 100, 250 ve 500 ppm) kullanılmıştır. Elde edilen bulgulara göre; yetiştirme ortamları bakımından en yüksek köklenme yüzdesi (%44.00±1.003) torf ortamında belirlenmiştir. Uygulanan iki farklı büyümeyi düzenleyici maddeden IBA hormonu p<0.05 düzeyinde %50.40±0.337 oranında köklenme sağlamıştır. Ayrıca oksin uygulamasına göre en yüksek köklenme oranı yaklaşık %42.00 olarak kontrol grubunda tespit edilmiştir. Yetiştirme ortamı ile oksin konsantrasyonunun köklenme oranı ise, torf:perlit ortamında kontrol grubundaki çeliklerde yaklaşık %76.00 olarak saptanmıştır.

Bahçe Bitkileri

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 11.06.2021

Kabul Tarihi : 02.11.2021

Anahtar Kelimeler

Schefflera arbuticola (Hayata) Merr.
İç Mekan Süs Bitkileri
Oksin
Köklendirme ortamı
Çelik

The Effect of Different Growing Media, Auxins and Concentrations on the Propagation of the *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr.by Cuttings

ABSTRACT

Landscape and ornamental plant cultivation is studied under the headings of outdoor, indoor and cut floriculture. Indoor ornamental plants lagged behind the other two classes. In this research, *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. The effects of different growing media and growth regulating hormones on the reproduction of the plant were investigated. The effects of different growing media and growth-regulating hormones on the reproduction of the plant were investigated. In the study, 6 different growing media (sand: perlite: soil, peat: perlite, sand: perlite, peat, sand, and perlite), 2 different auxins (Indol-3-Butyric Acid and Naphthalene Acetic Acid), and 5 different concentrations of these auxins (0, 50, 100, 250 and 500 ppm) were used. According to the findings obtained; In terms of growing media, the highest rooting percentage (44.00±1.003) was determined in peat media. Of the two different growth regulators applied, IBA hormone provided 50.40±0.337% rooting at p<0.05 level. In addition, the highest rooting rate was determined as approximately 42.00% in the control group according to the auxin application. The rooting rate of the growing medium and auxin concentration was approximately 76.00% in the control group in peat:perlite ratio.

Horticulture

Research Article

Article History

Received : 11.06.2021

Accepted : 02.11.2021

Keywords

Schefflera arbuticola (Hayata) Merr.
Indoor Ornamental Plants
Auxins
Growing medium
Cutting

To Cite : Ak BE, Fidancı A, Hatipoğlu İH 2022. The Effect of Different Growing Media, Auxins and Concentrations on the Propagation of the *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. by Cuttings. KSU J. Agric Nat 25(5): 1023-1027. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogu.vi.951082>

GİRİŞ

Günümüzde kentsel yeşil alanların azalması ve 2020 yılı ile beraber ortaya çıkan pandemi koşulları sebebi neticesinde ev ve bahçelerde bitki yetiştiriciliğine olan ilginin artması ile peyzaj ve süs bitkilerinin değeri artmıştır. Süs bitkileri dünyada geniş bir ticaret hacmine sahiptir. Gelişmiş ülkelerin yanında gelişmekte olan pek çok ülke de ekolojik faktörler ve ucuz işgücü olanaklarını süs bitkileri yetiştiriciliğinde kullanarak özellikle kesme çiçek yetiştiriciliğinde önemli adımlar atmışlardır (Ak ve ark., 2021).

Peyzaj ve süs bitkileri; dış mekan süs bitkileri, kesme çiçekçilik ve iç mekan süs bitkileri olarak temelde 3 ayrı başlık altında incelenmektedir. Süs bitkileri üretim miktarı 2019 yılına nazaran %3,5 oranında azalmıştır. Süs bitkileri üretimi içindeki paylar incelendiğinde kesme çiçekler %60,9, diğer süs bitkileri ise %39,1'lik bir paya sahiptir. Dış mekân süs bitkileri üretimi bir önceki yıla göre %3,6 oranında artarken, kesme çiçek üretimi %7,7, iç mekân süs bitkileri üretimi %6,2 oranında azalmıştır (Anonim, 2020). Söz konusu verilere de bakıldığında iç mekân süs bitkisi yetiştiriciliği yıllara göre gerilemektedir. Buna rağmen iç mekan süs bitkileri havayı temizleme yetenekleri ve zorlu iç ortamlara toleransı gibi faktörler ile dünya çapındaki popülerliğini daha da artırmaktadır.

İç mekân süs bitkilerinden çoğu çelikle veya dip sürgünlerden ayırma yöntemi ile çoğaltılmaktadır. *Dieffenbachia*, *Yucca*, *Croton*, *Clathea* ve *Ficus* gibi iç mekân süs bitkilerinin çelikle çoğaltımında bariz bir sorun yaşanmazken *Schefflera arbuticola* bitkisinin üretiminde belli bir çoğaltma yönteminin belirlenmemesi ile seri üretimi konusunda bir takımsorunlar yaşanmaktadır. *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. bitkisi yaygın olarak tohum ile yetiştirilmektedir (Griffith, 1998; Chen at al., 2002; Baghbidi and Jowkar, 2018). Bununla beraber dip sürgünlerinden ayırma yöntemi ile de çoğaltılmaktadır (Gilman ve Watson, 1994). Köklenme oranını arttırmak ve işlemi çabuklaştırmak için genelde odunsu bitki çeliklerine oksin uygulamaları yapılmaktadır. Çeliklerde köklerin meydana gelmesinin teşvik edilmesinde, IAA, IBA ve NAA maddeleri kullanılmaktadır. Ayrıca odunsu bitki çeliklerinin köklendirilmesinde çeşitli köklendirme ortamları kullanılmaktadır. Ortam olarak; kum, perlit, vermikulit, Sphagnum yosunu ve bunların kombinasyonları kullanılmaktadır (Tanrıverdi, 1993).

Schefflera sp., Araliaceae familyasının bir üyesi olup anavatanı Büyük Okyanus'taki üç büyük ada öbeğinden biri olan Polinezya'dır. Bununla beraber

Schefflera cinsinin 50'den fazla türü; Çin, Vietnam ve Tayvan'da yayılış göstermektedir (Ohashi, 1993; Ho, 2000; Dinh ve Le, 2019). Herdem yeşil, 7-9-11 yaprakçığı bulunan şemsiye görünümünde yapraklı, çalı formunda bitkilerdir. Doğada 200'e yakın türü bulunan *Schefflera* cinsinin iç mekân süs bitkisi sektöründe en yaygın kullanılan türlerinden biri *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr.'dir. Gelişme döneminde 15-21°C, kışın 10-13°C sıcaklığa gereksinim duymak ile beraber 7°C sıcaklığın altında büyüme ve gelişmede sorunlar yaşamaktadır. Ortalama nem isteği %70-75 olarak belirlenmiştir (Oral, 1991).

Peyzaj ve süs bitkisi olarak son derece değerli olan *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. bitkisinin aynı zamanda yapraklarından ve saplarından elde edilen uçucu yağların [β -karyofililen (% 23.05), limonen (% 14.90), karyofil oksit (% 13.97), α -humulen (% 8.41), spathulenol (% 6.00), β -küben (5.60 %) karyofilen oksit (% 29.21), spathulenol (% 10.30) ve humulen epoksit II (% 6.27)] antimikrobiyal etkileri olduğu da tespit edilmiştir (Dinh ve Le, 2019).

Bu çalışmanın; bir iç mekan süs bitkisi olarak yaygın kullanılan *Schefflera arbuticola* bitkisinin seri üretimi için bir veri olacağı düşünülmektedir. Bu doğrultuda; *Schefflera arbuticola* bitkisinden alınan çeliklerin köklendirilmesinde yaşanan olumsuzlukların ortadan kaldırılması ve üretimin yaygınlaştırılmasını sağlamak ve için farklı yetiştirme ortamları ve oksinler kullanılarak köklenme yüzdeleri belirlenmiştir.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Çalışmada bitkisel materyal olarak *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. bitkisi kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan bitkisel materyale ait yeşil çelikler, iç mekan koşullarında yetişmiş sağlıklı bitkilerden Kasım ayı başında, homojen olarak alınmıştır.

Metod

Schefflera arbuticola (Hayata) Merr. bitkisinden alınan gövde, tepe, yaprak ve yaprak-göz çelikleri; ilgili literatürlerin (Başal ve ark., 1991; Tanrıverdi, 1993; Genç, 1995) köklenme için önerdiği 50, 100, 250 ve 500 ppm'lik oksin (Indol-3-Bütirik Asit ve Naftalin Asetik Asit) çözeltileri uygulanmıştır. Homojen olarak belirlenmiş bitkilerin tepe ve orta kısımları 10-15 cm'lik mesafe belirlenerek kesilmiş, altta bulunan yapraklar temizlenmiş ve üzerinde 2 veya 3 yaprak bırakılarak yeşil çelikler hazırlanmıştır.

Deneme 4 tekerrür ve her tekerrürde 25 adet çelik

olacak şekilde kurulmuştur. İstatistiksel analizler tesadüf parselleri deneme desenine göre hesaplanmış, elde edilen ortalamalar LSD (Asgari Önemli Fark) %1 seviyesinde karşılaştırılmıştır.

Köklenme ortamları PVC çimlendirme kasalarına doldurulmuş, kullanılacak çelikler sağlıklı bitkiler üzerinden en az bir yaprak bulunacak şekilde 7-8 cm boylarında alınmıştır. Alınan çeliklere; 50, 100, 200 ve 500 ppm konsantrasyonlarında IBA ve NAA çözeltileri uygulanmış ve 3 cm derinliğe dikim

yapılmıştır. Dikim işleminin ardından sisleme şeklinde su verilmiştir. Çalışma süresinde ortalama sıcaklık; en düşük 8°C, en yüksek 25°C olarak ölçülmüş, ortamın nemi yaklaşık %60-70 arasında tutulmuştur.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Araştırmada kullanılan IBA ve NAA oksinlerinin uygulandığı çelikler 6 farklı ortama dikilmiş, elde edilen köklenme oranları Çizelge 1’de verilmiştir.

Table 1. Effects of different substrate and Auxins concentrations on rooting rates (%) of cuttings

Çizelge 1. Farklı yetiştirme ortamları ve oksin uygulamalarının çeliklerin köklenme oranı (%) üzerine etkisi

Ortam (Media)	IBA	NAA	Ortalama (Average)
Kum-Perlit-Toprak (1:2:1) <i>Sand-Perlite-Soil (1:2:1)</i>	00.00 ± 0.000 ^f	00.00 ± 0.000 ^d	00.00 ± 0.000 ^d
Kum-Perlit (1:1) <i>Sand-Perlite (1:1)</i>	19.20 ± 0.210 ^d	14.40 ± 0.217 ^c	16.80 ± 0.521 ^d
Torf-Perlit (1:1) <i>Peat-Perlite (1:1)</i>	36.80 ± 0.286 ^b	39.20 ± 0.239 ^a	38.00 ± 0.702 ^b
Kum <i>Sand</i>	11.20 ± 0.200 ^e	14.40 ± 0.217 ^c	12.80 ± 0.419 ^d
Perlit <i>Perlite</i>	28.00 ± 0.234 ^c	21.00 ± 0.180 ^b	24.50 ± 0.617 ^c
Torf <i>Peat</i>	50.40 ± 0.337 ^a	37.60 ± 0.304 ^a	44.00 ± 1.003 ^a
Ortalama (Average)	24.00	21.20	-

LSD (0.01) IBA: 6.422; LSD (0.01) NAA: 6.422; LSD (0.01) Ort: 4.541

Elde edilen verilere göre; IBA uygulanan çeliklerde en yüksek köklenme oranı (%50.40) torf ortamından elde edilmiştir. NAA uygulanan çeliklerde ise en yüksek oran %39.20 ile Torf-Perlit (1:1) ortamında sağlanmıştır.

Altı adet yetiştirme ortamına dikilen çeliklerin

değişik oksin ve dozlarının ortalaması alındığında köklenme oranlarında farklılıklar tespit edilmiştir. Bu doğrultuda kullanılan IBA konsantrasyonları ve yetiştirme ortamlarının çeliklerin köklenmeleri üzerine etkileri Çizelge 2’de verilmiştir.

Table 2. Effects of different substrate and IBA concentrations on rooting rates (%) of cuttings

Çizelge 2. Farklı yetiştirme ortamları ve IBA konsantrasyonlarının çeliklerin köklenme oranı (%) üzerine etkisi

Ortam Media	IBA Konsantrasyonu					Ortalama Average
	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm	0 ppm	
Kum-Perlit-Toprak (1:2:1) <i>Sand-Perlite-Soil (1:2:1)</i>	0.00 ± 0.000 ^d	0.00 ± 0.000 ^d	0.00 ± 0.000 ^d	0.00 ± 0.000 ^d	0.00 ± 0.000 ^d	0.00
Kum-Perlit (1:1) <i>Sand-Perlite (1:1)</i>	14.70 ± 0.250 ^c	21.75 ± 0.550 ^{bc}	15.20 ± 0.890 ^{bc}	15.80 ± 0.740 ^b	31.70 ± 0.750 ^c	19.83
Torf-Perlit (1:1) <i>Peat-Perlite (1:1)</i>	39.25 ± 0.310 ^b	33.00 ± 0.710 ^b	25.00 ± 0.690 ^b	32.10 ± 1.210 ^a	79.20 ± 0.510 ^a	41.71
Kum (<i>Sand</i>)	11.75 ± 0.190 ^{cd}	14.20 ± 0.690 ^c	5.70 ± 1.090 ^c	12.00 ± 1.110 ^{bc}	29.75 ± 1.090 ^c	14.68
Perlit (<i>Perlite</i>)	29.00 ± 0.615 ^b	15.75 ± 0.915 ^c	19.75 ± 1.115 ^{bc}	23.00 ± 0.905 ^{ab}	46.00 ± 0.990 ^b	26.70
Torf (<i>Peat</i>)	49.20 ± 0.410 ^a	46.25 ± 0.710 ^a	41.00 ± 0.570 ^a	23.20 ± 1.150 ^{ab}	79.20 ± 0.750 ^a	44.77
Ortalama (Average)	28.78	26.19	21.33	21.22	53.17	-

LSD(0.01) Ortam x Konsatr: 11.415

Çizelge 2’ye göre; herhangi bir oksinin kullanılmadığı kontrol grubunda (0 ppm) en yüksek köklenme oranları (%79.20) tespit edilmiş, söz konusu yetiştirme ortamlarının Torf-Perlit ve Torf içerdiği belirtilmiştir. Kum-Perlit-Toprak (1:2:1) yetiştirme ortamında ise hiçbir çelikte köklenme gözlenmemiştir. Bu araştırmanın ışığında; söz konusu bitkinin çelikle çoğaltma çalışmalarında yetiştirme

ortamı istekleri farklılık göstermektedir.

NAA konsantrasyonları ve yetiştirme ortamlarının çeliklerin köklenmeleri üzerine etkileri Çizelge 3’te verilmiştir.

Çizelge 2 ve 3 incelendiğinde IBA uygulamalarında NAA uygulamasına göre nispeten yüksek köklenme oranları tespit edilmiş, konsantrasyonların istatistiksel değerlendirmesinde benzer sonuçlara

ulaşmıştır. Çizelge 2 ve 3'te yer alan veriler neticesinde; Kum-Perlit-Toprak karışımına dikilen çeliklerde ise IBA ve NAA uygulamalarından da köklenme gözlemlenmemiştir. IBA çözeltisinin uygulandığı çeliklerin köklenme yüzdeleri incelendiğinde; en düşük oran (%5.70) ile 500 ppm'lik konsantrasyonun uygulandığı kum ortamında, en yüksek oran ise %79.20 ile 0 ppm'lik

konsantrasyonun uygulandığı torf ve torf-perlit ortamlarında tespit edilmiştir. NAA çözeltisinin uygulandığı çeliklerde ise en yüksek köklenme yüzdesi torf ve torf perlit karışımına dikilen ve 0 ppm konsantrasyonda (%72.80), en düşük köklenme yüzdesi (%2.30) kum ortamına dikilen ve 250 ppm konsantrasyon uygulanan çeliklerde tespit edilmiştir.

Table 3. Effects of different substrate and NAA concentrations on rooting rates (%) of cuttings

Çizelge 3. Farklı yetiştirme ortamları ve NAA konsantrasyonlarının çeliklerin köklenme oranı (%) üzerine etkisi

Ortam (Media)	NAA Konsantrasyonu					
	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm	0 ppm	Ortalama Average
Kum-Perlit-Toprak (1:2:1) <i>Sand-Perlite-Soil (1:2:1)</i>	0.00±0.000 ^d	0.00±0.000 ^d	0.00±0.000 ^d	0.00±0.000 ^d	0.00±0.000 ^d	0.00
Kum-Perlit (1:1) <i>Sand-Perlite (1:1)</i>	9.30±0.780 ^c	14.25±1.050 ^{bc}	8.80±1.290 ^{bc}	12.20±0.840 ^b	24.30±0.650 ^c	13.77
Torf-Perlit (1:1) <i>Peat-Perlite (1:1)</i>	28.75±1.250 ^b	23.00±0.910 ^b	19.00±1.610 ^b	27.90±1.610 ^a	72.80±0.910 ^a	34.29
Kum (<i>Sand</i>)	8.25±1.090 ^{cd}	9.80±0.990 ^c	2.30±0.690 ^c	8.00±1.060 ^{bc}	26.25±1.290 ^c	10.92
Perlit (<i>Perlite</i>)	23.00±0.715 ^b	12.25±1.315 ^c	17.25±0.315 ^{bc}	17.00±0.605 ^{ab}	42.00±1.090 ^b	22.30
Torf (<i>Peat</i>)	42.80±0.910 ^a	33.75±0.810 ^a	35.00±0.970 ^a	16.80±1.310 ^{ab}	72.80±0.615 ^a	40.23
Ortalama (Average)	22.42	18.61	16.47	21.22	47.63	-

LSD (0.01) Ortam x Konsatr:8.892

Araştırmada kontrol grubundan yani herhangi bir oksin uygulaması yapılmayan çeliklerden en yüksek köklenme oranının (%42.00) elde edilmesi dikkat çekici bir sonuçtur. Denemede 500 pm doz uygulamasında en düşük köklenme oranı (%15.66) tespit edilirken, en yüksek köklenme oranı (%42.00) hiçbir hormon ilave edilmemiş kontrol grubunda gözlemlenmiştir. Özbek (1971)'e göre; IBA ve NAA uygulanan *Pashisandra terminalis*, *Leycesteria formosa* ve *Murandia sp.* bitkilerinde söz konusu oksinlerin serbest asitlere göre daha dominant olduğu, diğer türlerde ise etkisiz kaldığı veya köklenmeye engel olduğu belirtilmiştir.

Farklı yetiştirme ortamlarına dikilen çeliklerin hormon konsantrasyonlarına göre köklenme oranları incelendiğinde Kum-Perlit-Toprak ortamında hiçbir konsantrasyonda köklenme sağlanmamıştır. Torf-Perlit ortamında ve sadece torf bulunan ortamda en yüksek köklenme oranı hormon uygulanmamış çeliklerden elde edilmiştir. Bu doğrultuda; *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. bitkisinin yetiştirme ortamında torf bulunması gerektiği belirtilmiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Süs bitkisi yetiştiriciliği sektöründe bitki çoğaltım metotlarında birtakım sorunlar yaşanmakta, bitkilerin uygun çoğaltım tekniklerinin belirlenmesi son derece önemli bir hal almaktadır. Bu kapsamda; çalışmada iç mekan süs bitkisi olarak yaygın

kullanılan *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. bitkisinin çelikle çoğaltımında en uygun yetiştirme ortamı (Torf – Perlit), uygun oksin konsantrasyonları belirlenmiştir.

Denemede çeliklere oksin uygulanmış, NAA çözeltisi uygulanan çeliklerin köklenme oranları, IBA uygulanan çeliklerin köklenme oranına ve istatistiki değerlere oldukça yakın bulunmuştur. Elde edilen bulgulara göre; IBA uygulaması yapılan çeliklerden en yüksek köklenme oranı (%50.40) ile sadece torf bulunan yetiştirme ortamında tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen veriler ışığında; *Schefflera arbuticola* (Hayata) Merr. bitkisinin köklendirme aşamalarında yetiştirme ortamında torf kullanılmasının olumlu olduğu belirlenmiştir.

Odunsu bitkilerin çelikle çoğaltımında oksinlerin köklenme oranını arttırdığının bilinmesine rağmen çalışmada en yüksek köklenme kontrol gruplarında tespit edilmiş, söz konusu hormonların köklenme üzerine olumlu bir etki oluşturmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

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

- Ak BE, Hatipoglu IH, Dikmetas B 2021. Propagation of Fruit Trees. Recent Headways in Pomology (Edited by: M.Pakyurek) Chapter 3, June, Ankara-Turkey, (ISBN: 978-625-7562-09-6): 55-92.
- Anonim 2020. Türkiye İstatistik Kurumu. Bitkisel Üretim İstatistikleri, <https://tuikweb.tuik.gov.tr/HbPrint.do?id=33737>.
- Baghbidi OR, Jowkar A 2018. Micropropagation of Dwarf *Schefflera* [*Schefflera arboricola* (Hayata) Merr.] via Direct Shoot Regeneration. Advances in Horticultural Science 32(2): 205-212.
- Başal M, Çelem H, Yazgan ME, Perçem H, Haleplioğlu N 1991. Süs Bitkileri Üretim Tekniği, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, 354 sy.
- Chen J, Henny RJ, McConnell DB 2002. Development of New Foliage Plant Cultivars. In: JANICK J., and A. WHIPKEY (eds.) Trends in new crops and new uses. AHS Press, Alexandria, USA, pp. 466-472.
- Dinh TN, Le TN 2019. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from the Leaves and Stems of *Schefflera arboricola* (Hayata) Merr. Collected in Vietnam. Journal of Essential Oil Bearing Plants 22 (5): 1401-1406.
- Genç M 1995. Bitki Yetiştirme ve Plantasyon Tekniği. KTÜ Orman Fakültesi Peyzaj Mimarlığı Bölümü Ders Tezsirleri, 46, Trabzon, 286 sy.
- Gilman EF, Watson DG 1994. *Schefflera arboricola*, Fact Sheet ST-586. - A Series of The Environmental Horticulture Department, Florida Cooperative Extension Service, University of Florida, Florida, USA, pp. 1-3.
- Griffith LP 1998. Tropical Foliage Plants: A Grower's Guide. - Ball Publishing, Batavia, USA, pp. 318.
- Ohashi H 1993. Araliaceae, In: HUANG T.(ed.) Flora of Taiwan 3. Editorial Committee of the Flora of Taiwan, Taipei, Taiwan, pp. 1002.
- Oral N 1991. Süs Bitkileri Kitabı. Çevre Limited Şirketi, Bursa Özsan Fabrikası, 2.Baskı, 146 sy.
- Özbek S 1971. Hormonlar ve Çeliklerin Köklenmeleri II. Hormonlar ve Bağ-Bahçe Ziraatı (Çeviri). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, 418 (145): 23-117.
- Tanrıverdi F 1993. Kesme, Saksı ve Bahçe Çiçeklerinin Çoğaltılması IV. Çiçek Üretim Tekniği, İnkılâp Yayınevi, İstanbul, 99-109.

Hizan İlçesi (Bitlis) Papilionoidea ve Hesperioidea Faunası

Evren AKBABA¹, Kesran AKIN²

¹Bitlis Eren Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Bitlis, ²Bitlis Eren Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bitlis

¹<https://orcid.org/0000-0001-6078-4511>, ²<https://orcid.org/0000-0003-2921-948X>

✉: evrenkbb@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada Bitlis ilinin Hizan ilçesinde Papilionoidea ve Hesperioidea (Lepidoptera) üst familyalarına ait faunistik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 23 lokaliteden toplanan 937 örnek incelenmiştir. Çalışma sonucunda 7 familyaya ait toplam 101 tür tespit edilmiştir. Bu türlerden Hizan ilçesi için 84 tür, Bitlis ili için ise 3 tür (*Pseudochazara* (s.str.) *mniszechii*, *Carcharodus* (*Lavatheria*) *stauderi*, *Eogenes alcides*) yeni kayıt niteliğindedir. Ayrıca çalışmada, bazı lokalitelerin ve bazı türlere ait ergin bireylerin resimleri de sunulmuştur.

Entomoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 26.04.2021

Kabul Tarihi : 29.10.2021

Anahtar Kelimeler

Papilionoidea
Hesperioidea
Fauna
Hizan
Bitlis

Papilionoidea and Hesperioidea Fauna of Hizan District (Bitlis)

ABSTRACT

In this research, a faunistic study was carried out in Hizan district of Bitlis province on Papilionoidea and Hesperioidea superfamilies. In the study, 937 samples collected from 23 localities were examined. As a result of the study, a total of 101 species belonging to 7 families were identified. Of these, 84 species for Hizan district and 3 species (*Pseudochazara* (s.str.) *mniszechii*, *Carcharodus* (*Lavatheria*) *stauderi*, *Eogenes alcides*) for Bitlis province are new records. In addition, pictures of some localities and adult individuals belonging to some species are also presented in the paper.

Entomology

Research Article

Article History

Received : 26.04.2021

Accepted : 29.10.2021

Keywords

Papilionoidea
Hesperioidea
Fauna
Hizan
Bitlis

Atf Şekli: Akbaba E, Akın K 2022. Hizan İlçesi (Bitlis) Papilionoidea ve Hesperioidea Faunası. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1028-1035. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.928366>

To Cite : Akbaba E, Akın K 2022. Papilionoidea and Hesperioidea Fauna of Hizan District (Bitlis). KSU J. Agric Nat 25 (5): 1028-1035. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.928366>

GİRİŞ

Kelebek ve güvelerden oluşan Lepidoptera takımı Zeugloptera, Aglossata, Heterobathmiina ve Glossata olmak üzere 4 alttakıma ayrılmaktadır. Bunlardan ilk üçü ilkel güve gruplarını oluşturmakta ve herbiri yalnızca tek familya içermekte olup takımın geriye kalan 122 familyası Glossata alttakımı içerisinde yer almaktadır. Lepidoptera takımına ait dünyada yaklaşık 156.100 tür tanımlanmış ve bu sayının 255.000 civarında bir sayıya ulaşması beklenmektedir. Kelebekler 23.500 tür ile bilinen bütün lepidopterlerin yaklaşık % 9 gibi bir oranını temsil etmektedir (Heppner, 2008).

Türkiye'de bugüne kadar 9 familya içerisinde 412

kelebek türü belirlenmiş olup Bitlis ilinden ve Hizan ilçesinden sırası ile 204 ve 21 tür bilinmekteydi (Koçak, 2017; Koçak ve Kemal, 2018; Kemal ve ark., 2020). Son yıllarda Türkiye'de Lycaenidae (Papilionoidea) familyasından yeni türler tanımlanmıştır. Kemal ve Koçak (2013) *Polyommatus nazugum* türünü Kahramanmaraş ilinden, Seven (2014) *Neolycaena soezen* türünü Eskişehir ilinden ve Carbonell (2015) *Polyommatus alibalii* türünü ise Kahramanmaraş ilinden tanımlamışlardır.

Hizan ilçesi oldukça engebeli bir arazi yapısına sahiptir. İlçenin doğusunda Bahçesaray ve Gevas (Van), güney ve güneybatıda Pervari (Siirt), kuzeyde ise Tatvan (Bitlis) ilçeleri yer almaktadır. İlçe

Güneydoğu Toros kıvrım dağlarının doğu bölümünde yer almaktadır. Bölgedeki en yüksek nokta Gözeli Dağı'nın Gözeli Doruğu'dur (3103 m). Bunun dışında Avaberhan Tepesi (2903 m), Kırhaçın Tepe (2729 m), Haşteri Dağı (2650 m), Büyükelesor Dağı (2550 m), Uçtepe (2255 m), Bahnovan Tepe (2395 m), Babaşih Tepe (224 m) ve Banur Tepe (2013 m) bölgedeki diğer önemli yükseltilerdir (Behçet, 1994). Altan ve Behçet (1994) bölgede 627 bitki taksonu tespit etmişlerdir.

Bu çalışma daha önce kelebekler üzerine kapsamlı bir çalışmanın yapılmadığı Bitlis ilinin Hizan ilçesinde yürütülmüş olup, Papilionoidea ve Hesperioidea üstfamilyalarına ait kelebek faunası belirlenmeye çalışılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Çalışma Bitlis ilinin Hizan ilçesi sınırları içerisinde 2018-2020 yılları, Nisan-Ekim ayları arasında yürütülmüştür. Atrap yardımıyla yakalanan örnekler, içerisinde naftalin bulunan kutularda muhafaza edilmiş ve daha sonra örnekler teşhis işlemi için standart müze materyali haline getirilmiştir. Bu işlem için örnekler yumuşatma kaplarında örneklerin yumuşama sürelerine uygun olarak 1-2 gün bekletilmiş ve yumuşayan örnekler

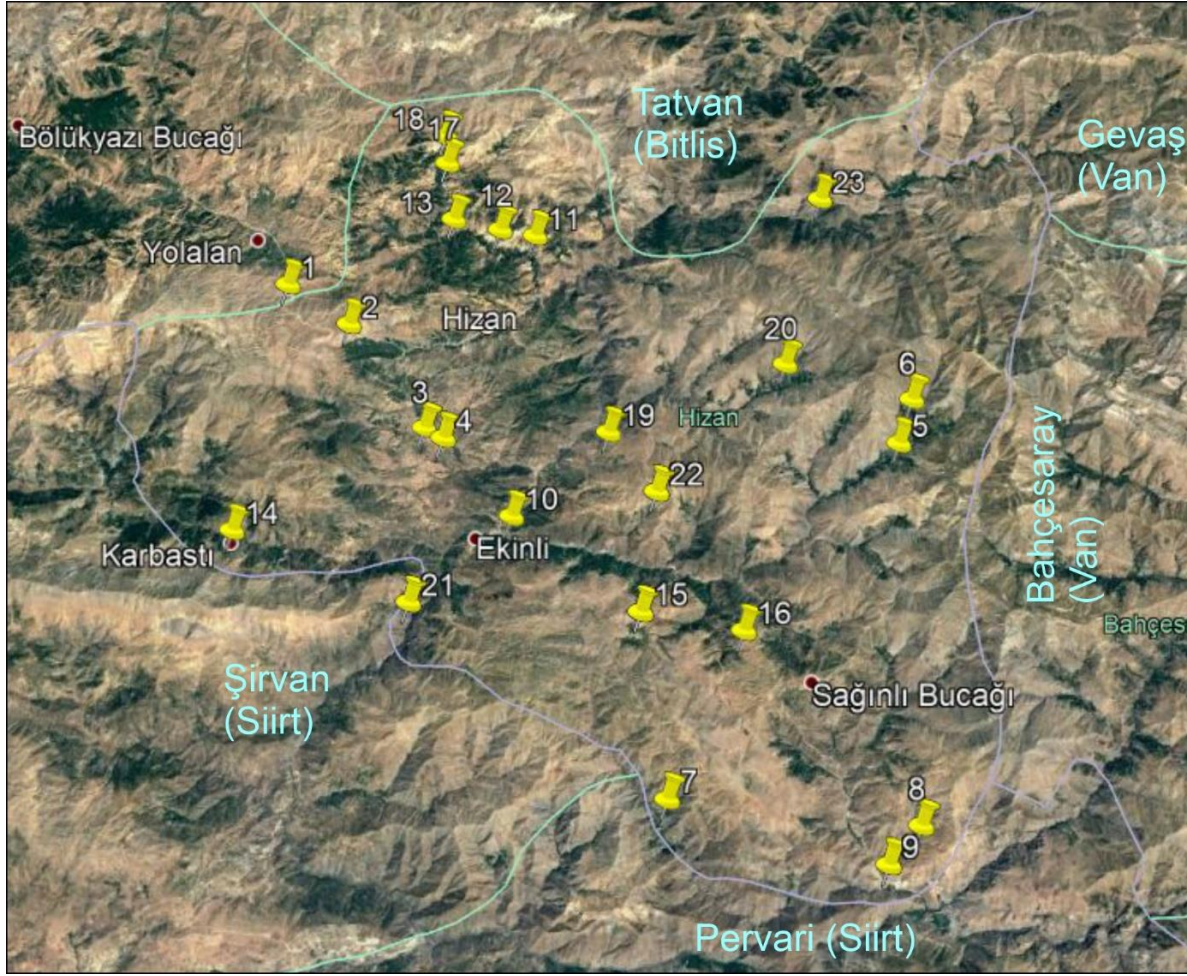
böcek iğneleri ile iğnelenerek gerilmeye hazır hale getirilmiştir. Germe işlemi sırasında pens, aydıngeç kağıdı, germe tahtası ve germe iğneleri kullanılmıştır. Gerilen örnekler yaklaşık bir hafta süreyle güneş almayan bir yerde bekletilerek kurumaları sağlanmıştır. Kuruyan örnekler germe tahtalarından çıkarılarak lokalite bilgileri ve tarihlerinin bulunduğu etiketlerle etiketlenmiştir.

Örneklerin tür düzeyinde teşhis işlemlerinde ana kaynak olarak Hesselbarth ve ark. (1995)'nin Türkiye kelebekleri çalışması kullanılmıştır. Bu çalışmanın yanı sıra, Higgins (1941), Baytaş (2007), Eckweiler ve Bozano (2016) ve Tshikolovets (2011)'in çalışmaları ile Ziegler (2005-2019), Martin (2020), Rowlings (2003-2020) ve Lepiforum e.V., (2020) gibi internet sitelerinden de faydalanılmıştır. Ayrıca Bitlis Eren Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Laboratuvarında bulunan koleksiyon örnekleri de teşhis işlemlerinde karşılaştırma materyalleri olarak kullanılmıştır.

Hizan ilçesinde arazi çalışmaları 23 lokalitede yürütülmüş olup lokalitelere ait bilgiler aşağıda belirtildiği gibidir (Şekil 1). Lokalite numaraları Şekil 2'deki harita üzerinde aynı numaralar ile işaretlenerek belirtilmiştir.



Şekil 1. Bazı çalışma lokalitelerine ait resimler, a. Panor Geçidi, b. Ballı Köyü, c. Harmandöver Köyü, d. Nurs Köyü.
Figure 1. Pictures of some study localities, a. Panor Pass, b. Ballı Village, c. Harmandöver Village, d. Nurs Village



Şekil 2. Çalışma lokaliteleri (Anonim, 2021)
Figure 2. Studying localities (Anonim, 2021)

1. Panor Geçidi (38°14'30" K 42°19'14"D, 1870 m).
2. Darinus, Altınoluk Mahallesi (Ekinciler Alabalık Tesisi) (38°13'22"K 42°21'07"D, 1660 m).
3. Gayda (Merkez) (38°10'36"K 42°23'21"D, 1270 m).
4. Gayda, Yolbaşı Mezrası (38°10'19"K 42°23'55"D, 1205 m).
5. Nurs Köyü (38°09'08"K 42°38'15"D, 1915 m).
6. Yukarı Çallı Köyü (38°10'12"K 42°38'46"D, 2010 m).
7. Ballı Köyü (38°00'57"K 42°30'23"D, 1300-1400 m).
8. Döküktaş Beldesi, Kayaş Mezrası (37°59'49"K 42°38'00"D, 1445 m).
9. Hacı Mehmet Köyü (37°58'59"K 42°36'55"D, 984 m).
10. Nazar Köprüsü (38°08'12"K 42°25'58"D, 1070 m).
11. Horozdere Köyü (38°15'21"D 42°27'06"D, 1427 m).
12. Süttaş Köyü (38°15'34"K 42°26'00"D, 1484 m).
13. Budaklı Köyü (38°15'56"K 42°24'32"D, 1532 m).
14. Karbastı Köyü, Koçlu Mezrası (38°08'22"K 42°17'19"D, 1500-1600 m).
15. Oymapınar Köyü (38°05'29"K 42°29'55"D, 1828 m).
16. Bölüklü Köyü (38°04'49"K 42°33'03"D, 1818 m).
17. Yedikardeş Mezrası, Aladana Yaylası (38°17'26"K 42°24'24"D, 1673 m).
18. Aladana'yı geçtikten sonra merkez yayla (38°18'09"K 42°24'23"D, 1780 m).
19. Akşar Köyü, Hakif Mezrası (38°10'04"K 42°29'10"D, 1595 m).
20. Ürünveren Köyü, Yapağan Mezrası (38°11'23"K 42°34'52"D, 1864 m).
21. İçlikaval Köyü (38°15'17"K 42°22'41"D, 1625 m).
22. Harmandöver Köyü (38°08'26"K 42°30'36"D, 805 m).
23. Kolludere'ye Varmadan 2. Köprü (38°15'41"K 42°36'20"D, 1545 m).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışma boyunca toplanan 937 örneğin değerlendirilmesi sonucunda Papilionoidea ve Hesperioidea üstfamilyalarına ait 7 familya içerisinde 101 tür belirlenmiştir. Aşağıda verilen listede Hizan ilçesi için yeni kayıt olan türler "*", Bitlis ili için yeni

kayıt olan türler ise “**” ile gösterilmiştir.

Üstfamilya Papilionoidea

Familya Argynnididae (=Nymphalidae auct.)

- Argynnis (Fabriciana) niobe* (Linnaeus, 1758)*
Argynnis (Pandoriana) pandora ([Denis & Schiffermüller], 1775)*
Argynnis (Speyeria) aglaja (Linnaeus, 1758)*
Argynnis (s.str.) paphia (Linnaeus, 1758)*
Brenthis daphne (Bergsträsser, 1780)*
Issoria lathonia (Linnaeus, 1758)*
Melitaea (Cinclidia) phoebe (Goeze, 1779)*
Melitaea (Didymaeformis) perseae Kollar, [1849]*
Melitaea (s.str.) arduinna (Fabricius, 1787)*
Polygonia (Comma) c-album (Linnaeus, 1758)*
Polygonia (Comma) egea (Cramer, [1775])*
Vanessa (Cynthia) cardui (Linnaeus, 1758)*
Vanessa (s.str.) atalanta (Linnaeus, 1758)*

Familya Libytheidae

- Libythea (s.str.) celtis* (Laicharting, 1782)*

Familya Lycaenidae

- Callophrys rubi* (Linnaeus, 1758)*
Celastrina argiolus (Linnaeus, 1758)
Cigaritis acamas (Klug, 1834)*
Glaucopsyche (Iolana) lessei Bernardi, 1964*
Glaucopsyche (s.str.) alexis (Poda, 1761)
Lampides boeticus (Linnaeus, 1767)*
Lycaena (Alciphronia) alciphron (Rottemburg, 1775)
Lycaena (Heodes) virgaureae (Linnaeus, 1758)*
Lycaena (Loweia) tityrus (Poda, 1761)*
Lycaena (Thersamonia) asabinus (Gerhard, [1850])*
Lycaena (Thersamonia) kefersteinii (Gerhard, [1850])*
Lycaena (Thersamonia) thetis (Klug, 1834)*
Lycaena (s.str.) phlaeas (Linnaeus, 1761)*
Plebejus (Kretania) carmon (Gerhard, [1851])*
Plebejus (Plebejides) zephyrinus (Christoph, 1884)
Plebejus (s.str.) argus (Linnaeus, 1758)*
Polyommatus (Albulina (Plebejidea)) loewii (Zeller, 1847)*
Polyommatus (Aricia (Ultraaricia)) crassipunctus (Christoph, 1893)*
Polyommatus (Aricia (s.str.)) agestis ([Denis & Schiffermüller], 1775)
Polyommatus (s.str. (Agrodiaetus (Admetusia)) alcestis (Zerny, 1932)*
Polyommatus (s.str. (Agrodiaetus (Admetusia)) demavendi (Pfeiffer, 1938)*

- Polyommatus (s.str. (Agrodiaetus (Antidolus)) menalcas* (Freyer, [1837])*

- Polyommatus (s.str. (Agrodiaetus (Transcaspius)) turcicus* (Koçak, 1977)* (Şekil-3a-b)

- Polyommatus (s.str. (Lysandra)) bellargus* (Rottemburg, 1775)

- Polyommatus (s.str. (Meleageria)) daphnis* ([Denis & Schiffermüller], 1775)*

- Polyommatus (s.str. (Plebicula)) amandus* (Schneider, 1792)*

- Polyommatus (s.str. (Sublysandria)) aedon* (Christoph, 1877)*

- Polyommatus (s.str. (Thersitesia)) thersites* (Canterer, [1835])*

- Polyommatus (s.str.) icarus* (Rottemburg, 1775)

- Pseudophilotes vicrama* (Moore, 1865)*

- Satyrium (Nordmannia) abdominalis* (Gerhard, [1850])*

- Satyrium (Nordmannia) armenum* (Rebel, 1901)*

- Satyrium (Nordmannia) zabni* Oorschot & Brink, 1991 (Tez çalışmasında *Satyrium (Nordmannia) acaciae* (Fabricius, 1787) olarak teşhis edilmişti.)

- Turanana endymion* (Freyer, [1850])

Familya Papilionidae

- Zerynthia (Allancastris) deyrollei* (Oberthür, 1869)*

Familya Pieridae

- Anthocharis cardamines* (Linnaeus, 1758)*

- Aporia (s.str.) crataegi* (Linnaeus, 1758)

- Colias (Eriocolias) crocea* (Fourcroy, 1785)

- Gonepteryx (s.str.) farinosa* (Zeller, 1847)*

- Leptidea duponcheli* (Staudinger, 1871)*

- Leptidea sinapis* (Linnaeus, 1758)*

- Pieris (Artogeia) ergane* (Geyer, [1828])*

- Pieris (Artogeia) manni* (Mayer, 1851)*

- Pieris (Artogeia) persis* Verity, 1922* (Şekil-3c-d)

- Pieris (Artogeia) pseudorapae* Verity, 1908*

- Pieris (Artogeia) rapae* (Linnaeus, 1758)*

- Pieris (s.str.) brassicae* (Linnaeus, 1758)*

- Pontia chloridice* (Hübner, [1813])*

- Pontia edusa* (Fabricius, 1777)*

Familya Satyridae

- Brintesia circe* (Fabricius, 1775)*

- Chazara (s.str.) briseis* (Linnaeus, 1764)*

- Coenonympha (s.str.) leander* (Fabricius, 1787)*

- Coenonympha (s.str.) pamphilus* (Linnaeus, 1758)*

- Coenonympha (s.str.) saadi* (Kollar, [1849])

- Esperarge (s.str.) clymene* (Fabricius, 1787)

- Hipparchia (Neohipparchia) statilinus* (Hufnagel, 1766)*

Hipparchia (s.str.) syriaca (Staudinger, 1871)*

Hyponephele (s.str.) lupina (Costa, [1836])*

Hyponephele (s.str.) lycaon (Rottemburg, 1775)*

Kirinia (Melike) roxelana (Cramer, [1777])*

Lasiommata maera (Linnaeus, 1758)*

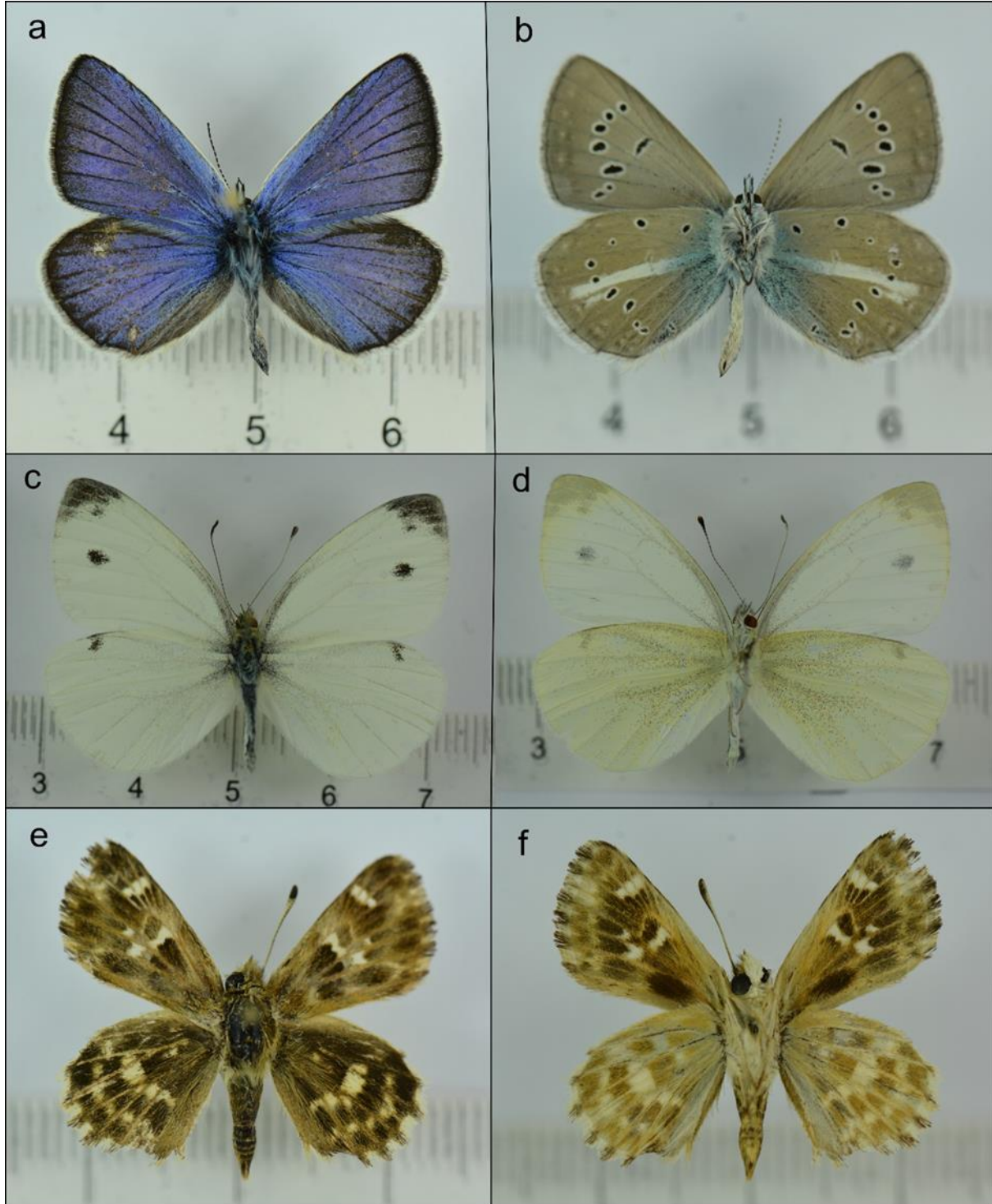
Lasiommata megera (Linnaeus, 1767)*

Maniola (Telmessiola) telmessia (Zeller, 1847)

Maniola (s.str.) jurtina (Linnaeus, 1758)*

Melanargia (Turcargia) grumi Standfuss, 1892*

Melanargia (Turcargia) hylata (Ménétriés, 1832)*



Şekil 3. Bazı kelebeklere ait resimler, a-b. *Polyommatus turcicus* (♂), a. Dorsal, b. Ventral, c-d. *Pieris persis* (♂), c. Dorsal, d. Ventral, e-f. *Carcharodus stauderi* (♂), e. Dorsal, f. Ventral.

Figure 3. Pictures of some butterflies, a-b. *Polyommatus turcicus* (♂), a. Dorsal, b. Ventral, c-d. *Pieris persis* (♂), c. Dorsal, d. Ventral, e-f. *Carcharodus stauderi* (♂), e. Dorsal, f. Ventral.

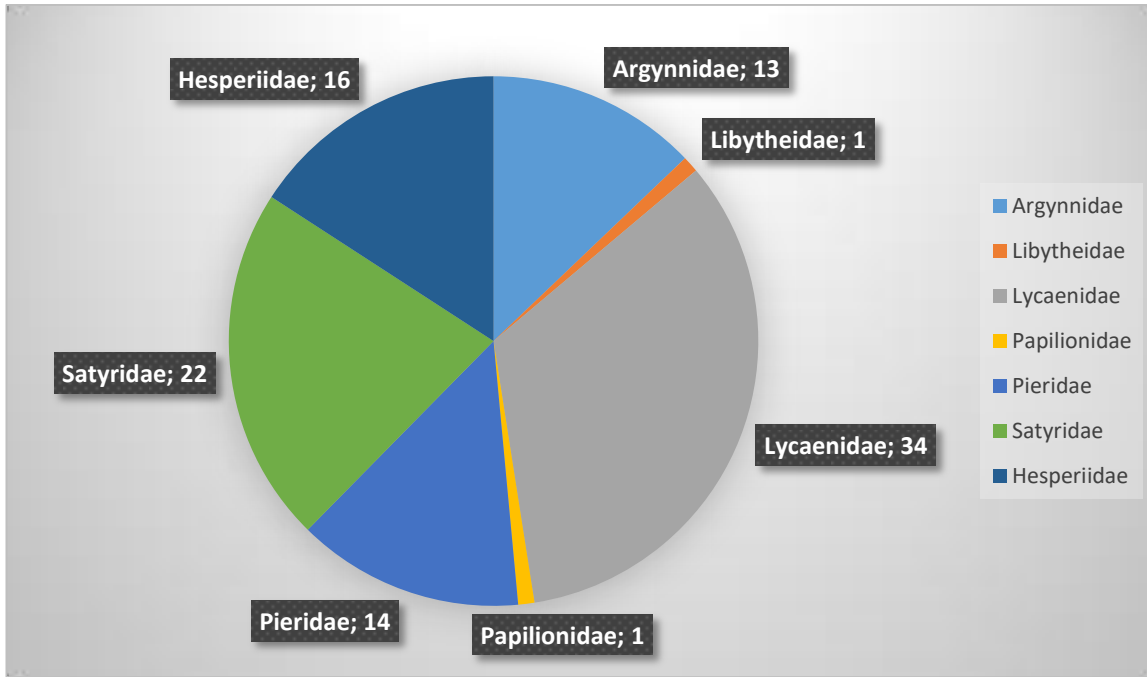
Melanargia (Turcargia) syriaca (Oberthür, 1894)*
Pararge aegeria (Linnaeus, 1758)*
Pseudochazara (s.str.) beroe (Freyer, [1843])*
Pseudochazara (s.str.) mniszecii (Herrich-Schäffer, [1851])**
Pseudochazara (s.str.) pelopea (Klug, 1832)*
Üstfamilya Hesperioidea
Familya HesperIIDae
Carcharodus (Lavatheria) lavatherae (Esper, [1783])*
Carcharodus (Lavatheria) stauderi Reverdin, 1913** (Şekil-3d-f)
Carcharodus (Reverdinus) orientalis Reverdin, 1913*
Carcharodus (s.str.) alceae (Esper, [1780])*
Eogenes alcides Herrich-Schäffer, [1852]**
Erynnis (s.str.) tages (Linnaeus, 1758)*
Muschampia poggei (Lederer, 1858)*
Muschampia proteides (F.Wagner, 1929)*
Ochlodes venatus (Bremer & Grey, [1852])*

Pyrgus armoricanus (Oberthür, 1910)*
Pyrgus cinarae (Rambur, [1839])*
Pyrgus melotis (Duponchel, [1834])*
Spialia (Neospialia) orbifer (Hübner, [1823])
Spialia (s.str.) phlomidis (Herrich-Schäffer, [1845])*
Thymelicus lineolus (Ochsenheimer, 1808)
Thymelicus sylvestris (Poda, 1761)

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışma sonucunda Hizan (Bitlis) ilçesinde Papilionoidea ve Hesperioidea üst familyalarına ait 7 familya içerisinde toplam 101 tür tespit edilmiştir.

Alanda Lycaenidae familyası 34 tür ile en fazla tür içeren familya, Papilionidae ve Libytheidae familyaları ise en az tür (1 tür) içeren familyalar olmuştur. Satyridae, HesperIIDae, Pieridae ve Argynnidae familyaları ise sırasıyla 22, 16, 14 ve 13 tür ile temsil edilmişlerdir (Şekil 4).



Şekil 4. Türlerin familyalara göre dağılımı
Figure 4. Distribution of species by families

Çalışmadan önce Bitlis ilinden 204 ve Hizan ilçesinden 21 tür bildirilmiştir (Koçak, 2017; Kemal ve ark., 2020). Bu çalışmada Hizan ilçesi için 84 tür, Bitlis ili için ise 3 tür (*Pseudochazara (s.str.) mniszecii*, *Carcharodus (Lavatheria) stauderi*, *Eogenes alcides*) yeni kayıttır. Çalışmanın sonucu olarak Bitlis ilindeki tür sayısı 207'ye, Hizan ilçesindeki tür sayısı ise 105'e yükselmiştir. Koçak ve Kemal (2018)'in çalışmasına göre *Pseudochazara (s.str.) mniszecii* türü Güneydoğu Anadolu bölgesi

dışında Türkiye genelinde, *Eogenes alcides* türü Marmara bölgesi dışında Türkiye genelinde, *Carcharodus (Lavatheria) stauderi* türü ise Türkiye'nin bütün bölgelerinden yayılışı bildirilmiştir. Daha önce Hizan ilçesinde varlığı bilinen *Celastrina argiolus*, *Glaucopsyche (s.str.) alexis*, *Lycaena (Alciphronia) alciphron*, *Plebejus (Plebejides) zephyrinus*, *Polyommatus (Aricia (s.str.)) agestis*, *P. (s.str. (Lysandra)) bellargus*, *P. (s.str.) icarus*, *Satyrium (Nordmannia) zabni*, *Turanana*

endymion, *Aporia (s.str.) crataegi*, *Colias (Eriocolias) crocea*, *Coenonympha (s.str.) saadi*, *Esperarge (s.str.) clymene*, *Maniola (Telmessiola) telmessia*, *Spialia (Neospialia) orbifer*, *Thymelicus lineolus* ve *T. sylvestris* türleri çalışma alanında yeniden tespit edilmiştir. *Limnitis (Azuritis) reducta*, *Melitaea*

(s.str.) cinxia, *Parnassius (Driopa) mnemosyne* ve *Hyponephele (s.str. (Turaninephele)) wagneri* türleri ise Hizan ilçesinde daha önce belirlenmiş olup, bu çalışmada tespit edilememiştir (Koçak, 2017; Kemal ve ark., 2020) (Çizelge 1).

Çizelge 1. Çalışma öncesi ve çalışma sonrası Hizan ilçesi kelebek türlerinin familyalara göre dağılımı

Table 1. The distribution of Hizan district butterfly species by families before and after the study

Familyalar	Çalışma öncesi tür sayısı (Kemal ve ark. (2020)'e göre)	Çalışmadaki tür sayısı	Çalışma sonrası tür sayısı	Hizan ilçesi için yeni tür sayıları	Bitlis ili için yeni tür sayıları
Argynniidae	2	13	15	13	-
Libytheidae	-	1	1	1	-
Lycaenidae	9	34	34	25	-
Papilionidae	1	1	2	1	-
Pieridae	2	14	14	12	-
Satyridae	4	22	23	19	1
Hesperiidae	3	16	16	13	2
Toplam	21	101	105	84	3

Çok zengin bir flora, habitat ve topoğrafyaya sahip olan Hizan ilçesinde (Behçet, 1994; Altan ve Behçet, 1994) daha kapsamlı arazi çalışmaları ile tür sayısına yeni katkılar sunulabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Arazi çalışmalarında katkı sunan Dr. İbrahim DEMİR'e (Bitlis Eren Üniversitesi) teşekkür ederiz.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Bu çalışma, Doç. Dr. Kesran AKIN'nın danışmanlığında Evren AKBABA'nın Bitlis Eren Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında kabul edilen Yüksek Lisans Tezinden üretilmiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- Altan Y, Behçet L 1994. Hizan (Bitlis) Florası. Tr. J. of Botany 19 (3): 331-344.
- Anonim 2021. Google Earth Pro. <https://www.google.com.tr/intl/tr/earth/download/gp/agree.html> (Alınma Tarihi: 05.02.2021).
- Baytaş A 2007. A Field Guide to the Butterflies of Turkey. NTV Yayınları, 218 sy.
- Behçet L 1994. Hizan (Bitlis) Vegetasyonu. Tr. J. of Botany 18: 289-303.
- Carbonell F, 2015. Un nouvel *Agrodiaetus* de Turquie (Lepidoptera, Lycaenidae). Bulletin de la Société entomologique de France, 120 (4): 463-464.

- Eckweiler W, Bozano GC, 2016. Guide to the Butterflies of the Palearctic Region: Lycaenidae 4: Subfamily Polyommatainae, Tribe Polyommataini, Genus Polyommatus, Subgenus *Agrodiaetus*. Omnes Artes, Milano, 1-132.
- Heppner JB, 2008. Butterflies and Moths. [In] John L. Capinera. Encyclopedia of Entomology. Springer, 626-672.
- Hesselbarth G, Van Oorschot H, Wagener S, 1995. Die Tagfalter der Türkei unter Berücksichtigung der angrenzenden Länder. Verlag Goecke & Evers, Bochum, Vol. 1+2: 1-1354, Vol. 3: 1-847.
- Higgins LG, 1941. An Illustrated Catalogue of The Palearctic Melitaea (Lep. Rhopalocera). Trans. R. Ent. Soc. Lond., 91 (7): 175-365.
- Kemal M, Kızıldağ S, Koçak AÖ, 2020. Updated faunistic list of the Lepidoptera of Bitlis Province (East Turkey) based on the info-systems of the Cesa with some information on the projects. Priamus, 18 (4): 156-252.
- Kemal M, Koçak AÖ, 2013. Notes on the subgenus *Polyommatus (Neolysandra)* Koçak in East Turkey, with descriptions of new taxa (Lycaenidae, Lepidoptera). Cent. ent. Stud., Misc. Pap., 160: 5-6.
- Koçak AÖ, 2017. Code List Of The World For The Current Cesa Projects. <http://www.cesa-tr.org/> (Erişim tarihi: 10.01.2021).
- Koçak AÖ, Kemal M, 2018. A synonymous and distributional list of the species of the Lepidoptera of Turkey. Centre for Entomological Studies, Memoirs, 8: 1-487.
- Lepiforum e.V., 2020. Lepiforum: Bestimmung von Schmetterlingen (Lepidoptera) und ihren Präimaginalstadien. <http://www.lepiforum.de/> (Erişim tarihi: 18.11.2020).

- Martin A, 2020. Home Page Of The Carcharodus Project (Lepidoptera: Hesperiiidae). <http://www.carcharodus.ch/Welcome.html> (Erişim tarihi: 15.12.2020).
- Rowlings M, 2003-2020. euroButterflies. <http://www.eurobutterflies.com/index.php?region=EU> (Erişim tarihi: 08.10.2020).
- Seven S, 2014. A new species of blue from Turkey, *Neolycaena soezen* Seven, sp. n. (Lepidoptera: Lycaenidae). SHILAP Revta. lepid., 42 (166): 311-317.
- Tshikolovets, V. V., (2011). Butterflies of Europe and Mediterranean area. Tshikolovets Publications, 1-544.
- Ziegler H, 2005-2019. Schmetterlinge der paläarktischen Region. <http://www.euroleps.ch/index.php> (Erişim tarihi: 21.12.2020).

Determination of Lethal Effects of Some Entomopathogenic Fungi on Different Biological Stages of *Leptinotarsa decemlineata* Say

Havva Merve UYSAL¹, Ozan DEMİRÖZER^{2*}, Asiye UZUN YİĞİT³

^{1,2,3}Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Isparta-Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-2891-3170>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7240-8898>, ³<https://orcid.org/0000-0002-4822-4762>

✉: ozandemirozer@isparta.edu.tr

ABSTRACT

The lethal effects of *Beauveria bassiana* BIM-001 (1×10^6 spore mL⁻¹, 1×10^7 spore mL⁻¹, 1×10^8 spore mL⁻¹), *Fusarium subglutinans* 12A (obtained from cotton aphid in Adana-Karataş) and the commercial preparation of 1.5% *B. bassiana* strain Bb-1 (250 mL da; 1×10^8 spore mL⁻¹) (Nostalgist SL) on *Leptinotarsa decemlineata* were investigated. The isolates were applied to the eggs, larvae (1st, 2nd, 3rd, and 4th larval stages) and adults of *L. decemlineata* by spraying in laboratory conditions ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ relative humidity and 16:8 [L: D] photoperiod). The observations to determine the lethal effect of isolates were performed up to 9 days for the eggs and larvae, and 21 days for the adults of *L. decemlineata* following the first spore suspension application. In the experiments conducted on the larval stages, it was determined that the mortality rates due to all entomopathogenic fungus isolates and at different concentrations were significantly different from the mortality rate of the control. The effect of all spore concentrations of *B. bassiana* BIM-001 was found significantly higher than other treatments and the mortality rates were 100% for all larval stages ($P < 0.05$). In addition, the mortality rates were between 4 and 16% for adults across all treatment groups except for the control. Moreover, it has been determined that each three spore concentrations of *B. bassiana* BIM-001 also suppressed the egg hatching of *L. decemlineata* by 55 to 60%

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 27.04.2021

Accepted : 02.10.2021

Keywords

Colorado potato beetle

Biological control

Mycopesticide

Pest

Bazı Entomopatojen Fungusların *Leptinotarsa decemlineata* Say'nin Farklı Biyolojik Dönemleri Üzerindeki Ölümcül Etkilerinin Belirlenmesi

ÖZET

Isparta patates üretim alanlarında bulunan patates böceği erginlerinden elde edilen *Beauveria bassiana* BIM-001 (1×10^6 spor mL⁻¹, 1×10^7 spor mL⁻¹, 1×10^8 spor mL⁻¹), Adana-Karataş pamuk yaprakbitinde bulunan *Fusarium subglutinans* 12A ve 1.5% *Beauveria bassiana* strain Bb-1 (250 mL da; 1×10^8 spor mL⁻¹) (Nostalgist SL)'in püskürtme yöntemi ile *Leptinotarsa decemlineata*'nın ergin, larva (1., 2., 3., ve 4. larva) ve yumurtalarına ölüm etkileri laboratuvar koşullarında ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ nem ve 16:8 fotoperiyot) araştırılmıştır. Entomopatojen fungusların farklı yaşam dönemleri üzerindeki öldürücü etkilerinin belirlenmesi amacıyla gözlemler ilk spor süspansiyonu uygulamasını takip eden 3., 5., 7. ve 9. günlerde gerçekleştirilmiştir. Larva dönemlerinde yapılan deneylerde, tüm entomopatojen fungusların ve spor konsantrasyonlarının etkisinin kontrolden farklı olduğu, *B. bassiana* BIM-001'in farklı spor konsantrasyonlarının etkisi diğerlerinden önemli ve tüm larva dönemleri için ölüm oranlarının %100 olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$). Ek olarak, kontrol dışındaki tüm denemelerde erginlerde ölüm oranları %4 ile %16 arasında bulunmuştur. Ayrıca, *B. bassiana* BIM-001'in her üç spor konsantrasyonunun da *L. decemlineata*'nın yumurtadan çıkmasını %55 ila 60 oranında baskıladığı tespit edilmiştir.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 27.04.2021

Kabul Tarihi : 02.10.2021

Anahtar Kelimeler

Patates böceği

Biyolojik kontrol

Mikopestisit

Zararlı

To Cite : Uysal HM, Demirözer O, Uzun Yiğit A 2022. Determination of lethal effects of some entomopathogenic fungi on different biological stages of *Leptinotarsa decemlineata* Say. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1036-1041. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.928869>.

Atf İçin: Uysal HM, Demirözer O, Uzun Yiğit A 2022. Bazı Entomopatojen Fungusların *Leptinotarsa decemlineata* Say'nın Farklı Biyolojik Dönemleri Üzerindeki Ölümcül Etkilerinin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1036-1041. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.928869>.

INTRODUCTION

Leptinotarsa decemlineata Say (Coleoptera: Chrysomelidae), Colorado potato beetle, is known to cause significant economic damages in many plants belonging to Solanaceae family in the World. This beetle is a polyphagous pest feeding on many plants including potato, eggplant, tomato, pepper and some weeds (Hsiao, 1978; Hare, 1990). It was reported that the most suitable host for this pest is *Solanum tuberosum* L. (potato) (Atak, 1973; Kekillioğlu and Yılmaz, 2018). Chemical management has been almost the only method for controlling this pest for about last 50 years (Kedici et al., 1998; Erdoğan and Toros, 2010). Negligent use of the pesticides is not only detrimental to human health but it also causes a tremendous negative effect on non-target organisms (Topuz, 2005; Nieder et al., 2018; Kılıç, 2019; Saha et al., 2021). Efforts for the protection of nontarget organisms from the destructive effects of pesticides have led scientists to search organisms in nature to be used for plant protection purposes. The studies on the subject revealed that the entomopathogenic fungi with around 700 known species were the most suitable organisms for these purposes. Fungi species such as *Beauveria bassiana* (Bals) Vull. (Ascomycota: Cordycipitaceae), *Metarhizium anisopliae* (Metsch) (Ascomycota: Clavicipitaceae), *Isaria fumosorosea* Wize (Ascomycota: Clavicipitaceae) and *Lecanicillium* (Verticillium) *lecanii* R. Zare & W. Gams, 2001 (Ascomycota: Cordycipitaceae) have been used commonly as biocontrol agent for pest control (Rath, 2000; Luangsa et al., 2005). *B. bassiana*, in particular, is used for controlling of many agricultural pests including *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) and *L. decemlineata* (Coleoptera) (Kılıç and Yıldırım, 2008; Alves et al., 2002). In addition, *Fusarium subglutinans* (Ascomycota: Nectriaceae) attracting attention with its effectiveness in aphids and thrip species such as *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) (Erkılıç et al., 1999; Mailhot et al., 2007; Demirözer et al., 2010; Arıcı et al., 2012; Demirözer et al., 2015; 2016).

In current study, the effectiveness of *B. bassiana* BIM-001, *F. subglutinans* 12A and *B. bassiana* strain Bb-1 isolates on egg, 1st, 2nd, 3rd and 4th stage larvae and adults of *L. decemlineata* was investigated under laboratory conditions.

MATERIALS and METHODS

Materials

Colorado potato beetles (*L. decemlineata*) were

collected from Isparta potato production areas. BIM-001 isolate of *B. bassiana*, obtained from Isparta potato production areas, 12A isolate of *F. subglutinans* isolated from *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) collected in the cotton production areas of Adana-Karataş, and Nostalgist (*B. bassiana* strain Bb-1, Agrobets Group Inc.) was purchased. The BIM-001 isolate was used at three different spore concentrations (1x10⁶, 1x10⁷, 1x10⁸ spore mL⁻¹), yet, 12A isolate and Nostalgist used in the concentrations of 1x10⁶ spore mL⁻¹ and 1x10⁸ spore mL⁻¹, respectively.

Methods

Preparation of *Beauveria bassiana* BIM-001 and *Fusarium subglutinans* 12A isolates

First, *B. bassiana* BIM-001 and *F. subglutinans* 12A isolates were cultured on potato dextrose agar (PDA) medium and incubated for 10 days at 25 °C in dark conditions. Then the spore suspensions of each isolate were diluted with sterile water, Tween 20 (0.1%) was added and the spores were counted via thoma slide under the microscope at 10× magnification (Nikon Eclipse E100). In this study, spore suspensions and concentrations were prepared according to method of Uzun et al. (2019). Spore viability was determined by measuring the rate of spore germination (Herlinda, 2010).

Application of entomopathogenic fungi to different life stages of *Leptinotarsa decemlineata*

The isolates of entomopathogenic fungi were sprayed with an apparatus capable of misting to different life stages of potato beetles with 1 atm pressure for 7 seconds (0.3 ml cm²). The beetles were treated with sterile water only for the control group. The study was designed as a completely randomized plot design. The egg treatments were 10 replications and 10 eggs were used for each replication. The treatments were 5 replications for 1st, 2nd, 3rd, and 4th instar larvae and adults, and 10 individuals were used for each replication.

Egg treatments

The potato leaves obtained from rearing cages and containing a certain number of eggs were transferred to plastic Petri dishes (6 cm) containing a pre-moistened filter paper. The isolates were applied to the eggs by the spraying method as previously described.

Larvae and adult treatments

The different larvae stages and adult individuals of the Colorado potato beetle obtained from rearing boxes were transferred to plastic boxes (500 mL) with ventilation holes after being treated with the entomopathogenic fungus isolates depending on treatments in the study. Each of plastic boxes containing all life stages of the pest treated with all entomopathogenic fungus isolates separately were kept in 2 L plastic polyethylene bags for 48 hours. All experiments were conducted in the controlled chambers (26 ± 1 °C temperature, $65 \pm 5\%$ humidity, and 16: 8 L: D photoperiod). The numbers of dead and alive organisms were determined until all died. Following applications, the observations were conducted on the 3, 5, 7, and 9th day for eggs and larvae, and 3, 5, 7, 14, and 21th days for the adults. The dead individuals were transferred to empty sterile. The re-isolation was made on the dead individuals were to determine whether the death was caused by entomopathogenic fungi. The beetles in the trials were fed with the potato plants materials (Agria variety) grown in the pots.

Statistical analysis

The SPSS 20.0 software was used for the statistical analyses of the data obtained. The one-way ANOVA analysis was performed to determine the effects of entomopathogenic fungus isolates on the mortality rates of *L. decemlineata* after arcsine transformation was applied to data and tested for normality before analysis. The p-value less than 0.05 was considered significant in all statistical tests.

RESULTS and DISCUSSION

Whereas the mortality rate of *L. decemlineata* adults

treated with entomopathogenic fungus isolates was different from the control, however, the differences between them were not statistically significant ($P > 0.05$) in each (Table 1). The results revealed that entomopathogenic fungi used in the study showed limited lethal effects on *L. decemlineata* adults. The highest mortality rate (16%) was detected in the beetles treated with the spore concentrations 1×10^8 spore mL^{-1} ($P = 0.02$, $F = 1.793$) and 1×10^6 spore mL^{-1} ($P = 0.03$, $F = 2.211$) of BIM isolate. The mortality rates were 12% in 1×10^8 spore mL^{-1} ($P = 0.04$, $F = 3.014$) of BIM isolate, and 8% and 4% in the Nostalgist and *F. subglutinans* 12A, respectively. Various studies in the literature have been reported the effectiveness of entomopathogenic fungi on the Colorado potato beetle adults varied. For instance, the mortality rates of *L. decemlineata* adults when treated with *B. bassiana* isolates ranged from 56% to 100%. Öztürk et al. (2015) determined that all adult beetles were killed with the use of three different *B. bassiana* isolates. It is known that entomopathogenic fungi of different genera and species have varying lethal effects on pests in certain families of Coleoptera. It has been reported that *B. bassiana*, *I. fumosorosea*, *I. farinosa*, *L. muscarium*, and *Paecilomyces farinosus* isolates caused death at the species belonging to Tenebrionidae belonging Coleoptera by 34% to 56% (Komaki et al., 2017). The study by Öz (2019) supported these results reporting that the lethal activity of three different isolates of *B. bassiana* was promising on *Sitophilus oryzae*, *Rhizopertha dominica* and *Oryzaephilus surinamensis*. However, it was determined that the mycopesticide and entomopathogenic fungi used in the current study did not show similar lethal effects on the adult of Colorado potato beetles, and the mortality rate was between 4 and 16%.

Table 1. Mortality rates (%) of *Leptinotarsa decemlineata* Say adults after 21 days in different applications
 Çizelge 1. *Leptinotarsa decemlineata* Say erginlerinde uygulamalardan 21 gün sonra belirlenen ölüm oranları (%)

Treatments	N	Mortality Rates (%) ± S.E.
Control	50	0 ± 0.00 b
Nostalgist (1×10^8 spore mL^{-1})	50	8 ± 4.60 a
<i>Fusarium subglutinans</i> 12A (1×10^6 spore mL^{-1})	50	4 ± 5.23 a
<i>Beauveria bassiana</i> BIM-001 (1×10^6 spore mL^{-1})	50	16 ± 7.14 a
<i>Beauveria bassiana</i> BIM-001 (1×10^7 spore mL^{-1})	50	12 ± 5.12 a
<i>Beauveria bassiana</i> BIM-001 (1×10^8 spore mL^{-1})	50	16 ± 3.36 a

a, b: Values followed by different letters in the same column are different ($P < 0.05$)

The lethal effect of all fungus isolates was statistically different from the control for all larval stages. Although the effect of *B. bassiana* BIM-001 was different from those of *F. subglutinans* and *Nostalgist*, the difference was not statistically significant. In addition, the isolate concentration had no statistical effect on the mortality rate ($P > 0.05$). The mortality rates were between 16% (the 1st larva stage subjected to 1×10^6 spore concentration $P = 0.02$, $F = 1.723$) and 32% (the 4th larva stage subjected to

1×10^8 spore concentration $P = 0.04$, $F = 1.916$) on the 3 days after the application. The highest mortality rate was recorded for the 3rd larva stage in the 1×10^8 spore concentration on the 7 DAA. It changed between 70 and 90% in different spore concentrations for other larval stages. It was determined that all spore concentrations of *B. bassiana* BIM-001 isolate were effective against all larval stages, and provided 100% mortality on the 7 DAA. In addition, 1×10^8 spore concentration of *B. bassiana* BIM isolate showed the

lethal effect in a relatively shorter time on the 3rd and 4th larvae, providing mortality rates of 90 and 94% on the 7 DAA, respectively. The lethal effects of *F. subglutinans* 12A and Nostalgist were not significantly different for the first two larval stages. Moreover, these two fungus isolates were found more

effective for the 4th larva stage on the 9 DAA compared to the mortality rates detected on the other observation days. The mortality rates of *F. subglutinans* 12A and Nostalgist were 76 and 84%, respectively (Table 2).

Table 2. Mortality rates (%) determined after 9 days in different larval stages of *Leptinotarsa decemlineata* Say in different applications

Çizelge 2. *Leptinotarsa decemlineata* Say'in farklı larva dönemlerinde farklı uygulamalarda 9 gün sonunda belirlenen ölüm oranları (%)

Treatments	Mortality Rates (%) ± S.E. of Larvae			
	1 st Stage	2 nd Stage	3 rd Stage	4 th Stage
Control	0 ± 0.00 Ca	0 ± 0.00 Ca	4 ± 1.90 Ca	8 ± 1.19 Ca
Nostalgist (1x10 ⁸ spore mL ⁻¹)	12 ± 2.70 Bb	24 ± 8.20 Bb	60 ± 4.84 Ba	84 ± 5.78 Aa
<i>Fusarium subglutinans</i> 12A (1x10 ⁶ spore mL ⁻¹)	16 ± 3.91 Bb	18 ± 2.21 Bb	64 ± 5.86 Ba	76 ± 5.56 Ba
<i>Beauveria bassiana</i> BIM-001 (1x10 ⁶ spore mL ⁻¹)	100 ± 0.00 Aa	100 ± 0.00 Aa	100 ± 0.00 Aa	100 ± 0.00 Aa
<i>Beauveria bassiana</i> BIM-001 (1x10 ⁷ spore mL ⁻¹)	100 ± 0.00 Aa	100 ± 0.00 Aa	100 ± 0.00 Aa	100 ± 0.00 Aa
<i>Beauveria bassiana</i> BIM-001 (1x10 ⁸ spore mL ⁻¹)	100 ± 0.00 Aa	100 ± 0.00 Aa	100 ± 0.00 Aa	100 ± 0.00 Aa

A, B, C Values followed by different letters in the same column are different (P < 0.05)

a, b, Values followed by different letters in the same row are different (P < 0.05)

It was reported in previous studies that the different isolates of *B. bassiana* (1x10⁸ spore mL⁻¹) caused 100% mortality on 7 days after application (DAA) at different larval stages of the potato beetle (2, 3, and 4th larval stages) (Öztürk et al., 2015). In the present study, the mortality rates of *B. bassiana* BIM isolate at three different spore concentrations in 1, 2, 3, and 4th larval stages were between 70 and 94% on the 7 DAA. It was observed that 100% mortality was reached 9 days after the application of isolates in all larval stages. Nostalgist containing *B. bassiana*, provided 50 to 84% mortality for the 4th larval stage after 7 and 9 days of the application, respectively. Similar to our results, Polat (2017) has also detected 90% mortality for the 3rd larval stage of *L. decemlineata* on the 10 DAA with the application of GOPT-552 isolate of *B. bassiana* (1x10⁸ spore mL⁻¹). The lethal effect of *B. bassiana* isolates obtained from different hosts or geographical regions on *L. decemlineata* may vary. In addition, the methods used in the application of entomopathogenic fungus isolates affect the mortality levels. Güven et al. (2015) determined that *B. bassiana* BMAUM-001 isolate applied to 3rd larval stage of the Colorado potato beetle provided 72.7%, 64.5%, 67.7% mortality rates in the application methods of spraying, dipping, and using dry film, respectively. In the same study, the mortality rates of the three application methods were 83.6%, 92.9%, 90.8% for the BMAUM-002 isolate, and 83.6%, 59.7%, 79.2% for the BMAUM-003 isolate, respectively. Wraight and Ramos (2015) reported that conidiospores of the GHA isolate of *B. bassiana* caused 58.8% mortality when they were sprayed to the 2nd stage larva of *L. decemlineata* and up to 10% (on the 7 DAA) when applied directly to the leaf.

Although there are several studies in the literature exploring the lethal effect of *F. subglutinans* 12A against aphids and thrips (Erkiliç et al., 1999; Arıcı et

al., 2012; Demirözer et al., 2015, 2016), to our knowledge, there is no information in the literature regarding its effectiveness on coleopteran species. It was found in the present study that the lethal effect of *F. subglutinans* 12A was 8% on *L. decemlineata* adults and 16% and 18% on the 1st and 2nd stage of the larvae, respectively. Moreover, *F. subglutinans* 12A resulted in the mortality rates of 64% and 84% for 3rd and 4th larval stages, respectively. Demirözer et al. (2010) reported that *F. subglutinans* 12A showed up to 70% lethal effect on the adults and 4th stage larvae *Chilocorus nigritus* (Fab.).

The effect of different isolates and different spore concentrations of entomopathogenic fungi on the egg hatching rate was also determined in the present study. The hatching rates of the eggs subjected to entomopathogenic fungus isolates were significantly different from the control. Additionally, egg hatching rates treated with the fungus isolates were lower compared the control for all observation days. On the 9th day after application, all eggs hatched at the control and the minimum egg hatching was seen in *B. bassiana* BIM-001 isolate that reduced the hatching rate by 55 to 60% (Table 3).

CONCLUSION

It could be concluded from the results of the current study that the entomopathogenic fungi had obvious lethal effects against the larval stages and eggs of *L. decemlineata*. On the other hand, they did not have a sufficiently high lethal effects on the adults of this pest. To reach more sound conclusion on effectiveness of these entomopathogenic fungal isolates against *L. decemlineata* as biocontrol agents further studies should be conducted to evaluate the efficacy of these isolates under *in vivo* conditions.

Table 3. Determined egg hatching rate (%) in all treatments and different observation times
Çizelge 3. Tüm uygulamalarda farklı gözlem zamanlarında belirlenen yumurta açılış oranı (%)

Treatments	Egg hatching rate (%) ± S.E. and observation times (Day)			
	3 rd Day	5 th Day	7 th Day	9 th Day
Control	34 ± 3.05 Ca	53 ± 3.00 Ba	92 ± 2.90 Aa	100 ± 0.00 Aa
Nostalgist (1x10 ⁸ spore mL ⁻¹)	21 ± 2.33 Db	38 ± 2.90 Cab	50 ± 2.10 Bb	64 ± 3.05 Ab
<i>Fusarium subglutinans</i> 12A (1x10 ⁶ spore mL ⁻¹)	11 ± 2.33 Dbc	26 ± 4.00 Cb	42 ± 5.21 Bbc	64 ± 4.76 Ab
<i>Beauveria bassiana</i> BIM-001 (1x10 ⁶ spore mL ⁻¹)	11 ± 1.79 Cbc	19 ± 2.76 Cc	29 ± 2.70 Bc	43 ± 3.00 Ac
<i>Beauveria bassiana</i> BIM-001 (1x10 ⁷ spore mL ⁻¹)	8 ± 2.49 Cc	22 ± 2.00 Bc	36 ± 2.20 Abc	45 ± 3.41 Ac
<i>Beauveria bassiana</i> BIM-001 (1x10 ⁸ spore mL ⁻¹)	10 ± 2.58 Cbc	21 ± 3.48 Bc	34 ± 3.05 Abc	40 ± 3.33 Ac

A, B, C, D Values followed by different letters in the same row are different (P <0.05)

a, b, c Values followed by different letters in the same column are different (P <0.05)

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Scientific Research Projects Unit of Isparta University of Applied Sciences, Turkey (Project number: 2019-YL1-0010). This article is based on the first author's master thesis entitled "Determination of pathogenic effects of some entomopathogenic fungus on different biological stages of *Leptinotarsa decemlineata* Say".

Researchers Contribution Rate Declaration Summary

The contribution of the authors is equal.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

REFERENCES

- Alves SB, Rossi LS, Lopes RB, Tamai MA, Pereira RM 2002. *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Journal of Invertebrate Pathology, 81(2): 70-77. [https://doi.org/10.1016/S0022-2011\(02\)00147-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2011(02)00147-7)
- Arıcı ŞE, Gülmez İ, Demirekin H, Zahmekıran H, Karaca İ 2012. Entomopatojen *Fusarium subglutinans*'ın bakla yaprakbiti, *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) üzerine etkisi. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 3(1): 89-96.
- Atak U 1973. Trakya Bölgesinde Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say.)'nin morfolojisi, Bio-ekolojisi ve Savaş Metotları Üzerinde Araştırmalar. TC Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, Teknik Bülten, 6, pp. 63.
- Demirözer O, Arıcı ŞE, Sevinç MS, Karaca İ 2010. *Fusarium subglutinans* (Wollenw. & Reinking) (Hypocreales: Nectriaceae)'ın *Chilocorus nigritus* (Fabricius) (Coleoptera: Coccinellidae) üzerindeki patolojik etkisinin belirlenmesine yönelik ön çalışma. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 1(2): 151-155.
- Demirözer O, Uzun A, Arıcı ŞE, Gep İ, Bakay R 2015. Effects of *Fusarium subglutinans* on *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). 5. Entomopatojenler ve Mikrobiyal Mücadele Kongresi, Ankara.
- Demirözer O, Uzun A, Arıcı ŞE, Gep İ, Bakay R 2016. Insecticidal effect of *Fusarium subglutinans* on *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). Hellenic Plant Protection Journal, 9(2): 66-72.
- Erdoğan P, Toros S 2010. *Azadirachta indica* A. Juss ekstraktlarının Patates böceği [*Leptinotarsa decemlineata* Say (Col: Chrysomelidae)] gelişimine etkisi. Bitki Koruma Bülteni, 50(2): 73-88.
- Erkılıç L, Pala H, Başpınar N, Biçer Y 1999. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde bazı yaprakbiti türlerinde entomopatojen fungusların belirlenmesi. Türkiye 4. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri, Adana, pp. 623-632.
- Güven Ö, Çayır D, Baydar R, Karaca İ 2015. Entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vull. izolatlarının patates böceği [*Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)] üzerindeki etkisi. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 6(2): 105-114.
- Hare JD 1990. Ecology and management of the Colorado potato beetle. Annual review of entomology, 35(1): 81-100. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.35.010190.000501>
- Herlinda, 2010. Spore Density and Viability of Entomopathogenic Fungal Isolates from Indonesia, and Their Virulence against *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). Tropical Life Sciences Research, 21(1): 11-19.
- Hsiao TH 1978. Host-Plant Adaptations Among Geographic Populations of the Colorado Potato Beetle. Entomologia Experimentalis et Applicata, 24: 237-247.
- Kedici R, Melan K, Kodan M 1998. Determination of the natural enemies of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) and using of

- Chrysoperla* sp. for the biological control of the pest. Bitki Koruma Bülteni, 38(1-2):13-22.
- Kekillioglu A, Yılmaz M 2018. Patates Böceği [*Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)]'nin Nevşehir İlinde Yaşamsal Etkileşim ve Çeşitliliği Üzerine Bir Ön Çalışma. Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 28(1): 100-107.
- Kılıç E, Yıldırım E 2008. Beyazsineklerin (Homoptera: Aleyrodidae) mücadelesinde entomopatojen fungusların kullanım imkânları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 39(2): 249-254.
- Kılıç E 2019. Erzincan Tarımında Kimyasal Pestisit Yerine İkame Edilebilecek Biyopestisitler. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi, 8(3): 14-28.
- Komaki A, Kordali Ş, Usanmaz Bozhüyük A, Altınok HH, Kesdek M, Şimşek D, Altınok MA 2017. Laboratory assessment for biological control of *Tribolium confusum* du Val, 1863 (Coleoptera: Tenebrionidae) by entomopathogenic fungi. Türkiye Entomoloji Dergisi, 41: 95-103. doi: <https://doi.org/10.16970/ted.80578>
- Luangsa-Ard JJ, Hywel-Jones NL, Manoch L, Samson RA, 2005. On the relationships of *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* species, Mycological research, 109(5): 581-589. doi: <https://doi.org/10.1017/S0953756205002741>
- Mailhot DJ, Marois JJ, Wright DL 2007. Influence of flower thrips on *Fusarium* hardlock severity. Plant disease, 91(11): 1423-1429.
- Nieder R, Benbi DK, Reich FX. 2018. Health Risks Associated with Pesticides in Soils. (Soil Components and Human Health, Springer, Dordrecht) 503-573.
- Öz A 2019. Kahramanmaraş tahıl depolarından elde edilen entomopatojen fungusların üç depolanmış tahıl zararlısı Coleoptera türüne etkinliği. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Kahramanmaraş, Master Thesis, pp. 48.
- Öztürk HE, Güven Ö, Karaca İ 2015. Effects of Some Bioinsecticides and Entomopathogenic Fungi On Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* L.). Comm. Appl. Biol. Sci, Ghent University, 80 (2): 205-211.
- Polat İ 2017. Tokat ili orman alanlarından izole edilen entomopatojen fungusların patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) (Coleoptera: Chrysomelidae)'ne etkisinin belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Tokat, sy 100.
- Rath AC 2000. The Use of Entomopathogenic Fungi for Control of Termites. Biocontrol Science and Technology, 10: 563- 581. doi:<https://doi.org/10.1080/095831500750016370>
- Saha A, Ghosh RK, Jesna PK, Choudhury PP 2021. Bioindicators of Pesticide Contaminations. (Sustainable Agriculture Reviews 48, Springer, Cham.) 185-231.
- Topuz E 2005. Tarımsal Zararlılarla Mücadelede Kimyasal Pestisitlere Alternatif Bazı Yöntemler. Derim, 22(2): 53-59.
- Uzun A, Demirözer O, Arıcı ŞE, 2019. Acaricidal activity of *Fusarium subglutinans* 12A on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Ziraat Fakültesi Dergisi, 14(1): 83-88.
- Wraight SP, Ramos ME 2015. Delayed efficacy of *Beauveria bassiana* foliar spray applications against Colorado potato beetle: impacts of number and timing of applications on larval and next-generation adult populations. Biological Control, 83: 51-67. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.12.019>

Buğday Bitkisinde Üç *Pratylenchus thornei* Popülasyonunun *Fusarium culmorum* ile İnteraksiyonu

Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR^{1*}, Şerife Evrim ARICI², İbrahim Halil ELEKÇİOĞLU³

¹Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Isparta, Türkiye, ²Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Isparta, Türkiye, ³Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-1969-4041>, ²<https://orcid.org/0000-0001-5453-5869>, ³<https://orcid.org/0000-0001-7565-4330>

✉: fatmagoze@isparta.edu.tr

ÖZET

İkizce buğday çeşidinde üç *Pratylenchus thornei* popülasyonu (SK11, SK24 ve YLVC24) ile *Fusarium culmorum* B4 izolatu'nun interaksiyonu eş zamanlı ve ardışık inokulasyonlarla kontrollü koşullarda araştırılmıştır. Çalışmada nematod popülasyonları için 1000 larva+ergin birey inokulum yoğunluğu kullanılırken, fungus inokulumunda %50 oranında seyreltilmiş kültür filtratı kullanılmış ve her saksıya 5 mL uygulanmıştır. Bitkiler yaklaşık yedi hafta sonra sökülerek değerlendirme işlemi hastalık şiddeti, toprak ve kökteki toplam nematod yoğunluğu ve üreme oranı açısından gerçekleştirilmiştir. Çalışmada nematod ve fungus etkileşimlerinde nematod popülasyonlarının patojenitesinin önemli olduğu belirlenmiştir. Popülasyonlar arasında üreme oranı en düşük olan YLVC24 (6.6±0.1) ile fungus arasında buğdayda bir interaksiyon saptanamamıştır. En yüksek üreme oranına sahip SK24 popülasyonunda (10.4±0.4) sadece nematod uygulaması (10436.0±446.8) ile karşılaştırıldığında eş zamanlı nematod ve fungus uygulaması (12240.0±446.8) ile nematod inokulasyonundan iki hafta sonra fungus uygulamasında (11672.0±389.3) toplam nematod yoğunluğunun arttığı tespit edilmiştir. Buğdayda nematod uygulamasından iki hafta önce fungus enfeksiyonu gerçekleştiğinde ise SK11 ve SK24 popülasyonlarının yoğunluklarında azalma görülmüştür. Buğdayda fungusun oluşturduğu hastalık şiddetinde eş zamanlı ve ardışık inokulasyonlarda nematod popülasyonları arasında farklılık bulunamamıştır. Fungus uygulama zamanının SK11 ve SK24 popülasyonlarının toplam nematod yoğunluğu ve üreme oranı üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışmada buğdayda sadece *P. thornei* SK24 popülasyonu ile *F. culmorum* arasında sinerjistik etkileşim bulunmuştur.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 04.06.2021

Kabul Tarihi : 29.09.2021

Anahtar Kelimeler

Buğday

Fusarium culmorum

İnteraksiyon

Popülasyon yoğunluğu

Pratylenchus thornei

Interaction of Three Populations of *Pratylenchus thornei* with *Fusarium culmorum* in Wheat Plant

ABSTRACT

The interaction of three populations of *Pratylenchus thornei* (SK11, SK24 and YLVC24) and *Fusarium culmorum* B4 isolate on İkizce wheat variety were investigated under controlled conditions with simultaneous and sequential inoculations. In the study, 1000 larva+adult inoculum density was used for nematode populations, while 50% diluted culture filtrate concentration was used in the *fungus* inoculum and 5 mL was applied to each pot. After about seven weeks, the wheat plants were removed and evaluated in terms of disease severity, final nematode density in soil and root, and nematode reproduction rate. It has been determined that the pathogenicity of the nematode populations is important in nematode and fungi interactions in the study. No interaction could be detected between the fungi and YLVC24, which has the lowest reproduction rate (6.6±0.1) among the populations, on wheat. In the SK24 population with the highest reproduction rate (10.4±0.4), the final

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 04.06.2021

Accepted : 29.09.2021

Keywords

Wheat

Fusarium culmorum

Interaction

Population density

Pratylenchus thornei

nematode density was found to increase in simultaneous nematode and fungi application (12240.0±446.8), and fungi inoculation two weeks after nematode application (11672.0±389.3) compared to only nematode application (10436.0±446.8). When fungi was inoculated two weeks before nematode application on wheat, the population densities of SK11 and SK24 decreased. No difference was found between nematode populations in disease severity caused by fungi on wheat in simultaneous and sequential inoculations. It was determined that fungi application time was effective on total nematode density and reproduction rate of SK11 and SK24 populations. In the study, synergistic interaction was found only between the *P. thornei* SK24 population and *F. culmorum* in wheat.

Atıf Şekli: Göze Özdemir, F.G., Arıcı, Ş.E., Elekçioğlu, I.H. 2022. Buğday bitkisinde üç *Pratylenchus thornei* popülasyonunun *Fusarium culmorum* ile interaksyonu. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1042-1050. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.947535>

To Cite : Göze Özdemir, F.G., Arıcı, Ş.E., Elekçioğlu, I.H. 2022. Interaction of three populations of *Pratylenchus thornei* with *Fusarium culmorum* in wheat plant. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1042-1050. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.947535>

GİRİŞ

Kültür bitkilerinin köklerinde endoparazitik beslenmeleri, geniş konukçu dizisi olması, farklı ekolojik koşullara uyum sağlaması ve kozmopolit özelliklerinden dolayı Kök yara nematodları (*Pratylenchus* spp.) Kök-ur ve Kist nematodlarından sonra en önemli bitki paraziti nematod grubudur (Castillo ve Vovlas, 2007). En az sekiz *Pratylenchus* türünün buğdayda zarar oluşturduğu bilinmektedir (Fosu-Nyorke ve Jones, 2016). Bu türlerden *Pratylenchus thornei*, buğdayda ekonomik açıdan en önemli tür olarak kabul edilmekte olup Cezayir, Avustralya, Kanada, Hindistan, İsrail, İtalya, Meksika, Fas, Pakistan, Suriye, Türkiye ve Yugoslavya dahil olmak üzere birçok ülkede yaygın olduğu bildirilmiştir (Nicol and Rivoal, 2008; Thompson et al., 2010; Toktay ve ark., 2012;2020). Kök yara nematodları buğday da özellikle az yağış alan veya hafif bünyeli toprak yapısına sahip bölgelerde daha fazla zarar oluşturmaktadır (Smiley ve Nicol, 2009). Kök yara nematodları hassas bir buğday çeşidinde verimi azaltan yüksek popülasyon yoğunluklarına kolayca ulaşabilirler (Thompson ve ark., 2008). *Pratylenchus thornei* 'nin buğdayda Avustralya'da %85, Meksika'da %37, İsrail'de %70 ve ABD'de %50 kadar verim kaybına neden olduğu saptanmıştır (Armstrong ve ark., 1993; Ortiz-Monasterio ve Nicol, 2004; Smiley ve ark., 2005). Türkiye'de de buğday alanlarında *P. thornei*'nin en yaygın tür olduğu tespit edilmiştir (Mısırhoğlu ve Pehlivan, 2007; Yıldız, 2007; Toktay ve ark.,2020; Göze Özdemir ve ark., 2021).

Fusarium culmorum sıcak ve kuru iklimlerde makarnalık buğday ve ekmeklik buğdayın önemli bir patojeni olup Avrupa, Avustralya, Kanada, Kuzey Amerika, Afrika ve Batı Asya'da bulunduğu bildirilmiştir (Schem ve ark., 2013; Pasquali ve ark., 2013). *Fusarium* kaynaklı kök ve gövde hastalıklarına bağlı verim kayıplarının Avustralya'da

yaklaşık %25 ve Kuzey Amerika'da %31-%65 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Voss-Fels ve ark., 2018). Türkiye de buğdayda kök ve kök boğazında çürümeye neden olan en yaygın toprak kökenli patojen *F. culmorum* olarak rapor edilmiştir (Tunalı ve ark., 2008; Çepni ve ark., 2013; Erginbaş-Orakçı ve ark., 2018). Türkiye'de *F. culmorum*'dan kaynaklı verim kayıplarının kışlık buğdayda %43'e, Orta Anadolu platosunda durum buğdayında %54'e ulaştığı saptanmıştır (Bağcı ve ark., 2001; Hekimhan ve ark., 2004).

Bitki paraziti nematodlar toprak kaynaklı patojenler ile etkileşimde olup birçok üründe hastalık kompleksleri oluşturabilmektedirler (Back ve ark., 2002; Hassan ve ark., 2012). Kök yara nematodlarının bitkilerde penetrasyon ve beslenme sürecinde açtığı yaralar fungal etmenler için enfeksiyon alanları olmaktadır (LaMondia, 2003; Hoseini ve ark., 2010; Mallaiah ve ark., 2014). Riedel (1988) bitki paraziti nematodların bitkileri önceden uyararak veya konukçu fizyolojisini değiştirerek bitki patojenlerine karşı savunma mekanizmasını harekete geçirebileceğinden bahsetmiştir. Ayrıca köklerde patojen fungus enfeksiyonundan sonra nematod penetrasyonunun arttığı birçok çalışmada ortaya çıkarılmıştır (Edmund ve Mai, 1966a, 1966b, 1967; Nord-Meyer ve Sikora, 1983). Bitki paraziti nematod ve fungus türlerine bağlı olarak eşzamanlı veya ardışık enfeksiyonların nematod üremesini pozitif veya negatif etkileyebileceği belirtilmektedir (Back ve ark., 2002; Hassan ve ark., 2012; Hajihassani ve ark.,2013). Göze Özdemir ve ark. (2022), İkizce buğday çeşidinde *P. thornei*, *P. neglectus* ve *P. penetrans* ile *F. culmorum*'un eş zamanlı ve ardışık inokulasyonları ile yürüttüğü çalışmada aralarındaki etkileşimde, kök yara nematodlarının türleri arasında farklılıklar tespit etmiş ve buğdayda nematod gelişiminde *F. culmorum* uygulama zamanının önemli olduğunu belirtmiştir.

Farklı bitkilerde yürütülen çalışmalarda, Kök yara nematodlarının üreme güçlerinin, tür ve popülasyon yoğunluklarına göre farklılık gösterdiği belirtilmektedir (Olthof, 1990; France ve Brodie, 1996; Pinochet ve ark., 1994; Hafez ve ark., 1999; Mudiope ve ark., 2004). *Pratylenchus thornei*'nin popülasyonları arasında da farklı üreme oranları ve patojenite olduğu bildirilmiştir (Tiyagi ve Parveen, 1992; Castillo ve ark., 1995b; Göze Özdemir, 2021). Hafez ve ark. (1999) patatesten farklı bölgelerden alınan iki *P. neglectus* izolatu (Idaho ve Kanada) ile *Verticillium dahliae* ilişkisini araştırmışlar ve sadece Kanada popülasyonu ile *V. dahliae* arasında sinerjistik ilişki belirlemişlerdir.

Nematodların üreme gücündeki benzerlik veya farklılıkların patojenlerle ilişkilerini değiştirebileceği bunun da bölgesel olarak mücadele de önemli olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada İkizce buğday çeşidinde üç *P. thornei* popülasyonu ile *F. culmorum* arasındaki etkileşimin eşzamanlı ve ardışık inokulasyonlarla belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Çalışma *F. culmorum* B4 izolatu ve üç *P. thornei* izolatu ile İkizce buğday çeşidinde yürütülmüştür. *Fusarium culmorum* izolatu daha önce yürütülen çalışmada (Arıcı, 2006) tanılanmış ve ISUBU Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Biyoteknoloji ve Doku Kültürü laboratuvarında muhafaza edilmekte ve patojenitenin kaybolmaması açısından periyodik

Çizelge 1. *Pratylenchus thornei* popülasyonlarının orijinleri
Table 1. *Origin of Pratylenchus thornei*

<i>İzolat</i> <i>Isolate</i>	<i>Alındığı yer</i> <i>Sampling site</i>	<i>Koordinat</i> <i>Coordinate</i>	<i>Alındığı konukçu</i> <i>(Sampling host)</i>
YLVC24	Yalvaç, Isparta, Türkiye	N: 38°18'40.7"/E: 031°08'24.2"	Arpa
SK11	Şarkikaraağaç, Isparta, Türkiye	N: 38°04'39.4"/E: 031°27'23.3"	Buğday
SK24	Şarkikaraağaç, Isparta, Türkiye	N: 38°05'01.8"/E: 031°23'26.6"	Arpa

Fungus inokulumunun hazırlanması

Fusarium culmorum B4 izolatu 50 mL PDB (patates dextrose brooth agar) içeren 250 mL'lik erlenlerde kültüre alınmış ve 121 °C de 20 dk. sterilize edildikten sonra soğumaya bırakılmıştır. Patates Dekstroz Agar ortamında gelişen 2 haftalık fungus kolonisinden 1 cm'lik kare alınarak her Erlenmayer içerisine 5-7 adet atılmış ve laboratuvarında 25 ±1 C'de karanlıkta 21 gün boyunca inkübe edilmiştir (Bhagaweti ve ark., 2000; Arıcı, 2006). İnkübasyon süresince her gün elle çalkalama işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonrada fungus misel ve sporlarını uzaklaştırmak için önce iki kat filtre kağıdından (Whatman No. 1) geçirildikten sonra aspiratör yardımıyla steril nuçe Erlenmayer içerisine çekilmiştir. Saf kültür filtratu distile su yardımıyla %50 oranında seyreltilmiş ve deneme de bu konsantrasyon kullanılmıştır (Göze Özdemir, 2020).

olarak yenilenmektedir. *Pratylenchus thornei* popülasyonları ise daha önce yürütülen çalışmadan (Göze Özdemir, 2021) alınmış ve kitle üretimleri ISUBU Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Nematoloji Laboratuvarında Zuckermann (1985) yöntemiyle havuç disklerinde devam ettirilmektedir. Çalışmada kullanılan *P. thornei* popülasyonlarının orijinleri Çizelge 1 de verilmektedir. İkizce buğday çeşidi de ISUBU Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden temin edilmiştir.

Method

Nematod inokulumunun hazırlanması

Her popülasyonun (YLVC24, SK11 ve SK24) kitle üretimin gerçekleştirildiği havuç diskleri ayrı ayrı 120 mm petri kaplarına aktarılmıştır. Aktarılan havuç diski küçük parçalara bölünmüş ve petri kabını kaplayacak şekilde steril saf su eklenmiştir. Altı saat sonra nematodlar geliştirilmiş Baermann huni yöntemi kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Mezurlar içerisinde elde edilen nematod süspansiyonlarının her bir tekrarı 15 mL'ye düşürülmüş ve santrifüj tüplerine alınmıştır (Mudiope ve ark., 2004). Santrifüj tüplerinde nematodların dibe çökmesi için 4 saat beklendikten sonra üstteki sıvı atılarak 1 mL ye düşürülmüş ve dipteki kısımdan her *P. thornei* izolatuına ait ergin+larva ışık mikroskobu altında 10×10 büyütmede sayılmıştır. Daha sonra çalışmada kullanılacak nematod yoğunluğu her izolatu için ayarlanarak saf su içeren ependorf tüpler içerisinde buzdolabında bekletilmiştir.

Pratylenchus thornei popülasyonlarının *Fusarium culmorum* ile etkileşimlerinin belirlenmesi

Deneme kontrollü koşullar altında 25±2°C sıcaklık ve %60±5 orantılı nem içeren iklim odasında, otoklav edilmiş 500 g toprak karışımı olan 500 cc'lik plastik saksılarda gerçekleştirilmiştir. Her saksıya 3 adet İkizce buğday tohumu atılmış ve 3 buğday bitkisi 1 tekerrür olarak kabul edilmiştir. Deneme, tesadüf blokları deneme desenine göre 5 tekerrürlü olacak şekilde kurulmuştur. *Pratylenchus thornei* popülasyonları için inokulum yoğunluğu 1000 larva+ergin birey kullanılmıştır. *F. culmorum* inokulumunda ise %50 oranında seyreltilmiş kültür filtratu konsantrasyonu her saksıya 5 mL gelecek şekilde uygulanmıştır (Göze Özdemir, 2020). Üç *P. thornei* popülasyonu için deneme ayrı kurulmuş ve 6 uygulamadan oluşmaktadır. Uygulamalar; Nematod ve fungus uygulanmamış kontrol bitkisi (K), Sadece

nematod uygulanmış bitki (N), Sadece fungus uygulanmış bitki (F), Eş zamanlı nematod ve fungus uygulanmış bitki (N+F), Nematod uygulamasından 2 hafta sonra fungus uygulanmış bitki (N+2F), Fungus uygulamasından 2 hafta sonra nematod uygulanmış bitki (F+2N) şeklinde planlanmıştır (Hoseini ve ark., 2010).

Buğdaylarda ilk kardeş yapraklar oluştuktan sonra kök bölgesi etrafına 2-3 cm toprak derinliğine açılan deliklere plastik puarlı pipetler yardımıyla kombine uygulamaların önceliğine göre nematod ya da fungus inokulasyonu yapılmıştır. Bitkiler yaklaşık 7 hafta sonra sökülerek değerlendirme işlemi yapılmıştır. Değerlendirme işlemi; 0-4 hastalık şiddeti (0 = sağlıklı, 1 = %25'den az nekroz, 2 = %25-50 arasında nekroz, 3=%50-75 arasında nekroz ve 4 = % 75'den fazla nekroz) (Wildermuth ve McNamara, 1994), toprak ve kökteki toplam nematod yoğunluğu (PF) ve üreme oranı (PF (final) / Pİ (ilk)) açısından gerçekleştirilmiştir. Topraktaki (300 g toprak) ve kökteki (her saksıdaki tüm kök) *P. thornei* yoğunluğu Baerman huni yöntemi kullanılarak elde edilmiş (Hooper, 1985) ve ışık mikroskopunda (40X) sayılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS (versiyon 20.0) programı kullanılmış ve ortalamalar arasındaki farkları test etmek için tek

yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Farklı grup ortalamalarını belirlemek için varyansların homojen olduğu durumlarda "Tukey" kullanılmıştır ($P \leq 0.05$).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Pratylenchus thornei SK11 popülasyonu ve *F. culmorum* etkileşiminde çalışılan buğday çeşidinde hastalık şiddetinde uygulamalar arasında istatistiksel fark yoktur ($P \geq 0.05$). SK24 popülasyonu ile *F. culmorum* etkileşiminde yalnız fungus (F), eş zamanlı nematod ve fungus (N+F), nematod uygulamasından 2 hafta sonra fungus (N+2F) ve fungus uygulamasından 2 hafta sonra nematod (F+2N) uygulamalarında hastalık şiddeti birbirine yakın bulunmuştur. *P. thornei* YLVC24 popülasyonu ile *F. culmorum* etkileşiminde F, N+F, N+2F ve F+2N uygulamalarında hastalık şiddeti arasında istatistiksel fark yoktur ($P \geq 0.05$). Buğdayda hastalık şiddeti parametresinde uygulama farklılığının önemli olmadığı görülmektedir. SK11, SK24 ve YLVC24 *P. thornei* popülasyonları ile buğdayda kurulan denemelerde hastalık şiddeti parametresinde F, N+F, N+2F ve F+2N uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($P \geq 0.05$). Buğdayda *F. culmorum*'un oluşturduğu hastalık şiddetinde *P. thornei* popülasyonları arasında farklılık bulunamamıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. *Fusarium culmorum* ve *Pratylenchus thornei* popülasyonları etkileşiminde hastalık şiddeti
Table2. Disease severity in the interaction of *Fusarium culmorum* and *Pratylenchus thornei* populations

Uygulamalar ¹ Treatments ¹	Hastalık şiddeti (Ortalama±Standart hata) ² Disease severity (Mean±Standart error) ²		
	<i>Pratylenchus thornei</i> popülasyonları <i>Pratylenchus thornei</i> populations		
	SK11	SK24	YLVC24
N	-	-	-
F	3.6±0.2 a A	3.6±0.2 a A	3.6±0.2 a A
N+F	4.0±0.0 a A	3.8±0.2 a A	4.0±0.0 a A
N+2F	3.6±0.2 a A	3.8±0.2 a A	3.6±0.2 a A
F+2N	4.0±0.0 a A	3.6±0.2 a A	4.0±0.0 a A
K	-	-	-

¹K: Nematod ve fungus uygulanmamış kontrol bitki, N: Sadece nematod uygulanmış bitki, F: Sadece fungus uygulanmış bitki, N+F: Aynı anda nematod ve fungus uygulanmış bitki, N+2F: Nematod uygulamasından 2 hafta sonra fungus uygulanmış bitki, F+2N: Fungus uygulamasından 2 hafta sonra nematod uygulanmış bitki

²Küçük harfler aynı sütunda ortalamalar arasındaki farklılıkları, büyük harfler aynı satırda ortalamalar arasındaki farklılıkları göstermektedir ($P \leq 0.05$).

Buğdayda *P. thornei* SK11 popülasyonu ve *F. culmorum* etkileşiminde en yüksek toplam nematod yoğunluğu ve üreme oranı ortalamaları N (8856.0) ve N+F (8872.0) uygulamalarında belirlenirken, SK24 popülasyonu ve *F. culmorum* etkileşiminde en yüksek toplam nematod yoğunluğu ve üreme oranı N+F (12240.0) ve N+2F (11672.0) uygulamalarında bulunmuştur. SK11 ve SK24 popülasyonları ile *F.*

culmorum etkileşiminde en düşük toplam nematod yoğunluğu ve üreme oranı F+2N uygulamasında saptanmıştır. SK11 ve SK24 popülasyonları ile *F. culmorum* etkileşiminde buğdayda ilk olarak *F. culmorum* enfeksiyon oluşturduğunda *P. thornei* popülasyonunun azaldığı görülmektedir. Bu durum *F. culmorum*'un *P. thornei* üzerinde negatif etkileşimini göstermektedir. Ancak SK24 popülasyonunda eş

zamanlı inokulasyonda ve ilk olarak *P. thornei* enfeksiyon oluşturduğunda nematod yoğunluğunun arttığı görülmektedir. *F. culmorum*'un SK24 popülasyonu ile bu 2 uygulamada pozitif etkileşimi belirlenmiştir. *F. culmorum* ve *P. thornei* SK11 ve SK24 popülasyonlarının etkileşiminde *F. culmorum*'un uygulama zamanının etkili olduğu bulunmuştur. YLVC24 popülasyonu ve *F. culmorum* etkileşiminde ise toplam nematod yoğunluğu ve üreme oranı açısından N, N+F, N+2F ve F+2N uygulamaları arasında istatistiki bir fark bulunamamıştır ($P \geq 0.05$). YLVC24 popülasyonu ile *F.*

culmorum arasında pozitif ya da negatif bir etkileşim belirlenmemiştir. N, N+F ve N+2F uygulamalarında en yüksek toplam nematod yoğunluğu ve üreme oranı SK24 popülasyonunda belirlenirken, en düşük YLVC24 popülasyonunda saptanmıştır. F+2N uygulamasında ise toplam nematod yoğunluğu ve üreme oranı açısından SK11 (6.3) ve YLVC24 (6.8) popülasyonları arasında istatistiki olarak bir farklılık bulunamamıştır ($P \geq 0.05$) ve SK24 popülasyonundan (7.9) daha düşük toplam nematod yoğunluğu ve üreme oranına sahip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. *Fusarium culmorum* ve *Pratylenchus thornei* popülasyonları etkileşiminde toplam nematod yoğunluğu ve üreme oranı
 Table 3. Final nematode density and reproduction rate in the interaction of *Fusarium culmorum* and *Pratylenchus thornei* populations

Toplam nematod yoğunluğu (Ortalama±Standart hata) ² Final nematode density (Mean±Standart error) ²		Üreme oranı (Ortalama±Standart hata) ² Reproduction rate (Mean±Standart error) ²					
		Pratylenchus thornei popülasyonları Pratylenchus thornei populations					
Uygulamalar ¹ Treatments ¹	SK11	SK24	YLVC24	SK11	SK24	YLVC24	
N	8856.0±141.0 ^{a B}	10436.0±446.8 ^{b A}	6694.0±131.0 ^{a C}	8.8±0.1 ^{a B}	10.4±0.4 ^{b A}	6.6±0.1 ^{a C}	
F	-	-	-	-	-	-	
N+F	8872.0±223.4 ^{a B}	12240.0±331.0 ^{a A}	6402.0±348.1 ^{a C}	8.8±0.2 ^{a B}	12.2±0.3 ^{a A}	6.3±0.3 ^{a C}	
N+2F	8088.0±90.4 ^{b B}	11672.0±389.3 ^{ab A}	6488.0±124.0 ^{a C}	8.0±0.0 ^{b B}	11.6±0.3 ^{ab A}	6.4±0.1 ^{a C}	
F+2N	6359.6±266.1 ^{c B}	7924.0±270.6 ^{c A}	6855.6±114.5 ^{a B}	6.3±0.2 ^{c B}	7.9±0.2 ^{c A}	6.8±0.1 ^{a B}	
K	-	-	-	-	-	-	

¹K: Nematod ve fungus uygulanmamış kontrol bitki, N: Sadece nematod uygulanmış bitki, F: Sadece fungus uygulanmış bitki, N+F: Aynı anda nematod ve fungus uygulanmış bitki, N+2F: Nematod uygulamasından 2 hafta sonra fungus uygulanmış bitki, F+2N: Fungus uygulamasından 2 hafta sonra nematod uygulanmış bitki

²Küçük harfler aynı sütunda ortalamalar arasındaki farklılıkları, büyük harfler aynı satırda ortalamalar arasındaki farklılıkları göstermektedir ($P \leq 0.05$).

Buğdayda *F. culmorum* ile yürütülen denemelerde SK24 popülasyonunun SK11 ve YLVC24 popülasyonlarından daha iyi geliştiği belirlenmiştir. Buğday bitkisinde ilk olarak *F. culmorum* enfeksiyonu gerçekleştiğinde SK11 ve SK24 popülasyonlarında yoğunluklarında azalma görülürken, YLVC24 popülasyonunda negatif bir etki belirlenmemiştir. Nematod penetrasyonunu engelleyecek düzeyde fungus kitlesinin bulunması ya da nematodun beslenmek için seçeceği yerleri fungusun istila etmesi, nematod yoğunluğunun azalmasına neden olabilir (Mokbel ve ark., 2007). SK11 ve SK24 popülasyonları ile yürütülen denemelerde en düşük nematod yoğunluğu *F. culmorum* inokulasyonundan iki hafta sonra *P. thornei* uygulamasında saptanmıştır. Hoseini ve ark. (2010) çay bitkisinde *F. proliferatum* inokulasyonundan iki hafta sonra *P. loosi* uygulamasında en düşük nematod yoğunluğunu saptamışlardır. Saadabi ve Yassin (2007) pamuk bitkisinde *P. sudanensis* ve *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* ile yürüttükleri çalışmada, toprak ve kökteki toplam nematod yoğunluğunu sadece *P.*

sudanensis uygulamasında en yüksek bulurken, diğer eş zamanlı uygulama ve fungustan 7 gün önce nematod uygulamasında nematod yoğunluğunun düştüğünü belirlerken en fazla düşüşün görüldüğü uygulama nematod enfeksiyonundan 7 gün önce fungus uygulamasında tespit edilmiştir. Göze Özdemir ve ark. (2022) İkizce buğday çeşidinde *P. thornei* ve *F. culmorum*'un eş zamanlı ve ardışık inokulasyonlarını sadece nematod inokulasyonu ile karşılaştırdığında son nematod yoğunluğunun ve üreme oranının önemli ölçüde azaldığını saptamışlardır. Aynı çalışmada buğdayda N+ F uygulamasında *P. neglectus* yoğunluğunun olumlu yönde etkilendiği bildirilirken, *F. culmorum*'un önce ya da sonra uygulamalarında *P. neglectus* üzerinde olumsuz etki tespit edilmiştir.

Çalışmada en yüksek üreme oranına sahip SK24 popülasyonunda ise buğdayda eş zamanlı inokulasyon ve nematod enfeksiyonundan sonra *F. culmorum* uygulamasında (N+2F) yalnız nematod uygulamasından daha yüksek popülasyon yoğunluğu tespit edilmiştir. Ancak köklerde artan nematod enfeksiyonuna karşın hastalık şiddetinin artmadığı

saptanmıştır. SK24 *P. thornei* popülasyonu ile *F. culmorum* arasındaki etkileşimde nematodun olumlu etkilendiği belirlenmiştir. Farklı araştırmacılar nematod penetrasyonunun, fungal patojen enzimlerinin köklerde oluşmasıyla arttığını belirtmektedirler (Edmund ve Mai, 1966a, 1966b, 1967; Nord-Meyer ve Sikora, 1983). Al-Hazmi ve ark. (2016) yeşil fasulyede *Macrophomina phaseolina* ve *Meloidogyne javanica* ile yürüttükleri çalışmada eş zamanlı uygulamaların yapıldığı zamanın ve bitki yaşının hastalık şiddeti ve nematod yoğunluğunda önemli olduğunu bildirmektedirler. Rotenberg ve ark. (2004) Russet Burbank patates köklerinde inokulasyondan 16 gün sonra yalnız *P. penetrans* uygulamasında nematod yoğunluğunu 65 birey 3 g-1 yaş kök olarak saptarken, eş zamanlı *P. penetrans* ve *Verticillium dahliae* uygulamasında nematod yoğunluğunu 76 birey 3 g-1 yaş kök olarak tespit etmişlerdir. Hoseini ve ark. (2010), çay bitkisinde *Rhizoctonia solani* ile *P. loosi* eş zamanlı inokulasyonlarında kökteki nematod yoğunluğunu yalnız *P. loosi* inokulasyonundan daha fazla bulmuştur. Eş zamanlı *P. penetrans* ve *F. culmorum* inokulasyonu İkizce buğday çeşidinde son nematod yoğunluğunu pozitif etkilemiştir (Göze Özdemir ve ark., 2022).

En düşük üreme oranı belirlenen YLVC24 popülasyonu ile yürütülen denemelerde uygulamalar arasında nematod yoğunluğunda bir değişim belirlenmemiştir. Ancak F, N+F, N+2F ve F+2N uygulamalarında hastalık şiddeti değerleri SK11 ve SK24 popülasyonları ile aynı bulunmuştur. *Fusarium culmorum* ile *P. thornei* etkileşimlerinde popülasyonların patojenitesinin önemli olduğu görülmektedir. Diğer popülasyonlardan daha düşük üreme oranı olan YLVC24 popülasyonu ile *F. culmorum* arasında bir etkileşim belirlenmemiştir. Hafez ve ark. (1999) *P. neglectus* Ontario, Kanada popülasyonunun *Verticillium dahliae* ile sinerjistik ilişki halinde olduğunu, *P. neglectus* Parma, Idaho popülasyonunun ise *V. dahliae*'yi tetiklemediğini ve verimi azaltmadığını tespit etmişler ve bu farklılığın Idaho popülasyonunun üreme gücünün Ontoria popülasyonundan düşük olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Farklı popülasyon yoğunluklarının konukçu bitkilerinin büyüme ve verimine olan etkileri başlangıçtaki nematod yoğunluğuna, türüne, bitkinin duyarlılığına, nematodun üreme gücüne, nem ve nematodlarla etkileşime girebilecek diğer patojen organizmaların varlığı gibi koşullara bağlıdır (Barker ve Olthof, 1976; Seinhorst, 1998; Charegani ve ark., 2012).

Fusarium culmorum'un buğdayda neden olduğu hastalık şiddetinde uygulamalar ve *P. thornei* popülasyonları arasında bir farklılık bulunmamıştır. Bu durum kullanılan *F. culmorum* B4 izolatının yüksek patojenitesinden kaynaklanmış olabilir.

Düşük patojeniteli farklı bir *F. culmorum* izolatı yada B4 izolatı daha düşük yoğunlukta kullanılacağına sonuçlar farklı elde edilebilir. Çünkü çoğu çalışmada nematod varlığında fungusların daha iyi geliştiği ve hastalık şiddetinin arttığı belirtilmektedir (Inagaki ve Powell, 1969; Jin ve ark., 1991; LaMondia, 2003; Mallaiah ve ark., 2014).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Pratylenchus thornei Türkiye ve dünya buğday alanlarında yaygın bulunan kök yara nematodu türüdür. Geniş yayılımına karşın buğdayda *P. thornei* popülasyonları arasındaki intraspesifik farklılıklar ve etkileşimleri ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışma buğdayda *P. thornei* popülasyonlarının patojenite farklılığının *F. culmorum* hastalık etkileşimlerinde önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Çalışmanın diğer bir sonucu da nematod-fungus etkileşimlerinde *P. thornei* popülasyon yoğunluğunun *F. culmorum*'un bitkiyi enfekte ettiği döneme göre değiştiğini göstermiştir. *P. thornei* popülasyonlarının patojenitelerine göre *F. culmorum* ile kurulan etkileşim değişmiştir. Buğdayda düşük patojenite gösteren popülasyon ile *F. culmorum* arasında herhangi bir etkileşim belirlenemezken, daha yüksek patojenite gösteren popülasyonda nematod-fungus arasında sinerjistik etkileşim belirlenmiştir. Buğday tarlalarında *F. culmorum* ile yapılan mücadelenin *P. thornei* popülasyon yoğunluğunu etkileyeceği de görülmektedir. Ekonomik anlamda buğday yetiştirilen alanlarda farklı coğrafik alanlardan alınan popülasyonların patojeniteleri değerlendirilmeli ve patojenitesi yüksek olan popülasyonların dominant olduğu buğday tarlalarında hem fungus hem nematod mücadelesi uygun yönetim stratejileri değerlendirilerek yapılmalıdır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Çalışmayı Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR ve Serife Evrim ARICI tasarlamıştır. Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR laboratuvar ve iklim odasında çalışmaları yürütmüştür. İbrahim Halil ELEKÇİOĞLU ve Serife Evrim ARICI makalenin yazımına katkı sağlamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Al-Hazmi AS, Dawabah AA, Al-Nadhari SN, Al-Yahya FA, Lafi HA 2016. Effects of Seedling Age and Root Wounding on the Charcoal Rot/Root-Knot Disease Complex On Green Bean. Nematropica 46(2): 229-234.

- Arıcı, Ş E 2006. Somaklonal Varyasyondan Yararlanarak İn Vitro Seleksiyonla Buğday (*Triticum aestivum* L.)'da Başak Yanıklığına (*Fusarium* Spp.) Dayanıklı Bitki Elde Edilmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 167 sy.
- Armstrong, JS, Pear FB, Pilcher SD 1993. The Russian Wheat Aphid (Homoptera: Aphididae) and the Lesion Nematode (*Pratylenchus thornei*) on Winter Wheat. Journal of the Kansas Entomological Society 66(1):69-74.
- Back, MA, Haydock PPJ, Jenkinson P 2002. Disease Complexes Involving Plant Parasitic Nematodes and Soilborne Pathogens. Plant Pathology 51(6): 683-697.
- Bagci SA, Hekimhan H, Mergoum M, Aktas H, Taner S, Tulukcu, E, Ekiz H 2001. Effects of Foot and Root Rot Pathogens on Yields of Some Cereal Genotypes and Determination of Resistance Sources. 4th Field Crops Congress 17-21 September, Tekirdağ, Turkey.
- Barker, KR, Olthof, TH 1976. Relationships Between Nematode Population Densities and Crop Responses. Annual Review Of Phytopathology 14(1): 327-353.
- Bhagawati, B, Goswami, BK 2000. Interaction of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on Tomato. Indian Journal of Nematology 30(1): 93-94.
- Castillo, P, Jimenez-Díaz, RM, Gómez-Barcina, A, Vovlas, N 1995. Parasitism of the Root-Lesion Nematode *Pratylenchus thornei* on Chickpea. Plant Pathology 44: 728-733.
- Castillo P, Vovlas N 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. Nematology Monographs & Perspectives Vol. 6, Brill, Leiden, the Netherlands, 529 pp.
- Charegani, H, Majzoob, S, Hamzehzarghani, H, Karegar-Bide, A 2012. Effect of Various Initial Population Densities of Two Species of *Meloidogyne* on Growth of Tomato and Cucumber in Greenhouse. Nematologia Mediterranea 40(2): 129-134.
- Çepni, E, Tunalı, B, Gürel, F 2013. Genetic Diversity and Mating Types of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* originating from Different Agro-Ecological Regions in Turkey. Journal of Basic Microbiology 53(8): 686-694.
- Edmunds, JE, Mai, WF 1966a. Effect of *Trichoderma viride*, *Fusarium oxysporum* and Fungal Enzymes Upon Penetration of Alfalfa Roots by *Pratylenchus penetrans*. Phytopathology 56(10): 1132.
- Edmunds, JE, Mai, WF 1966b. Population Increase of *Pratylenchus penetrans* in Alfalfa and Celery Roots Infected with *Trichoderma viride*. Phytopathology 56(11): 1320.
- Edmunds, JE, Mai, WF 1967. Effect of *Fusarium oxysporum* on Movement of *Pratylenchus penetrans* Toward Alfalfa Roots. Phytopathology 57(5): 468.
- Erginbas-Orakci, G, Morgounov A, Dababat, AA 2018. Determination of Resistance in Winter Wheat Genotypes To The Dryland Root Rots Caused by *Fusarium culmorum* in Turkey. International Journal Of Agriculture And Wildlife Science 4(2): 193 - 202.
- Fosu-Nyarko, J, Jones, MG 2016. Advances in Understanding The Molecular Mechanisms of Root Lesion Nematode Host Interactions. Annual Review of Phytopathology 54: 253-278.
- France, RA, Brodie, BB 1996. Characterization of *Pratylenchus penetrans* from Ten Geographically Isolated Populations Based on Their Reaction on Potato. Journal of Nematology 28(4): 520.
- Göze Özdemir, FG 2020. Isparta ve Burdur İlleri Tahıl Alanlarında Bitki Paraziti Nematodların Belirlenmesi ve Buğdayda Endoparazit Nematodların *Fusarium culmorum* ile Etkileşimlerinin Araştırılması. Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Doktora tezi, 273 sy.
- Göze Özdemir, FG, Yaşar, B, Elekcioglu, İH 2021. Distribution and Population Density of Plant Parasitic Nematodes on Cereal Production Areas of Isparta and Burdur Provinces of Turkey. Turkish Journal of Entomology 45(1): 53-64.
- Göze Özdemir, FG 2021. Reproductive Fitness of Five *Pratylenchus thornei* Populations From Isparta Province in Turkey on Sterile Carrot Discs, Wheat and Barley Cultivars. International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences 5(1):7-11.
- Göze Özdemir, FG, Yaşar, B, Arıcı, ŞE, Elekcioglu, İH, 2022. Interaction effect of Root Lesion Nematodes and *Fusarium culmorum* Sacc. on the disease complex on some wheat cultivars. Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences 32(1): 152-163.
- Hafez, SL, Al-Rehiyani, S, Thornton, M, Sundararaj, P 1999. Differentiation of Two Geographically Isolated Populations of *Pratylenchus neglectus* based on Their Parasitism of Potato and Interaction with *Verticillium dahliae*. Nematropica 29(1): 25-36.
- Hajihassani, A, Maafi, ZT, Hosseininejad, A 2013. Interactions Between *Heterodera filipjevi* and *Fusarium culmorum*, and Between *H. filipjevi* and *Bipolaris sorokiniana* in Winter Wheat. Journal of Plant Diseases and Protection 120(2): 77-84.
- Hassan, GA, Al-Assas, K, Al-Fadil, TA 2012. Interactions Between *Heterodera avenae* and *Fusarium culmorum* On Yield Components Of Wheat, Nematode Reproduction And Crown Rot Severity. Nematropica 42(2): 260-266.
- Hoseini, SMN, Pourjam, E, Goltapeh, EM 2010.

- Synergistic Studies on Interaction of Nematode-Fungal System of Tea Plant in Iran. *Journal Of Agricultural Technology* 6(3): 487-496.
- Hekimhan H, Bağcı SA, Nicol J, Arisoş RZ, Taner S 2004. Dryland Root Rot: A Major Threat To Winter Cereal Production Under Sub-Optimal Growing Conditions. 4th International Crop Science Congress 27 September-01 October, Brisbane, Australia.
- Inagaki, H, Powell, NT 1969. Influence of The Root-Lesion Nematode On Black Shank Symptom Development In Flue-Cured Tobacco. *Phytopathology* 59(10):1350-1355.
- Jin, X, Kotcon, JB, Morton, JB 1991. Research Note: Interactions between *Pratylenchus penetrans* and *Fusarium avenaceum* in Red Clover. *Nematropica* 21(1):105-109.
- LaMondia, JA 2003. Interaction of *Pratylenchus penetrans* and *Rhizoctonia fragariae* in Strawberry Black Root Rot. *Journal of Nematology* 35(1): 17.
- Mallaiah, B, Muthamilan, M, Prabhu, S, Ananthan, R 2014. Studies on Interaction of Nematode, *Pratylenchus delattrei* and Fungal Pathogen, *Fusarium incarnatum* Associated With Crossandra Wilt in Tamil Nadu, India. *Current Biotica* 8(2): 157-164.
- Mısırlıoğlu, B, Pehlivan, E 2007. Investigations on Effects on Plant Growth and Determination of Plant Parasitic Nematodes Found in Wheat Fields in The Aegean and Marmara Regions. *Bulletin of Plant Protection* 47: 13-29.
- Mokbel, AA, Ibrahim, IKA, Shehata, MRA, El-Saedy, MAM 2007. Interaction Between Certain Root Rot Disease Fungi and Rootknot Nematode *Meloidogyne incognita* on Sunflower Plants. *Egyptian Journal of Phytopathology* 35:1-11.
- Mudiope, J, Adipala, E, Coyne, D, Sikora, R 2004. Monoxenic Culture Of *Pratylenchus sudanensis* on Carrot Disks, With Evidence of Differences in Reproductive Rates Between Geographical Isolates. *Nematology* 6(4): 617-619.
- Nicol, JM, Rivoal, R 2008. Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes. In *Global Knowledge and Its Application for The Integrated Control and Management of Nematodes On Wheat* (Eds Ciancio, A. & Mukerji, K. G.) 243-287.
- Nord-Meyer, D, Sikora, RA 1983. Studies on The Interaction Between *Heterodera daverti*, *Fusarium avenaceum* and *F. oxysporum* on *Trifolium subterraneum*. *Revue De Nematologie* 6(2): 193-198.
- Olthof, TH 1990. Reproduction and Parasitism of *Pratylenchus neglectus* on Potato. *Journal of Nematology* 22(3): 303.
- Ortiz-Monasterio, I, Nicol, J 2004. Effects of The Root-Lesion Nematode, *Pratylenchus thornei*, on Wheat Yields in Mexico. *Nematology* 6(4): 485-493.
- Pasquali, M, Spanu, F, Scherm, B, Balmas, V, Hoffmann, L, Hammond-Kosack, KE, Migheli, Q 2013. FcStuA from *Fusarium culmorum* Controls Wheat Foot and Root Rot in A Toxin Dispensable Manner. *Plos One* 8(2): E57429.
- Pinochet, P, Cenis, JL, Fernandez, C, Doucet, M, Maruli, J 1994. Reproductive Fitness and Random Amplified Polymorphic DNA Variation Among Isolates of *Pratylenchus vulnus*. *Journal of Nematology* 26(3): 271.
- Riedel, RM 1988. Interactions of Plant-Parasitic Nematodes With Soil-Borne Plant Pathogens. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 24(1-3): 281-292.
- Rotenberg, D, MacGuidwin, AE, Saeed, IAM, Rouse, DI 2004. Interaction of Spatially Separated *Pratylenchus penetrans* and *Verticillium dahliae* on Potato Measured By Impaired Photosynthesis. *Plant Pathology* 53(3): 294-302.
- Saadabi, AM, Yassin, AM 2007. Role Of *Pratylenchus sudanensis*, A Root-Lesion Nematode In The Syndrome of Cotton Wilt In Gezira Area Of Sudan. *Agricultural Journal* 2: 415-418.
- Scherm B, Balmas V, Spanu F, Pani G, Delogu G 2013. *Fusarium culmorum*: the causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Mol Plant Pathol* 14(4):323-341.
- Seinhorst, JW 1998. The Common Relation Between Population Density And Plant Weight in Pot And Microplot Experiments With Various Nematode Plant Combinations. *Fundamental and Applied Nematology* 21(5): 459-468.
- Smiley, RW, Whittaker, RG, Gourlie, JA, Easley, SA 2005. *Pratylenchus thornei* Associated With Reduced Wheat Yield in Oregon. *Journal of Nematology* 37(1): 45.
- Smiley, RW, Nicol, JM 2009. Nematodes Which Challenge Global Wheat Production. *Wheat Science and Trade*, 171-187.
- Tunali, B, Nicol, JM, Hodson, D, Uçkun, Z, Büyük, O, Erdurmuş, D, Bağcı, SA 2008. Root and Crown Rot Fungi Associated With Spring, Facultative, And Winter Wheat in Turkey. *Plant Disease* 92(9): 1299-1306.
- Tiyagi, S.A, Parveen, M 1992. Pathogenic Effect of Root-Lesion Nematode *Pratylenchus thornei* on Plant Growth, Water Absorption Capability, and Chlorophyll Content of Chickpea. *International Chickpea Newsletter* 26: 18-20.
- Thompson, JP, Owen, KJ, Stirling, GR, Bell, MJ 2008. Root-Lesion Nematodes (*Pratylenchus thornei* and *P. neglectus*): A Review of Recent Progress in Managing A Significant Pest Of Grain Crops In Northern Australia. *Australasian Plant Pathology* 37(3): 235-242.
- Thompson JP, Clewett TG, Sheedy JG, Reen RA, O'Reilly MM 2010. Occurrence of root-lesion

- nematodes (*Pratylenchus thornei* and *P. neglectus*) and stunt nematode (*Merlinius brevidens*) in the northern grain region of Australia. *Australas Plant Pathol* 39:254–264.
- Toktay, H, Yavuzaslanoğlu, E, İmren, M, Nicol, J, Elekcioglu, İH, Dababat, A 2012. Screening for resistance to *Heterodera filipjevi* (Madzhidov) Stelter (Tylenchida: Heteroderidae) and *Pratylenchus thornei* (Sher & Allen) (Tylenchida: Pratylenchidae) sister lines of spring wheat. *Türkiye Entomoloji Dergisi* 36 (4): 455-461.
- Toktay, H, İmren M, Akyol, B, Evlice, E, Riley IT, Dababat, A 2020. Phytophagous Nematodes in Cereal Fields in Niğde Province, Turkey. *Turkish Journal of Entomology* 44 (4): 559-569.
- Wildermuth, GB, McNamara, RB 1994. Testing Wheat Seedlings for Resistance to Crown Rot Caused by *Fusarium graminearum* Group 1. *Plant Disease* 78: 949-953.
- Voss-Fels, KP, Qian, L, Gabur, I, Obermeier, C, Hickey, LT, Werner, CR, Gottwald, S 2018. Genetic Insights into Underground Responses to *Fusarium graminearum* Infection in Wheat. *Nature Scientific Reports* 8(1): 1-10.
- Yıldız, Ş 2007. Studies on the Nematode Fauna and Biodiversity of Şanlıurfa. University of Çukurova, Institute of Natural and Applied Sciences, Department of Plant Protection (Unpublished) Phd Thesis, Adana, Turkey, 102 pp.
- Zuckerman, BM, Mai, WF, Harrison, MB 1985. *Plant Nematology Laboratory Manual*. The University of Massachusetts Agricultural Experiment Station Amherst, Massachusetts 01003, pp. 212.

Efficacy of Entomopathogenic Fungi, *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* and *Metarhizium anisopliae* Against Green Shield bug, *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae)

Şeyma YİĞİT¹, İslam SARUHAN²

^{1,2}Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun-Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-2268-5103>, ²<https://orcid.org/0000-0003-0229-9627>

✉:seyma.yigit@omu.edu.tr

ABSTRACT

In this study, the entomopathogenic fungi; *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* and *Metarhizium anisopliae* were evaluated against fourth nymphs and adults of the green shield bug, *P. prasina*. The experiment was conducted both under field and laboratory conditions. Isolates included six *Beauveria bassiana*, one *Metarhizium anisopliae* and one *Isaria fumosorosea*. Isolates were bioassayed against nymphs and adults in both under field and laboratory conditions. Four replications of the bioassays were analyzed and evaluated daily for 14 days. LT₅₀ and LT₉₅ values for the experimented isolates ranged from 4.19 to 7.11 days and from 6.68 to 11.30 days, respectively in laboratory for nymphs, ranged from 4.98 to 7.18 days and from 8.03 to 12.22 days, respectively in laboratory for adults. LT₅₀ and LT₉₅ values for the experimented isolates ranged from 6.69 to 10.70 days and from 10.29 to 17.91 days, respectively in field for nymphs, ranged from 7.29 to 10.70 days and from 11.23 to 17.91 days, respectively in field for adults. It was obvious that BB1/21b (*Beauveria bassiana*) was the most virulent on adults of *P. prasina*. As a result, while the effect of the isolates used in the study was high due to controlled conditions in the laboratory, it was low in field conditions.

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 17.05.2021

Accepted : 29.09.2021

Keywords

Palomena prasina,
Green shield bug
Hazelnut
Entomopathogen fungus
Biological control

Entomopatogenik funguslar; *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* ve *Metarhizium anisopliae*'nın *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae) ya karşı etkileri

ÖZET

Bu çalışmada *Beauveria bassiana*'nın altı farklı ırkı, *Isaria (Paecilomyces) fumosorosea* ve *Metarhizium anisopliae* izolatlarının birer ırkı *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae)'nin nimf ve erginlerine karşı laboratuvar (25±1 °C, % 70 nem ve 16:8 h (ışıklı: karanlık) ve arazi koşullarında biyolojik etkinlik denemeleri yapılmıştır. Ayrıca bazı izolatların laboratuvar şartlarında *P. prasina*'nın yumurtaları üzerine etkinliği belirlenmiştir. Laboratuvar çalışmalarında izolatların 1x10⁸ konidi/mL spor yoğunluğu, 5'er adet ergin ve nimf kullanılmış ve çalışma 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Çalışma 14 gün boyunca takip edilerek yüzde ölüm oranları, LT₅₀ ve LT₉₅ değerleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda *P. prasina*'nın nimflerine karşı laboratuvar şartlarında kullanılan izolatların LT₅₀ ve LT₉₅ değerlerine bakıldığında sırasıyla; 4.19 - 7.11 gün ile 6.68 - 11.30 gün arasında bulunmuştur. Erginlerde ise LT₅₀ ve LT₉₅ değerlerine bakıldığında sırasıyla; 4.98 - 7.18 gün ve 8.03- 12.22 gün arasında belirlenmiştir. Arazi şartlarında ise nimflere karşı yapılan çalışmada izolatların LT₅₀ ve LT₉₅ değerlerine bakıldığında sırasıyla; 6.69 - 10.70 gün ve 10.29 -17.91 gün olarak belirlenmiştir. Erginlerde ise LT₅₀ ve LT₉₅ değerleri 7.29 - 10.70 gün ve 11.23 - 17.91 gün arasında değişmektedir. Yapılan çalışmada kullanılan tüm izolatların *P. prasina* ergin ve nimflerine karşı arazi şartlarındaki etkinliği

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 17.05.2021

Kabul Tarihi : 29.09.2021

Anahtar Kelimeler

Palomena prasina
Yeşil Kokarca
Fındık
Entomopatogen fungus
Biyolojik Mücadele

laboratuvar şartlarına nazaran daha düşük olmuştur. Sonuç olarak çalışmada kullanılan tüm izolatların *P. prasina*'nın ergin ve nimflerine karşı biyolojik mücadele de kullanılma potansiyeli sahip olduğu ortaya konulmuştur.

- Atıf Şekli:** Yiğit Ş, Saruhan İ 2022. Entomopatojenik funguslar; *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* ve *Metarhizium anisopliae*'nın *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae) ya karşı etkileri KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1051-1060. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.938399>
- To Cite :** Yiğit Ş, Saruhan İ 2022. Efficacy of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* and *Metarhizium anisopliae* against green shield bug, *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae) KSU J. Agric Nat 25 (5): 1051-1060. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.938399>

INTRODUCTION

Hazelnut is one of the most important Turkish export products with 2, 3 billion US dollars yearly. Approximately 70% of the world's hazelnuts are grown in Turkey especially in the Black Sea region and some areas of Marmara which are equal to nearly 700.000 ha. Almost 400.000 families earn their living from hazelnut cultivation (Erper et al., 2016; Anonymous, 2019a, Anonymous, 2019b). There are many insect pests attacking hazelnut orchards that affect hazelnut production as well as quality in Turkey. The one of the most crucial is the Pentatomidae family, which was not well understood to reduce the quality of hazelnut seed by the farmers (Tavella et al., 2001, Tuncer et al., 2004). The most vital member of the Pentatomidae family is *Palomena prasina* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) which is widely spread in Turkey's hazelnut orchards (Tuncer et al., 2005). On average, spotted kernel damage caused by *P. prasina* in Italy was 1.3-4.0 % and in Turkey 9.58% (Tavella et al., 2001; Saruhan and Tuncer, 2010).

This pest insect stays for almost five months in the hazelnut orchard causing a high economic loss nowadays, some chemicals have been used to control *P. prasina*. However, there is a need to develop alternative methods to cope with *P. prasina* due to the known side effects of pesticides used in hazelnut orchards. Biological control using entomopathogenic fungi is an alternative method instead of using chemicals pesticides. Entomopathogenic fungi (EPF) are common natural enemies of arthropods. Hence, they are attracting attention worldwide as potential biological control agents. There are more than 700 species of entomopathogens in the fungal kingdom (Roy et al., 2006; Sandhu et al., 2012). Fungal entomopathogens such as *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikof) Sorokin, *Isaria farinosa* (Holm: Fries), *Lecanicillium* spp. and *Simplicillium* spp. play an important role in regulating insect populations (Shah and Pell 2003, Zimmermann 2008, Gurulingappa et al., 2011).

Beauveria bassiana has wide host range of hosts including hemipteran species (Gouli et al., 2011). Due to its environmentally friendly nature, bio-persistence

and ability to kill pests at various developmental stages in their life cycle, the use of *B. bassiana* is a great importance in Integrated Pest Management (IPM) programs is of great importance (Kumar and Sultana, 2017). The spores of *B. bassiana* attach to the insect's cuticle, they germinate, the hyphae penetrate the insect's body, and proliferate. The insects die after about 3–5 days and infected cadavers may serve as a source of spores for secondary spread of the fungus. Entomopathogenic fungi especially insects with stinging sucking mouth structure used in the fight against cuticle and beetles by infecting agents. Entomopathogenic most of the fungi are *Metarhizium*, *Beauveria*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Nomuraea*, It belongs to the genus Entomophthora and Neozygite and is effective on many insect species (Deshpande, 1999). *Beauveria bassiana* and *Metarhizium* many harmful effects of *Anisopliae* entomopathogens used in biological control against insect species reported and their commercial preparations developed and released to the market (Wraight et al., 2001; Copping, 2004).

The aim of this study was to determine the pathogenicity of six isolates of *B. bassiana* (BB 1/23, BB1/216, B kür 1/3a, B kür 1/b, BÇE9 and BB 1/a), one isolate of *I. fumosorosea* (TR78-3), and one isolate *M. anisopliae* (TR-106) against fourth instar nymphs, adults and eggs of *P. prasina* L. under laboratory and field conditions.

MATERIALS and METHODS

Insect culture (adults)

The adults of *P. prasina* were collected from different hazelnuts orchards by beating-sheet method during april and may in Samsun province. Then, they have transferred to the insects were conserved in climate chamber for egg-laying. The eggs were surface disinfected by immersion in ethyl alcohol (70%) for 45 seconds. So fourth instar nymphs and adults were used. The insects were maintained in a climate chamber at 25±1°C, 70±5% Relative Humidity, and 16:8 hours light: dark photoperiods. After the pest was adapted to the laboratory condition, the insect culture was fed with fresh bean pods (Sırık 97) (*Phaseolus vulgaris* L.) and food was renewed daily. They developed into nymphs and adults.

Fungal Cultures

(The EPFs) *Metarhizium anisopliae* (TR-106) and *Isaria (Paecilomyces) fumosorosea* (TR-78-3), and *Beauveria bassiana* (BB1/23, BB1/216, B kür 1/3a, B kür 1/b, BB 1/a, BÇE9) used in the study were obtained from the stock cultures of Mycology Laboratories of, Ondokuz Mayıs University and Ankara University. The eight isolates of EPF (Table 1) were incubated on potato dextrose agar (PDA; Merck Ltd., Darmstadt, Germany) at 25 ± 1 °C for 10–

14 days. Conidia were harvested by sterile distilled water, containing 0.02% Tween 20. Then, conidia suspensions were filtered through four layers of sterile cheesecloth to remove mycelium, and conidia were counted under an Olympus CX-31 compound microscope (Olympus America Inc., Lake Success, NY), using a Neubauer hemocytometer to calibrate a suspension of 1×10^8 conidia mL⁻¹ of each isolate (Erper et al. 2016).

Table 1. Isolates of entomopathogenic fungi used in this study.

Tablo1. Çalışmada kullanılan entomopatojen fungusların detayları

Isolates	Isolate denomination	Host	Location of collection
<i>Metarhizium anisopliae</i>	TR-106	<i>Xylosandrus germanus</i>	Samsun province, Turkey
<i>Isaria fumosorosea</i>	TR-78-3	<i>Hyphantria cunea</i>	Samsun province, Turkey
<i>Beauveria bassiana</i>	BB 1/23	<i>Eurygaster integriceps</i>	Ankara province, Turkey
<i>Beauveria bassiana</i>	BB 1/216	<i>Eurygaster integriceps</i>	Ankara province, Turkey
<i>Beauveria bassiana</i>	B Kür 1/3a	<i>Eurygaster integriceps</i>	Ankara province, Turkey
<i>Beauveria bassiana</i>	B Kür 1/b	<i>Eurygaster integriceps</i>	Ankara province, Turkey
<i>Beauveria bassiana</i>	BÇE -9	<i>Eurygaster integriceps</i>	Ankara province, Turkey
<i>Beauveria bassiana</i>	BB 1/a	<i>Eurygaster integriceps</i>	Ankara province, Turkey

Conidial germination assessment

The viability of conidia of the eight isolates belonging to *B. bassiana*, *I. fumosorosea*, *M. anisopliae* was determined. A conidial suspension (200 µl) of each isolate at (1×10^4 conidia mL⁻¹) obtained by dilution was sprayed onto Petri plates (9-cm dia.), containing PDA (Merck Ltd., Darmstadt, Germany). These plates were incubated at 25 ± 1 °C. After 24 h of incubation, the percentage of germinated conidia was counted, using an Olympus CX-31 compound microscope at $\times 400$ magnification. Conidia were regarded as germinated, when they produced a germ tube, at least half of the conidial length. The germination ratios for each isolate were calculated after examining a minimum of 200 conidia from each of the three replicate plates (Saruhan et al. 2015).

Experimental design

This study used the nymphs and adults of *P. prasina* that were cultured in the laboratory in advance. During the experiments, 1 L plastic embedded cups were used. Bottoms of the cups were embedded with filter papers moisturized by sterile-distilled water. Holes were pierced into the cover of cups to allow aeration. Five nymphs and 5 adults of *P. prasina* were placed on plastic cups. Conidial suspensions (1×10^8 conidia mL⁻¹) of the entomopathogenic fungi were applied to the nymphs and adults of *P. prasina* (5 mL per cup) using a Potter spray tower (Burkard, Rickmansworth, Hertz UK). Only sterile-distilled water was sprayed to control the plastic cups. The nymphs and adults were fed with fresh (Sırık 97)

been and renewed daily. After supplying the feed to the nymphs and the adults, the plastic cups were closed and incubated at 25 ± 1 °C, $75 \pm 5\%$ RH, and 16:8 hours light: dark photoperiod for 14 days in a Binder incubator (Model KBWF 240; Germany). The above culture was observed daily. The trials were observed for 14 days and during this period after the dead individual numbers were recorded and the cadavers were removed. The laboratory bioassay for eggs was conducted to examine effects of isolates on egg mortality. The conidial suspensions (1×10^8 conidia mL⁻¹) (2 mL per Petri dish) were applied to *P. prasina*'s eggs. For each isolates two egg mass were treated.

The eggs of *P. prasina* taking from the field culture were washed with sterile distilled water and two eggs of 28 pieces (28x2=56) eggs masses were placed on bottoms of Petri dishes cup cover with filter paper.

Field experiments

The hazelnut orchards were selected and cheesecloth cages (30 x 75 cm) were attached to each branch (Cages are attached to branches with fruit for feeding insects). Ten nymphs and the ten adults/replicate were put into separate cages. Then conidial suspensions (1×10^8 conidia mL⁻¹) were sprayed into those bags. Then conidial suspensions (1×10^8 conidia mL⁻¹) were sprayed into those cages. However, only sterile distilled water was sprayed to the control cages. It was carried out in four repetitions according to the coincidence blocks trial design.

The above cultures were observed for 14 days, and

during this period we recorded the dead ones on days of 1, 3, 5, 7 and 14.

Dead individuals on which the fungal sporulation was observed, were counted under a Leica EZ4 educational stereomicroscope at 40-70X magnification. Evidence of *B. bassiana*, *I. fumosorosea* and *M. anisopliae* on nymph and adult cadavers was verified by microscopic inspection (Meng,2017).

The biological efficiency values were obtained by using Abbott's formula.

Statistical analysis

The death rate was calculated by dividing the dead insects by the initial number of insects. The mortality data were corrected with Abbott's formula (Abbott, 1925). Serial-time mortality data from bioassays were examined by probit analysis, also, SPSS software (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, Version 21) was

used to calculate 50% lethal time (LT₅₀) and 95% lethal time (LT₉₅).

RESULT and DISSCUSSION

All fungi evaluated in this study were effective against the nymphs and the adults of *P. prasina* in the laboratory. More than 85% of the *P. prasina* nymph died at the end of 14th days. *Beauveria bassiana* B kür 1/b, BB1/a, BB1/21b and Bkür1/3a isolates caused complete (100%) mortality on the nymphs at the end of the 14th days. On the other hand, *M. anisopliae* TR-106, *B. bassiana* BB1/23, and *I. fumosorosea* TR-78-3 showed 95, 90 and 85% mortality at the same application period, respectively (Figure 1). Statistical analysis of the efficacy rate was found to be significant. Under laboratory conditions, over 60% mortality rate for all the adults of *P. prasina* was achieved at the end of the 14th day (Table 2).

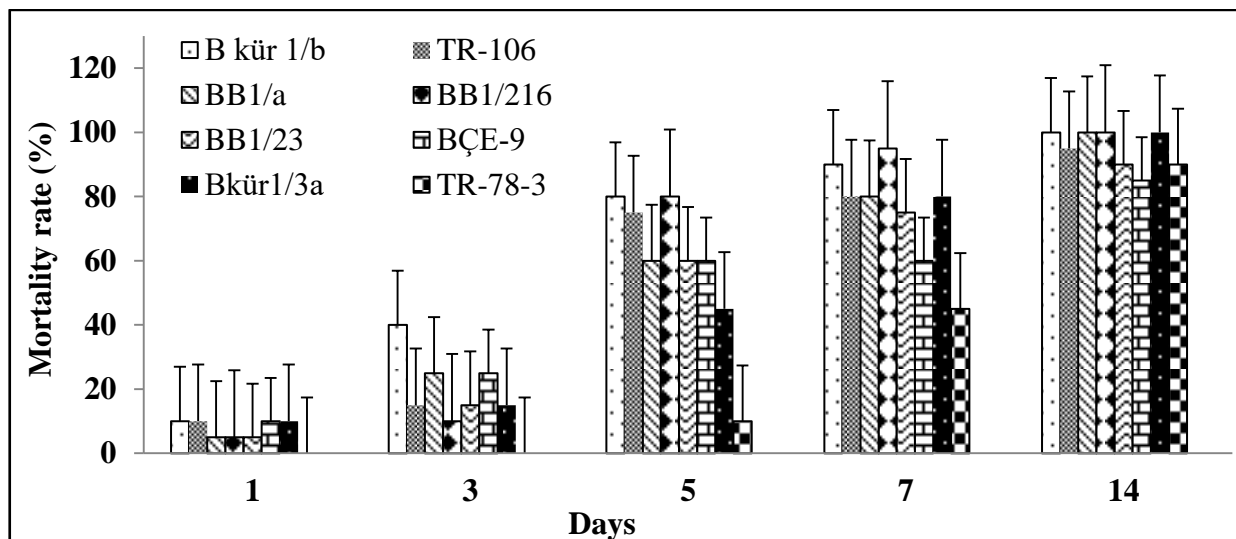


Figure 1. Effect of entomopathogenic fungi on 4th instar nymphs of *Palomena prasina* (% mortality rate) on laboratory conditions

Şekil 1. Laboratuvar koşullarında *Palomena prasina* 4. dönem nimflerine entomopatojen fungusların etkisi

Table 2. LT₅₀ and LT₉₅ values of Entomopathogenic fungi against 4th instar nymphs of *Palomena prasina* for laboratory condition

Tablo 2. Laboratuvar koşullarında *Palomena prasina* 4. dönem nimfleri için entomopatojen fungusların LT₅₀ and LT₉₅ değerleri

Isolates	LT ₅₀ (95% fiducial limits for days)	LT ₉₅ (95% fiducial limits for days)
BÇE -9	5.26 (3.72-6.89)	11.30 (8.91-18.30)
BB 1/23	5.14 (4.04-6.24)	9.47 (7.94-12.82)
BB1/a	4.59 (3.82-5.33)	8.25 (7.17-10.19)
BB1/216	4.19 (2.83-5.54)	6.68 (5.38-11.03)
Bkür 1/3a	4.93 (3.63-6.30)	8.75 (7.12-13.06)
TR – 106	4.50 (2.44-6.30)	8.63 (6.68-15.72)
TR-78-3	7.11 (6.85-7.37)	9.61 (9.16-10.21)
Bkür 1/b	3.58 (2.76-4.31)	7.15 (6.11-9.05)

Figure 2 show that the isolates of B kür 1/b was 100% efficient, while the isolates of Bkür1/3a, TR-106, BÇE-9, TR-78-3, BB 1/a, BB1/216, and BB 1/23; 80%,75%, 70%, 70% 65%, 65%, and 60% mortality, respectively at the end of the 14th day.

It was obvious that BB1/216 was the fastest killer of *P. prasina*. Under laboratory conditions, over 60% death rate for all the adults of *P. prasina* was achieved at the end of the 14th day (Table 3).

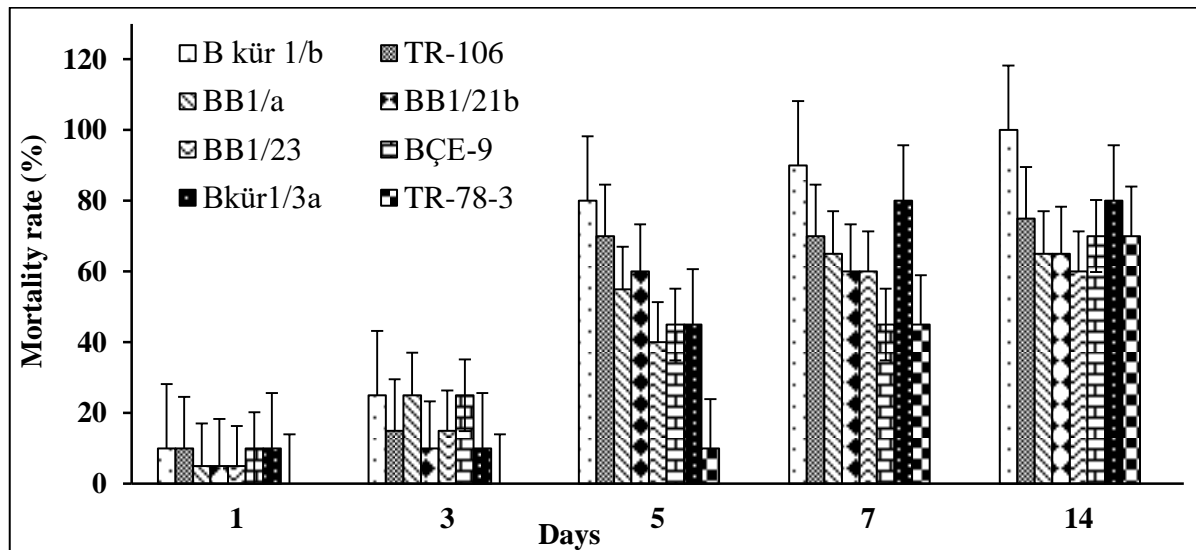


Figure 2. Effect of entomopathogenic fungi on adults of *Palomena prasina* (% mortality rate) on laboratory conditions ($P \geq 0.05$)

Şekil 2. Laboratuvar koşullarında *Palomena prasina* erginlerine entomopatojen fungusların etkisi

Table 3. Entomopathogenic fungal isolates against adults of *Palomena prasina* LT_{50} and LT_{95} values 14 days post-treatment on laboratory conditions.

Tablo 3. Laboratuvar koşullarında *Palomena prasina* erginlerine entomopatojen fungusların uygulanmasıyla 14 gün sonundaki LT_{50} and LT_{95} değerleri

Isolates	LT_{50} (95% fiducial limits for days)	LT_{95} (95% fiducial limits for days)
BÇE -9	6.02(3.52-10.33)	12.22(8.88-36.99)
BB 1/23	6.39(5.26-7.82)	11.44(9.44-16.38)
BB1/a	6.15(4.79-7.94)	11.37(9.11-18.04)
BB1/216	4.98(2.32-7.30)	9.48(7.21-20.82)
Bkür 1/3a	5.35(4.41-6.29)	9.26(7.93-11.92)
TR - 106	5.07(3.65-6.41)	8.03(7.39-13.44)
TR-78-3	7.18(6.53-7.95)	10.58(9.44-12.78)
Bkür 1/b	5.30(3.66-7.03)	8.91(7.14-15.33)

In a similar study with *P. prasina*, Erper et al. (2016) found that *Lecanicilium muscarium* and *B. bassiana* gave 98% and 95% mortality, respectively. Many studies claimed that *M. anisopliae* and *B. bassiana* were effective against Coleoptera species at different life stages (Prazak, 1991; Gindin et al., 2006; Castrillo et al., 2011; Ansari and Butt, 2012; Hirsch and Reineke, 2014; Carrillo et al., 2015; Tuncer et al., 2016; Kushiyeve et al., 2017; Liu et al., 2017). Gindin et al. (2006) studied under laboratory conditions and discovered 85% death rate for adults of the *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier that were sprayed with 1×10^8 spore mL^{-1} of *M. anisopliae* Ru isolates.

Another study found that *M. anisopliae* and *B. bassiana* were effective on adults of *Hylobius abietis* L. which is known as the most dangerous pests in the forest, especially *M. anisopliae* ARSEF4556 isolate was entirely efficient (%100 mortality) on the death rate of pest at the 12th day (Ansari and Butt, 2012). Concentrations of 1×10^6 and 1×10^8 from *Isaria farinosa* (Holm.) and *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Sordariomycetes: Hypocreales) were tested against *Aelia rostrata* Boh. (Hemiptera: Pentatomidae) and 1×10^8 of *I. farinosa* was observed as efficient giving mortality rate of 70% on the 12th day whereas 1×10^8 of *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Sordariomycetes:

Hypocreales) was found to be 100% efficient on the 9th day (Muştu et al. 2011).

Gouli et al. (2012) declared that three isolates of *B. bassiana* and two isolates of *M. anisopliae* were tested against *Halyomorpha halys* and were found to be 85% and 100% effective on the 9th and 12th day respectively. Moreover, Gouli et al., (2012) claimed

that *B. bassiana* had more efficacy than *M. anisopliae*. Goettel et al. (2005) postulated that entomopathogenic fungi could survive in different environmental conditions. Even though the isolates of B kür 1/6b, BÇE-9, BB1/216, Bkür1/3a, and TR-78-3 were efficient in the laboratory, under the field conditions they had a lower efficiency (Figure 3).

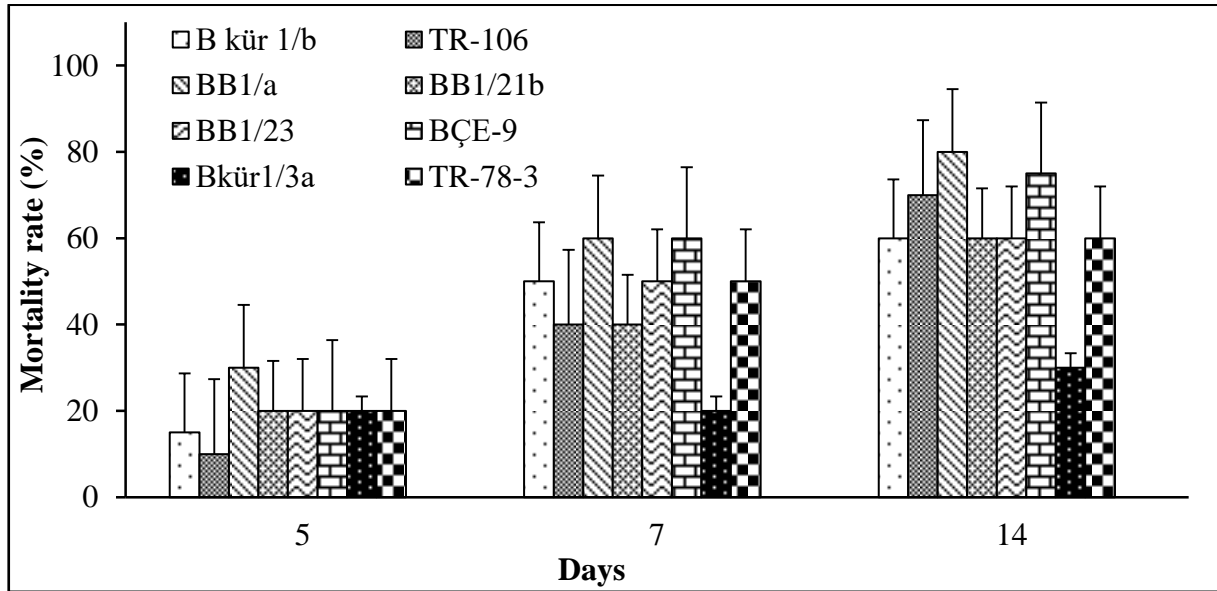


Figure 3. Effect of entomopathogenic fungi on 4th instar nymphs of *Palomena prasina* (% mortality rate) on field conditions. ($P \geq 0.05$)

Şekil 3. Tarla koşullarında *Palomena prasina*'nin 4. dönem nimflerine entomopatojen fungusların etkisi

Under field conditions, at the lethal time values, for the isolates of the fungi sprayed against the nymphs of *P. prasina* were as follows: LT_{95} values were 10.29 days for BB1/a, 10.57 days for Bkür1/3a, 11.14 days for BB 1/23, 11.92 days for BÇE-9, 12.39 days BB 1/216, 13.06 days for B kür 1/b, 17.91 days for BB 1/216, and for TR-78-3 (Table 4).

According to Figure 4, at the end of the 14th day in the

field conditions, the efficiency of the fungi Bkür1/3a, BB 1/a, B kür 1/b, BB1/216, BB 1/23, BÇE-9, TR-78-3 and TR-106 against the adults of *P. prasina* was 75, 70, 60, 60, 60, 50, 45, and 30%, respectively. Even though the isolates B kür 1/b was (100%) more efficient in the laboratory, than under the field conditions which decreased to reach only 50%.

Table 4. Entomopathogenic fungal isolates against 4th instar nymphs of *Palomena prasina* LT_{50} and LT_{95} values 14 days post-treatment on field conditions.

Tablo 4. Tarla koşullarında *Palomena prasina*'nin 4. Dönem nimflerine entomopatojen fungusların uygulanmasıyla 14 gün sonundaki LT_{50} and LT_{95} değerleri

Isolates	LT_{50} (95% fiducial limits for days)	LT_{95} (95% fiducial limits for days)
BÇE -9	7.77(6.51-10.29)	11.92(9.71-20.76)
BB 1/23	7.74(7.41-8.11)	11.14(10.44-12.11)
BB1/a	6.69(5.58-8.04)	10.29(9.34-16.53)
BB1/216	7.95(6.85-10.01)	12.39(10.24-19.06)
Bkür 1/3a	7.02(5.94-8.38)	10.57(8.97-15.11)
TR - 106	10.70(Unable)	17.91(Unable)
TR-78-3	10.70(Unable)	17.91(Unable)
Bkür 1/b	8.09(6.19-18.54)	13.06(9.77-53.85)

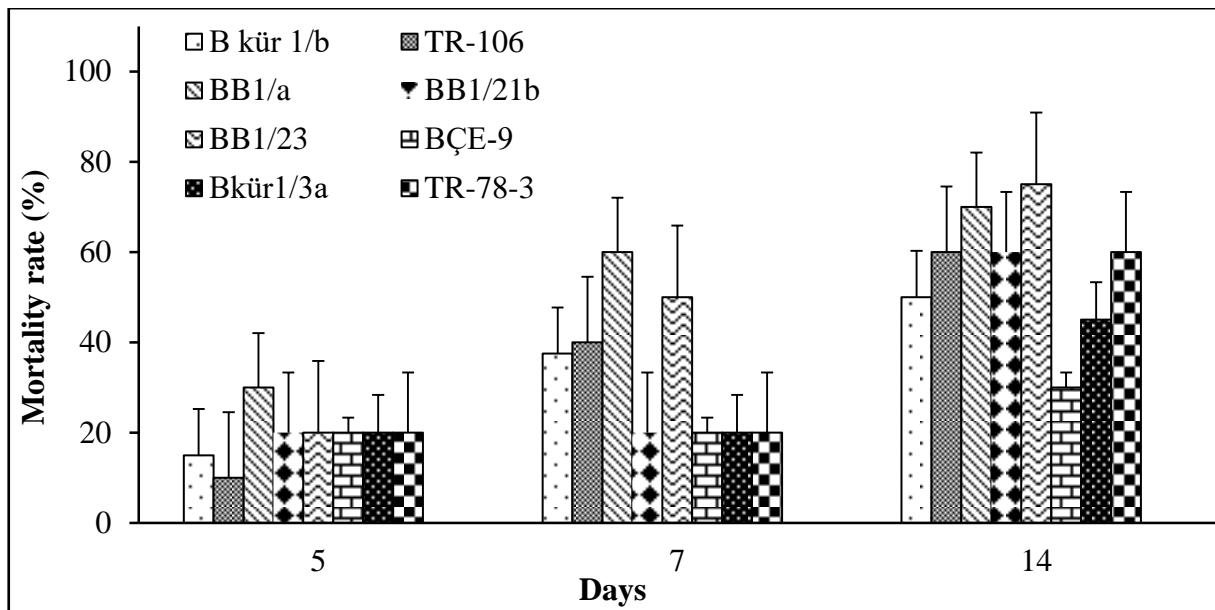


Figure 4. Effect of entomopathogenic fungi on adults *Palomena prasina* (% mortality rate) on field conditions
Şekil 4. Arazi koşullarında *Palomena prasina*'nın erginlerine entomopatojen fungusların etkisi

Under field conditions, at the lethal time values, in table 5, for isolates of fungi sprayed against the adult of *P. prasina* were as mentioned below LT_{95} values were 11.23 days for Bkür1/3a, 11.94 days for BB1/a, 11.95 days for BB1/23, 14.23 days for B kür 1/b, 14.89 days for BÇE-9, 17.91 days for BB1/216, TR-78-3 and TR-106.

When the entomopathogenic fungi were sprayed on the eggs of *P. prasina* the egg hatchability was 6, 40 and 75% for *Beaveria bassiana* Bkür 1/b, BB1/216

and BB 1/a, respectively (Table 6). Samuels *et al.* (2002) reported that egg hatching fluctuated between 7.8%-43.3% when six different *B. bassiana* isolates applied against *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) at 5×10^6 conidia/mL. As a result of the application of different entomopathogenic fungi isolates against *Nezara viridula* eggs, the egg hatching ranged from 0 to 63.33% (Permadi *et al.*, 2020).

Table 5. Entomopathogenic fungal isolates against adults of *Palomena prasina* LT_{50} and LT_{95} values 14 days post-treatment on field conditions.

Tablo 5. Tarla koşullarında *Palomena prasina*'nın erginlerine entomopatojen fungusların uygulanmasıyla 14 gün sonundaki LT_{50} and LT_{95} değerleri

Isolates	LT_{50} (95% fiducial limits for days)	LT_{95} (95% fiducial limits for days)
BÇE -9	9.21(7.22-31.42)	14.89(10.78-85.77)
BB 1/23	8.07(7.27-9.33)	11.95(10.34-15.78)
BB1/a	7.29(4.94-16.19)	11.94(8.95-55.81)
BB1/21	10.70(Unable)	17.91(Unable)
Bkür 1/3a	7.37(6.43-8.67)	11.23(9.59-15.39)
TR - 106	10.70(Unable)	17.91(Unable)
TR-78-3	10.70(Unable)	17.91(Unable)
Bkür 1/b	9.01(7.23-20.71)	14.23(10.62-51.34)

Table 6. Effects of entomopatogenic fungi isolates on *Palomena prasina* eggs hatchability.

Tablo 6. Entomopatojen fungusların *Palomena prasina* yumurta açılımına etkisi

Isolates	Days (% hatchability rate)			
	1	3	7	14
BB 1/a	0	0	60	75 b*
B kür 1/b	0	0	6	6 d
BB1/21	0	0	35	40 c
Control	0	0	75	100 a

*Within columns, means followed by the same small letter do not differ significantly

In a study, *B. bassiana*, *M. anisopliae* isolates against *Orosanga japonica* (Melichar, 1898) (Hemiptera: Ricaniidae) were used both in the laboratory and in field conditions. As a result of the study, *B. bassiana* isolate was effective against the nymphs and adults of the pest at a rate of 74% and 18.5% in the laboratory, respectively, while it was 50.5% and 11% in field conditions. In the same study, *M. anisopliae* isolate was effective against the nymphs and adults of the pest 80% and 59.5% in laboratory. But this ratios were, 36% and 20% in field conditions, respectively (Göktürk, 2020). The effects of the isolates used in the study on adults were found to be lower than nymphs both in laboratory and field conditions. *M. brunneum* isolate was used against *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) and it was stated that nymphs are more sensitive than adults (Romero et al.2020). In another study, it was determined that nymphs of *Halyomorpha halys* were more susceptible than their adults to some entomopathogenic fungi (Pike, 2014).

CONCLUSIONS

When considering the strategies with in which entomopathogenic fungi can be used in biological control, it is sometimes difficult to apply. But biological control (entomopatogenic fungi used to insects) is very important. It is possible to use the tested entomopathogenic fungi as potential biocontrol agents against *P. prasina* in quite large hazelnut plantations of Turkey, rather than using detrimental chemical pesticides. It is virulence that biocontrol fungi (especially BB1/a, BCE-9 and TR-106 for nymphs, BB1/23 and BB1/a for adults) to field conditions for *P. prasina*. These results show that this isolates could constitute a viable biological control agent for *P. prasina*.

ACKNOWLEDGMENTS

My sincere thanks go to Prof. Dr. Fikret DEMIRCI (Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection) and Prof. Dr. Ismail ERPER (Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection). My other heartfelt appreciation goes to Ondokuz Mayıs University's Scientific Research Project (BAP) (PROJECT NO: PYO.ZRT.1901.18.016) for the financial support.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

- Abbott WS 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. econ. Entomol, 18(2): 265-267.
- Anonymous 2019a. Fındık raporu, Şubat 2015, Ankara. T.C. Gümrük ve Ticaret Bakanlığı, Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü, 29s. <http://koop.gtb.gov.tr/data/53319cec487c8eb1e43d7299/2014%20F%C4%B1nd%C4%B1k%20Raporu.pdf>. Accessed 25 April 2020
- Anonymous 2019b. 2014 yılı Fındık sektör raporu. Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü, <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/raporlar/2014findiksektorraporu.pdf>. Accessed 25 April 2020.
- Ansari MA, Butt TM 2012. Susceptibility of different developmental stages of large pine weevil *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae) to entomopathogenic fungi and effect of fungal infection to adult weevils by formulation and application methods. Journal of Invertebrate Pathology. 111(1):33-40.
- Carrillo D, Dunlap CA, Avery PB, Navarrete J, Duncan RE, Jackson MA, Behle RW, Cave RD, Crane J, Rooney AP, Peña JE 2015. Entomopathogenic fungi as biological control agents for the vector of the laurel wilt disease, the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae). Biological Control. 81:44-50.
- Castrillo LA, Griggs MH, Ranger CM, Reding ME, Vandenberg JD 2011. Virulence of commercial strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) against adult *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) and impact on brood. Biological Control, 58: 121-126.
- Copping, L.G., 2004. The Manual of Biocontrol Agents. 3rd Ed., The BioPesticide, British Crop Protection Council, Alton, UK, pp. 702
- Deshpande, M.V., 1999. Mycopesticide production by fermentation: Potential and challenges. Journal Critical Reviews in Microbiology, 25(3): 229-243.
- Erper I, Saruhan I, Akca I, Aksoy HM, Tuncer C 2016. Evaluation of some entomopathogenic fungi for controlling the Green Shield Bug, *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control. 26(3):573-578.
- Gindin G, Levinski S, Glazer I, Soroeker V 2006. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the red palm weevil. Phytoparasitica. 34 (4):370-379.
- Goettel MS, Eilenberg J, Glare T 2005. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. In: Gilbert, L.I.,

- Iatrou, K., Gill, S.S. (eds). Comprehensive Molecular Insect Science. pp. 361-405.
- Gouli V, Gouli S, Skinner M, Hamilton G, Kim JS, Parker BL 2012. Virulence of select entomopathogenic fungi to the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys*(Stål) (Heteroptera: Pentatomidae). Pest management science. 68(2): 155-157.
- Göktürk T 2020. Determination of the Lethal Effects of Some Entomopathogens on *Orosanga japonica* (Melichar, 1898) (Hemiptera: Ricaniidae). Turk J Agric Res. 7(3): 305-314
- Gurulingappa P, Mcgee P, Sword GA 2011. In vitro and in plants compatibility of insecticides and the endophytic entomopathogen, *Lecanicillium lecanii*. Mycopathologia. 172: 161-168.
- Hirsch J, Reineke A 2014. Efficiency of commercial entomopathogenic fungal species against different members of the genus *Otiorhynchus* (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory and semi-field conditions. Journal of Plant Diseases and Protection, 121(5): 211-218.
- Kumar S, Sultana R, Yanar, D 2017. Application of entomopathogenic fungi for insect pests control. Journal of Entomology and Zoology Studies, 5(6): 07-13.
- Kushiyeve R, Tuncer C, Erper I, Saruhan I 2017. Effectiveness of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Anisandrus dispar* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). ix. International congress on Hazelnut. 152 p, 15-19.
- Liu J, Zhang Y, Liu T, Tuncer C, Cheng Y 2017. Screening of a highly pathogenic strain against Hazelnut weevil and microscopic observation on its infection process. Journal of Beijing Forestry University. 39(3): 32-37.
- Meng, X., Hu, J., Ouyang, G. (2017) The isolation and identification of pathogenic fungi from *Tessaratomia papillosa* Drury (Hemiptera: Tessaratomidae). Peerj, 5: 1-14 <https://doi.org/10.7717/peerj.3888>
- Mustu M, Demirci F, Kocak E 2011. Mortality effects of *Isaria farinosa* (Holm.) and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Sordariomycetes: Hypocreales) on *Aelia rostrata* Boh. (Hemiptera:Pentatomidae). Turkish Journal of Entomology. 35(4): 559-568.
- Pike TJ 2014. Interactions Between The Invasive Brown Marmorated Stink Bug, *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae), And Entomopathogenic Fungi. Thesis submitted to the Faculty of the Graduate School of the University of Maryland, College Park, in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. P 58.
- Prazak RA 1991. Studies on indirect infection of *Trypodendron lineatum* Oliv with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Zeitschrift for Angewandte Entomologie. 111: 431-441.
- Romero GR, Antúnez C, Sarubbi-Orue H, Garrido-Jurado B, Valverde-García P, Schade M, Popo TM (2020). Virulence of *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) Strains Against Stinkbugs *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae). Journal of Economic Entomology, 113 (5): 2540-2545
- Roy HE, Majerus MEN 2006. *Harmonia axyridis*: A successful biocontrol agent or an invasive threat? In: Eilenberg J, Hokkanen HMT (Eds) An ecological and societal approach to biological control. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 295-309
- Samuels RI, Coracini DLA, Dos Santos C M, Gava CAT 2002. Infection of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) eggs by the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. Biological control, 23(3): 269-273.
- Sandhu SS, Sharma AK, Beniwal V, Goel G, Batra P, Kumar A, Jaglan S, Sharma AK and Malhotra S 2012. Myco-Biocontrol of Insect Pests: Factors Involved, Mechanism, and Regulation. Journal of Pathogens. Article ID:126819. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/126819>.
- Saruhan I, Tuncer C 2010. Research of damage rate and type of green shield bug (*Palomena prasina* L. Heteroptera: Pentatomidae) of hazelnut. Anadolu Journal of Agricultural Sciences. 25(2): 75-83.
- Saruhan I, Erper I, Tuncer C, Akca I 2015. Efficiency of some entomopathogenic fungi as biocontrol agents against *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae). Pak. J. Agri. Sci, 52(2): 273-278.
- Shah PA, Pell JK 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. Applied microbiology and biotechnology. 61(5-6): 413-423.
- Tavella L, Arzone A, Miaja ML, Sonnati C 2001. Influence of Bug (Heteroptera, Coreidae and Pentatomidae) feeding activity on hazelnut in Northwest Italy. Acta Hort.556: 461-468.
- Tuncer C, Saruhan I, Akça I 2004. The Insect Pest Problem Affecting Hazelnut Kernel Quality in Turkey. 6. International Hazelnut Congress. Tarragona, Spain ActaHort., p. 88.
- Tuncer C, Saruhan I, Akça I 2005. The Insect Pest Problem Affecting Hazelnut Kernel Quality in Turkey. Acta Hort. 668: 367-376.
- Tuncer C, Kushiyeve R, Saruhan I, Erper I 2016. Determination of the effectiveness of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Turkey 6th Plant Protection Congress with International Participation. p 127.

Wraight, S.P., Jackson, M.A., Kock, S.L., 2001. Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. In: T.M. Butt, C. Jackson and N. Magan (Eds.), Fungi as biocontrol agents: Progress problems and potential, CABI Publishing, pp. 253-287.

Zimmermann G 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. Biocont Sci Technol.18: 865–901.

BGN-1 kodlu Türk Diatom Toprağının Alman Hamamböceği (*Blatella germanica* L.)' nin Erginlerine Karşı Ölüm Etkisi

Kadir ÖZCAN¹, Hasan TUNAZ^{2*}

^{1,2}Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Avşar Kampüsü, 46100 Onikişubat/ Kahramanmaraş

¹<https://orcid.org/0000-0003-1934-2628>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4942-6056>

✉: htunaz@ksu.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, yerel bir diatom toprağı olan BGN-1'in, ergin Alman hamamböceklerine (*Blatella gemanica* (L.)) karşı beton, seramik ve parke yüzeyler üzerindeki ölümcül etkileri araştırılmıştır. Bu üç farklı yüzey üzerinde, *B. germanica* erginlerii 6 gün boyunca 2.5, 5, 10 ve 20 g/m² dozlarda BGN-1 kodlu diatom toprağına maruz bırakıldı. Tüm yüzey uygulamalarında BGN-1 diatom toprağı maruz kalma süresi ve diatom dozlarının, *B. germanica* erginlerinin ölüm oranlarında önemli etkiye neden olduğu görülmüştür. BGN-1 diatom toprağı 2.5 g/m² dozunda tüm uygulama yüzeylerinde en düşük böcek ölüm etkisine sahip olduğu görülmüştür. 2.5 g/m² BGN-1 dozu beton yüzeyde 6 gün sonra % 100 *B. germanica* ergin ölümüne neden olurken ve seramik ve parke yüzeyde dördüncü günün sonunda % 100 ölüme neden olmuştur. Diğer yandan, 5 ve 10 g/m² BGN-1 dozları ikinci günün sonunda tüm yüzeylerde % 100 *B. germanica* ölümüne neden olurken, en yüksek 20 g/m² BGN-1 dozu uygulanan tüm yüzeylerde ilk gün sonunda %100 *B. germanica* ölümüne neden olmuştur. Genel olarak, BGN-1 diatom toprağının *B. germanica* erginlerine karşı ölüm aktivitesinin her üç yüzeyde de benzer olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonunda, BGN-1 kodlu Türk diatom toprağının, medikal bir zararlı olan *B. germanica* ile mücadelede iyi bir alternatif olabileceği ortaya çıkmıştır.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 14.09.2021

Kabul Tarihi : 05.11.2021

Anahtar Kelimeler

Türk daitom toprağı

Blatella germanica

Yüzey uygulması

Mortality Effects of Turkish Diatomaceous Earth Coded BGN-1 Against German Cockroach (*Blatella germanica*) Adults

ABSTRACT

In this study, the mortality effects of BGN-1, a local diatomaceous earth, on concrete, ceramic parquet surfaces against adult German cockroaches (*Blatella gemanica* (L.)) were investigated. *B. germanica* adults were exposed to BGN-1 coded diatom soil at 2.5, 5, 10 and 20 g/m² doses on these three different surfaces for 6 days. In all surface applications of BGN-1 diatom soil, exposure time and diatom doses were found to have a significant effect on mortality rates of *B. germanica* adults. It was observed that BGN-1 diatomaceous earth at a dose of 2.5 g/m² had the lowest insect mortality effect on all application surfaces. While 2.5 g/m² BGN-1 dose caused 100% mortality of *B. germanica* adult on concrete surface after 6 days, it caused 100% mortality at the end of the fourth day on ceramic and parquet surfaces. On the other hand, 5 and 10 g/m² BGN-1 doses caused 100% *B. germanica* mortality on all surfaces at the end of the second day, while the highest 20 g/m² BGN-1 dose caused 100% *B. germanica* mortality at the end of the first day on all applied surfaces. It was determined that the mortality activity of BGN-1 diatomaceous earth against *B. germanica* adults was similar on all three surfaces. At the end of this study, it was revealed that Turkish diatom earth with the code BGN-1 can be a good alternative in the control against a medical pest, *B. germanica*.

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 15.09.2021

Accepted : 05.11.2021

Keywords

Turkish diatomaceous earth

Blatella germanica

Surface application

Atıf Şekli:	Özcan K, Tunaz H 2022. BGN-1 kodlu Türk diatom toprağının Alman hamamböceği (<i>Blatella germanica</i> L.)'nin erginlerine karşı ölüm etkisi KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1061-1067. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.995153
To Cite :	Ozcan K, Tunaz H 2022. Mortality effects of Turkish diatomaceous earth coded BGN-1 against German cockroach (<i>Blatella germanica</i>) adults. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1061-1067. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.995153

GİRİŞ

Alman hamamböcekleri, insanlarla ortak yaşam alanında dünyada yaygın olarak bulunan bir böcek olup sıcak ve nemli yerlerde, genellikle ev, restoran, fırın, hastane gibi üretimin yapıldığı yerlerde hayatını insanlarla paylaşan bir canlıdır. Hamamböcekleri bir yerden diğerine çok küçük açıklıklardan geçebildiği gibi, uzun mesafelerde paketlenmiş patates ve soğan gibi içecek kutuları, konserve yiyecekler, diğer yiyecek paketleri ve elbise kıvrımları ile de geçebilirler. Hamamböcekleri, yaşam alanlarını dünyadaki insanlarla paylaşmaları ve kolera, veba ve çocuk felci gibi hastalıklara vektörlük yapmaları nedeniyle büyük önem taşımaktadır (Burgess ve ark., 1973; Çetin ve ark., 1973). Ayrıca hamamböcekleri alerjik reaksiyonlara neden olabileceği gibi vektör olarak astımı da tetikleyebilmektedir (Waldvogel ve ark., 1999). Alman hamamböcekleri yaşam döngülerini bu şekilde sürdürürken, insanlarla ortak yaşam alanlarının paylaşılması nedeni ile üzerlerinde tükürük, dışkı ve yumurta bırakması sonucunda gıda zehirlenmelerinin çoğunda aktif rol alabilmektedir. Hareket ettikleri yerlerde kötü kokular bırakırlar. Bu nedenle hamamböcekleri hem tıbbi hem de ekonomik açıdan zararlıdır (Roberts, 1996).

Evlerde ve üretim alanlarında zararlı böceklerin mücadelesinde genellikle sentetik insektisitler kullanılmaktadır. Tarih boyunca, klorlu hidrokarbon bileşikler (dichloro diphenyl trichloroethane, DDT gibi), organofosfat bileşikler (chlorpyrifos, malathion, parathion gibi), piretroid bileşenleri (alphamethrin, cypermethrin, deltamethrin gibi) ve karbamat bileşenleri (aldicarbaryl gibi) hamamböcekleri ile mücadele etmek için kullanılmıştır. Hamamböcekleriyle mücadele kapsamında bahsedilen insektisitlerin hem çevreye ve insan sağlığına hem de faydalı eklembecaklılara zararı gibi çok çeşitli etkileri ve zararlı böceklerin ilaçlara karşı direnç mekanizmasının gelişmesine neden olması gibi bir çok negatif etkisi bulunmaktadır (Mansouri ve ark., 2004). Bu bağlamda, hamamböceklerine karşı yaygın olarak kullanılan bu insektisitlere karşı direnç geliştirmişlerdir (Rust ve Reiersen, 1991; Dong ve ark., 1998; Jialin ve ark., 2007). Hamamböceklerini kontrol altına almak için kullanılan bu pestisitlerin tüm bu olumsuzlukları nedeniyle, bu zararlıyı kontrol etmenin yeni yolları aranmaktadır.

Diatom toprakları ile ilgili ilk çalışma verileri 1930'un

başlarına kadar uzanmaktadır (Zacher ve Kunike, 1931). Diatom toprakları temel olarak organik ve tüm su ekosistemlerinde yaşamış olan fosilleşmiş silisli alg kabuklarından oluşan bir tortudur. Alglerin hücre duvarları amorf silisten ($\text{SiO}_2 + \text{H}_2\text{O}$) oluşmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla diatom topraklarının depolanmış ürün zararlılarına karşı önemli ölçüde etkili olduğu ortaya çıkmıştır (Wakil ve Shabbir, 2005; Athanassiou ve ark., 2007; Alkan ve ark., 2019). Diatom toprakları muhtemelen böcek ilacı olarak kullanılabilen doğal tozlar arasında en etkili olanıdır. Diatom topraklarının böcekler üzerindeki öldürücü etkisi kimyasaldan ziyade fiziksel bir mücadele yöntemi olarak kabul edilmektedir. Bu fiziksel mücadelede diatom toprakları böcek kütükülası üzerinde yaralanma şeklinde bir etkiye sahiptir ve böceğin dehidrasyonu sonucu ölümle sonuçlanır (Ebeling, 1971). Diatom topraklarının su emme özelliğinin yanı sıra yağ emme özelliği de bulunmaktadır. Bu nedenle böcek kütükülasındaki koruyucu mum tabakası üzerinde çok etkilidir. Sonuç olarak, böceklerde ölüm, su kaybı ve kurumunun bir sonucu olarak gerçekleşmektedir (Burgess, 1978; Cloarec ve ark., 1992). Diatom topraklarının insektisidal etkinliği, kullanılan test koşullarına, diatomun türüne (deniz veya tatlı su diatomları), alındığı coğrafi alana, formülasyon işlemine, yağ emme kapasitesine ve Diatom topraklarının kimyasal/mechanik modifikasyonuna bağlı olarak önemli ölçüde değişmektedir (Tarshis, 1959; Patourel and Zhou, 1990; Quarles, 1992; Faulde ve ark., 2006). Diatom toprakları tamamen organik, çevreye zararsız olması, suda yaşayan hayvanlar, kuşlar, memeliler ve tüm yaban hayatı için düşük toksisiteye sahiptir. Bu nedenle, bu çalışmada, Türk yerel diatom toprağı (BGN-1), sentetik böcek ilaçlarına karşı direnç geliştiren ve hala direnç geliştirme potansiyeli olan Alman hamamböceğinin (*B. germanica* (L.)) erginlerine karşı ölüm etkisi test edilmiştir.

MATERYAL ve METOD

Böcek

Testlerde kullanılan *Blatella germanica* erginleri 60 litrelik plastik kovalarda yetiştirilmiş ve oda sıcaklığında tutulmuştur. *B. germanica* (L.) 'nın doğal yaşam habitatına uygun olsun diye plastik kovalara yumurta kapları yerleştirilmiştir. Böceklerin su ve besin ihtiyacını karşılamak için pamuk tıpalı cam tüplerle su, kuru köpek maması yetiştirme kovalarına

eklenmiştir. Biyolojik testler için *B. germanica* (L.)'nın ergin bireyleri kullanılmıştır.

Biyolojik Testlerde Kullanılan Yüzeyler

Parke Yüzey

Çalışmada neme karşı dayanıklı (High Density Fiberboard, HDF) ve en 717 E-1 standartlarına göre üretilmiş olan 8x195x1200 mm boyutlarındaki laminant parkeler, 100x100 mm boyutlarında küçültülüp çalışmada kullanılacak boyutlara getirilmiştir.

Seramik Yüzey

Çalışma süresince kullanılmış olan seramik yüzeyler kil, kaolin, kuvars, feldspat ve kalker maddelerinin karışımından, TS202 standartları gereğince 150x150x5.5 mm boyutlarında üretilmiş olan seramik yüzeyler 100x100 mm boyutlarında küçültülüp çalışma boyutları elde edilmiştir.

Beton Yüzey

Çalışma süresince kullanılmış olan beton yüzeyler 200 g çimento + 50 mL su kullanılarak elde edilmiş olan harçın, plastik kutular (100x100x60 mm) içerisine dökülüp kurutulması ile elde edilmiştir.

Biyolojik Testlerde Kullanılan Türk Yerel Diatomu

Bu çalışmada Kayseri bölgesinden alınan BGN-1 kodlu yerel diatom kullanılmıştır. Diatom rezervinden en az 5 kg numune alınmıştır. Kaya formunda laboratuvara getirilen diatom numunesi doğal bir şekilde hazırlanmıştır. Diatom numunesinin doğal olarak hazırlanması için, nem içeriği% 3-5 olana kadar kontrollü havalandırmalı bir fırında 100 ± 10 °C'de 2 saat kurutulmuştur. Kurutulduktan sonra küçük parçalar laboratuvar değirmeninde en yüksek hızda 10 saniye öğütülerek elde edilmiştir. Tüm numuneler daha sonra 149 µm'lik standart bir elek içinden elenerek ve elek altında kalan nemli, yumuşak küçük parçalar, havalandırmalı bir fırında 40 °C'de 24 saat kurutulmuştur. Böylece partikül boyutu 149 mikron veya daha az olan doğal diatomlu toprak elde edilmiştir ve testlerde kullanılmıştır.

Biyolojik Testler

Biyolojik testler 25±1 °C ve % 65±5 nispi neme sahip iklim odasında yürütülmüştür. Deneme süresince böcekler su ve yem verilmemiş olup, böcekler diatom toprağının 2.5, 5, 10 ve 20 g/m² dozlarına maruz bırakılmışlardır. Doz denemeleri için hassas terazi yardımıyla tartılmış olan diatom toprağı beton, seramik ve parke yüzeyler üzerine bırakılmıştır. Diatom topraklarının yüzeyler üzerine dağılması sağlandıktan sonra laboratuvar ortamında kültüre almış olduğumuz *B. germanica*'ya ait yeni ergin olmuş bireylerden onar adet bırakılmıştır. Denemeler

dört tekerrürlü olarak her tekerrürde 10 ergin olacak şekilde yürütülmüştür. Kontrol ünitesi de dört tekerrürlü olarak kurulmuş olup herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Doz denemeleri kurulduktan sonra, test üniteleri biyolojik testlerin yapıldığı iklim odası içerisine alınmıştır ve altı gün boyunca ölü-canlı sayımları yapılmıştır. Zaman denemeleri için ise doz denemeleri süresince en yüksek % ölüm görülen doz değeri sabit tutularak 6, 9, 12, 18, 24 saatlik denemeler ayrı birer uygulama olarak kurulmuştur dolayısıyla her bir maruz kalma süresi için ayrı ayrı kontrol üniteleri kurulmuştur. Zaman denemeleri de yine dört tekerrürlü ve her tekerrürde 10 ergin birey olacak şekilde yürütülmüştür.

Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizi

Yapılan uygulamalarda *B. germanica*'nın ergin dönemlerine karşı BGN-1 kodlu yerel diatom farklı yüzeyler üzerinde ve farklı dozlarda biyolojik testler yürütülmüş olup, deneme sonuçları için EXCEL tabloları oluşturulmuştur. Biyolojik denemelerde kullanılmış olan her bir yüzey için *B. germanica*'nın ölüm oranları (%) hesaplanmıştır. Ölüm oranları Arcsin transformasyonuna tabi tutulduktan sonra verilere tek yönlü varyans analizi (ANOVA) (SPSS, 2015) uygulanmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar % 5 önem seviyesinde Duncan testi ile belirlenmiştir (SPSS, 2015). İki farklı yerel diatom toprağının etkisinin belirlendiği deneme sonucundaki ölüm oranları Abbott'un formülü kullanılarak düzeltildikten sonra istatistiki analizler yapılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Beton Yüzey Üzerinde BGN-1 Kodlu Yerel Diatomun Farklı Dozlarına Maruz Bırakılan *Blattella germanica* Erginlerinin Ölüm Oranları

BGN -1 kodlu yerel diatom toprağının beton yüzey üzerinde dört farklı dozuna (2.5, 5, 10 ve 20 g/m²) altı gün süreyle maruz bırakılan *B. germanica* erginlerinin ölüm oranları Çizelge 1' de verilmiştir. Çizelge 1 incelendiğinde BGN -1 kodlu yerel diatom toprağının bir gün maruz kalma süresi içerisinde doz değeri arttıkça *B. germanica* erginlerinin ölüm oranı da buna paralel olarak arttığı görülmektedir. Bir günlük maruz bırakma sonunda istatistiki olarak 20 g/m² dozunda *B. germanica* erginlerinin ölüm oranı %100 olarak belirlenmiş olmasına rağmen 10 g/m² dozundaki ölüm oranı ile istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır. Tüm doz değerleri için ancak altıncı gün sonunda *B. germanica* erginlerinin ölüm oranlarının %100 ulaştığı tespit edilmiştir. *B. germanica* erginlerinin BGN-1' in 2.5 g/m² dozunun bir, iki, üç ve dört gün maruz kalması sonucunda düşük düzeyde böcek ölüm oranına sebep olduğu ve bu maruz kalma sürelerinin istatistiki olarak birbirinden farksız olduğu altıncı gün sonunda ise bu

doz değeri için *B. germanica* ölüm oranının %100'e ulaştığı tespit edilmiştir. BGN-1' in 5 g/m² dozu için *B. germanica* ölüm oranı ikinci günden itibaren %100'e ulaştığı tespit edilmiştir. BGN-1' in 10 g/m² dozu için ise *B. germanica* erginleri üzerindeki etkinliğinin tüm maruz kalma sürelerinde istatistiki olarak

birbirine benzer olduğu ancak ikinci günden itibaren *B. germanica* ölüm oranının %100'e ulaştığı tespit edilmiştir. Hamamböceği erginlerinin BGN-1' in 20 g/m² dozuna bir gün maruz kalması sonucunda bile *B. germanica* ölüm oranı %100'e ulaşmıştır.

Çizelge 1 Beton yüzey üzerinde BGN-1 kodlu yerel diatom toprağının farklı dozlarına altı gün süreyle maruz bırakılan *Blatella germanica* erginlerinin ölüm oranı

Table 1 Mortality rate of *Blatella germanica* adults exposed to different doses of local diatom earth coded BGN-1 for six days on concrete surface

Doz (g/m ²)	Ölüm Oranı (%)*±S.Hata						F ve P Değeri*
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6.gün	
2.5	0±0Cc	2.5±2.5Cb	7.89±4.5Cb	10.52±6.4Cb	55.26±2.63Bb	100±0Aa	F _{5,18} =54.6 P<0.0001
5	87.5±2.5Bb	100±0Aa	100±0Aa	100±0Aa	100±0Aa	100±0Aa	F _{5,18} =101.4 P<0.0001
10	97.5±2.5Aa	100±0Aa	100±0Aa	100±0Aa	100±0Aa	100±0Aa	F _{5,18} =1.0 P=0.446
20	100±0Aa	100±0Aa	100±0Aa	100±0Aa	100±0Aa	100±0Aa	-
Kontrol	0±0	0±0	5±5	5±5	5±5	5±5	
F ve P Değeri*	F _{3,12} =274.8 P<0.0001	F _{3,12} =343.2 P<0.0001	F _{3,12} =134.1 P<0.0001	F _{3,12} =91.7 P<0.0001	F _{3,12} =769.7 P<0.0001	-	

*Verilere çift yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır ve %5 önem seviyesinde Duncan testine göre ortalamalar arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Aynı satırdaki farklı büyük ve aynı sütundaki farklı küçük harfler istatistiki olarak birbirinden farklıdır, (n=4).

Parke Yüzey Üzerinde BGN-1 Kodlu Yerel Diatomun Farklı Dozlarına Maruz Bırakılan *Blatella germanica* Erginlerinin Ölüm Oranları

BGN -1 kodlu yerel diatom toprağının parke yüzey üzerinde dört farklı dozuna (2.5, 5, 10 ve 20 g/m²) altı gün süreyle maruz bırakılan *B. germanica* erginlerinin ölüm oranları Çizelge 2' de verilmiştir. Beton yüzeye benzer şekilde parke yüzeyde de BGN -1 kodlu yerel diatom toprağının bir gün maruz kalma süresi içerisinde doz değeri arttıkça *B. Germanica* erginlerinin ölüm oranı da buna paralel olarak arttığı görülmektedir (Çizelge 2.). Fakat yapılan istatistiki analiz sonucunda birinci gün için BGN-1' in 5 ve 10 g/m² dozlarının etkileri istatistiki olarak benzer bulunmuştur ve ikinci günden itibaren bu dozlarda *B. Germanica* ölüm oranları %100'e ulaşmıştır. Nitekim

yine BGN-1' in 20 g/m² dozunda ölüm oranı %100'e ulaşmış olsa da; 10 ve 20 g/m² dozların *B. Germanica* erginlerini öldürme oranlarının istatistiki olarak benzer olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 2 yatay olarak incelendiğinde parke yüzeyde BGN-1' in en düşük doz değeri olan 2.5 g/m² için *B. germanica* erginlerinin ölüm oranı birinci gün sonunda en düşük iken ancak dördüncü günden itibaren bu oranın %100'e ulaştığı tespit edilmiştir. BGN-1' in en yüksek doz değeri olan 20 g/m² hariç tüm dozlar (2.5, 5 ve 10 g/m²) için maruz kalma süresi arttıkça *B. germanica* erginlerinin ölüm oranının da arttığı tespit edilmiştir. BGN-1' in 5 ve 10 g/m² dozlarının *B. germanica* erginlerinin ölümündeki etkinliği ikinci günden itibaren %100 olarak bulunmuştur. BGN-1' in 20 g/m² dozu ise birinci gün sonunda %100 *B. germanica* ölüm oranına ulaşmıştır.

Çizelge 2 Parke yüzey üzerinde BGN-1 kodlu yerel diatom toprağının farklı dozlarına altı gün süreyle maruz bırakılan *Blatella germanica* erginlerinin ölüm oranı

Table 2 Mortality rate of *Blatella germanica* adults exposed to different doses of local diatom earth coded BGN-1 for six days on parquet surface

Doz (g/m ²)	Ölüm Oranı (%)*±S.Hata						F ve P Değeri*
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6.gün	
2.5	35±13.22 Cc	77.5±7.5 Bb	97.5±2.5 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	F _{5,18} =25.3 P<0.0001
5	67.5±2.5 Bb	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	F _{5,18} =531.9 P<0.0001
10	85±9.5 Bab	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	F _{5,18} =2.79 P<0.05
20	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	-
Kontrol	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	
F ve P Değeri*	F _{3,12} =13.1 P<0.0001	F _{3,12} =26.7 P<0.0001	F _{3,12} =1.0 P=0.426	-	-	-	

*Verilere çift yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır ve %5 önem seviyesinde Duncan testine göre ortalamalar arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Aynı satırdaki farklı büyük ve aynı sütundaki farklı küçük harfler istatistiki olarak birbirinden farklıdır, (n=4).

Seramik Yüzey Üzerinde BGN-1 Kodlu Yerel Diatomun Farklı Dozlarına Maruz Bırakılan *Blatella germanica* Erginlerinin Ölüm Oranları

BGN -1 kodlu yerel diatom torağının seramik yüzey üzerinde dört farklı dozuna 2,5, 5, 10, 20 g/m² altı gün süreyle maruz bırakılan *B. germanica* erginlerinin ölüm oranları Çizelge 3' te verilmiştir. Çizelge 3 incelendiğinde bir günlük maruz kalma süresi için en düşük *B. germanica* ölüm oranının BGN-1' in 2,5 g/m² dozuna ait olduğu tespit edilmiştir. Bir gün maruz kalma süresi içerisinde doz değeri arttıkça *B. germanica* ölüm oranı da buna paralel olarak artmaktadır. Fakat yapılan istatistiki analiz sonucunda birinci gün için BGN-1' in 5 ve 10 g/m² dozlarının etkileri istatistiki olarak benzer bulunmuştur. BGN-1' in 20 g/m² dozunda *B. germanica* ölüm oranı %100' e ulaşmış olsa da 10 g/m² dozunun etkisiyle istatistiki olarak benzer olduğu

tespit edilmiştir. İkinci günden itibaren BGN-1' in 2,5 g/m² dozu hariç tüm dozlarda (5 ve 10 g/m²) *B. germanica* ölüm oranı %100' e ulaşmıştır. BGN-1' in 2,5 g/m² dozu için *B. germanica* ölüm oranı dördüncü gün itibariyle %100' e ulaşmıştır.

Çizelge 3 yatay olarak incelendiğinde seramik BGN-1' in en düşük doz değeri olan 2,5g/m² için ise *B. germanica* ölüm oranı birinci gün sonunda en düşük iken ancak dördüncü günden itibaren %100' e ulaştığı tespit edilmiştir. BGN-1' in en yüksek doz değeri olan 20g/m² hariç tüm dozlar (2,5, 5, 10 g/m²) için maruz kalma süresi arttıkça *B. germanica* ölüm oranının da arttığı tespit edilmiştir. BGN-1' in 5 ve 10 g/m² dozlarının *B. germanica* ölüm etkinliği ikinci günden itibaren %100 olarak bulunmuştur. BGN-1' in 20g/m² dozu ise birinci gün sonunda %100 *B. germanica* ölüm oranına ulaşmıştır.

Çizelge 3 Seramik yüzey üzerinde BGN-1 kodlu yerel diatom toprağının farklı dozlarına altı gün süreyle maruz bırakılan *Blatella germanica* erginlerinin ölüm oranı

Table 3 Mortality rate of *Blatella germanica* adults exposed to different doses of local diatom earth coded BGN-1 for six days on ceramic surface

Doz (g/m ²)	Ölüm Oranı (%)*±S.Hata						F ve P Değeri*
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6.gün	
2.5	10±5.77 Dc	25.6±6.4 Cb	76±9.7 Bb	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	F _{5,18} =56.7 P<0.0001
5	77.5±4.7 Bb	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	F _{5,18} =63.0 P<0.0001
10	92.5±2.5 Bab	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	F _{5,18} =9.0 P<0.0001
20	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	100±0 Aa	-
Kontrol	2.5±2.5	2.5±2.5	2.5±2.5	5±2.8	5±2.8	5±2.8	
F ve P Değeri*	F _{3,12} =48.3 P<0.0001	F _{3,12} =161.4 P<0.0001	F _{3,12} =18.5 P<0.0001	-	-	-	

*Verilere çift yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır ve %5 önem seviyesinde Duncan testine göre ortalamalar arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Aynı satırdaki farklı büyük ve aynı sütundaki farklı küçük harfler istatistiki olarak birbirinden farklıdır, (n=4).

Farklı Maruz Bırakılma Sürelerinde ve Farklı Yüzeylerde BGN-1 Kodlu Yerel Diatom Toprağının 20 g/m² Doz Değerinin *Blatella germanica* Erginlerini Öldürme Etkisi

BGN-1 kodlu yerel diatom toprağının 20 g/m² dozuna *B. germanica* erginleri beton, parke, seramik yüzeyler üzerinde sırasıyla 6, 9, 12, 18 ve 24 saat süresince maruz bırakılması sonucu oluşan ölüm oranları Çizelge 4' de verilmiştir. Çizelge 4 dikey olarak incelendiğinde *B. germanica* erginlerinin BGN-1 kodlu diatom toprağının 20 g/m² dozuna ayrı ayrı 6, 9, 12 saat süresince maruz bırakılması sonucunda farklı yüzeylerde elde edilen *B. germanica* ölüm oranları istatistiki olarak benzerdir. Fakat 18. saat sonunda *B. germanica* ölüm oranı beton yüzey için %100 olarak belirlenmiş ve istatistiksel olarak sırasıyla %90 ve 92.5 ölüm oranı elde edilen parke ve seramik yüzeyler arasında istatistiki istatistiksel farklılık belirlenmiştir. Yirmidört saatlik maruz kalmanın ardından oluşan *B. germanica* ölüm oranları tüm

yüzeyler için %100 olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4 yatay olarak incelendiğinde tüm yüzeyler için maruz kalma süresi arttıkça *B. germanica* ölüm oranı da artmaktadır. Ek olarak beton yüzey için BGN-1 kodlu yerel diatom toprağının 20 g/m² dozuna 18 saat maruz kalması %100 *B. germanica* ölüm oranına sebep olurken diğer iki yüzey ancak 24 saat sonunda %100 ölüm oranına ulaşabilmiştir.

Bu çalışmada, BGN-1 kodlu Türk diatom toprağının dört farklı dozunun *B. germanica* erginlerine karşı ölüm etkisi, laboratuvar koşullarında üç farklı uygulama yüzeyinde (beton, seramik, parke) incelenmiştir. Literatür taraması kapsamında, Türk diatom toprağının *B. germanica* erginlerine karşı farklı yüzeylerdeki ölüm etkisi ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Diatom toprağı memelilere karşı toksik olmayan bir insektisit olduğundan, ev ve depolanan ürün zararlılarının kontrolünde kullanılmaktadır (Quarles, 1992). Hosseini ve ark., (2014), yaptıkları çalışmada *B. germanica* erginleri ve

nimfleri üzerinde farklı bölge orijinli diatom toprağının böcek öldürücü etkisini test etmişlerdir.

Araştırmacılar bu diatom toprağının *B. germanica* nimflerine karşı 24, 48, 72 saat sonunda 2.5, 5, 10, 15, 20 g/m² dozlarda ölüm oranının % 33.3 - % 81.1 olduğunu, gecikmiş ölüm oranının % 72.2 olduğunu, 25 g/m² diatom dozu için ise ölüm oranının % 66.7 - % 100 olarak bildirmişlerdir. Ayrıca bu diatom toprağı çeşidinin tüm dozlarının *B. germanica* ergin erkek bireyleri için % 40 ile % 80 arasında ölüm oranına sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmalar göstermiştir ki diatom toprağının böceklere karşı etkisi genellikle uygulama dozu ve uygulama süresi arttıkça artmaktadır. Nitekim Shams ve ark. (2011) laboratuvar koşullarında Silicosec® isimli ticari diatom preparatın 250, 323, 426, 562 ve 750 mg/kg dozlarının buğday üzerinde *S. granarius* erginlerine karşı etkinliklerini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda uygulama süresi ile farklı diatom toprağı dozlarının *S. granarius* erginleri üzerine önemli etkiye sahip olduğunu bulmuşlar ve uygulamadaki diatom toprağının dozu ve böceğin maruz kalma süresi arttıkça ölüm oranının arttığını gözlemlemişlerdir. Bu çalışmalara benzer şekilde

uygulama dozu arttıkça ergin Alman hamamböcekleri ölüm oranı da buna paralel olarak artmaktadır. Bu çalışma da yürütülmüş olan biyolojik testler neticesinde uygulama yüzeylerinin diatom etkinliği üzerine dolayısıyla test edilen türü öldürme etkinliği üzerinde genel olarak aralarında pek bir fark tespit edilmemişken, yerel diatomların uygulama yüzeyi fark etmeksizin farklı etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. BGN-1 kodlu yerel diatom toprağı ve üç farklı uygulama yüzeyi ile kurulmuş olan biyolojik testler sonucunda BGN-1 kodlu yerel diatom toprağının 2.5 g/m² dozunda *B. germanica* erginlerini öldürme etkinliğinin düşük olduğu fakat maruz kalma süresi arttıkça etkinliğinin arttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte doz miktarı ve maruz kalma süresi arttıkça BGN-1 kodlu yerel diatomun etkinliğinin de arttığı belirlenmiştir. Bu tespitler paralelinde BGN-1 kodlu yerel diatom toprağının 2.5 g/m² dozu beton yüzey üzerinde altı gün, parke ve seramik yüzeyler üzerinde dördüncü gün sonunda %100 *B. germanica* ergin ölüm oranına ulaşmış iken 20 g/m² dozu tüm uygulama yüzeyleri üzerinde birinci gün sonunda %100 *B. germanica* ergin ölüm oranına sahip olan en etkili doz değeri olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4 BGN-1 kodlu yerel diatom toprağının 20 g/m² dozunun beton, parke, seramik yüzeyler üzerinde *Blatella germanica* erginlerini öldürme etkisi

Table 4 The mortality effect of a 20 g/m² dose of local diatom earth coded BGN-1 on concrete, parquet, ceramic surfaces against *Blatella germanica* adults

Uygulama Yüzeyi	Ölüm Oranı (%)*±S.Hata					F ve P Değeri*
	6 saat	9 Saat	12 Saat	18 Saat	24 Saat	
Beton Yüzey	0±0 Da	55±2.8 Ca	92.5±2.5 Ba	100±0 Aa	100±0 Aa	F _{4,15} =302.18 P<0.0001
Parke Yüzey	0±0Da	52.5±2.5 Ca	90±4.0 Ba	90±4.0 Bb	100±0 Aa	F _{4,15} =96.4 P<0.0001
Seramik Yüzey	7.5±7.5 Da	60±4.0 Ca	82.5±2.5 Ba	92.5±2.5 Bb	100±0 Aa	F _{4,15} =49.1 P<0.0001
Kontrol	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	
F ve P Değeri*	F _{2,9} =1.00 P=0.405	F _{2,9} =1.41 P=0.293	F _{2,9} =1.7 P=0.236	F _{2,9} =4.2 P<0.05	-	

*Verilere çift yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır ve %5 önem seviyesinde Duncan testine göre ortalamalar arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Aynı satırdaki farklı büyük ve aynı sütundaki farklı küçük harfler istatistiki olarak birbirinden farklıdır, (n=4). yapılan mevcut çalışmada da maruz kalma süresi ve

SONUÇ

Hamamböcekleri genellikle geniş etki spektrumuna sahip olan insektisitlere karşı direnç geliştirmiştir. Aynı zamanda bu geniş etki spektrumlu insektisitlerin, memelilere hatta tüm ekosisteme zararlı olduğu bilinmektedir. Son yıllarda artmakta olan çevresel bilinç ve farkındalığı ile doğada kolay parçalanabilen veya tamamen organik olan insektisitler alternatif mücadele yöntemleri olarak ümit vadetmektedir. Bu sebeptendir ki çevreye ve memeli sağlığını tehdit etmeyen, ekolojik çevreye zehirsiz olan diatom toprağı bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Tüm bu sonuçlar bu çalışma ile BGN-1 kodlu yerel diatom toprağının *B. germanica* ergin mücadelesinde kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu ve bu

böceğin mücadelesinde kullanılan geniş etki spektrumuna sahip sentetik instektisitlere alternatif olabileceğini göstermiştir. Fakat diatom toprağı türlerinin Alman hamamböceği doğal yaşam koşulları altında uygulanabilirliğine ve doğal koşullarda uygulandığında hamamböceği dışındaki diğer canlı etmenler ile etkileşimin belirlenmesine yönelik geniş kapsamlı bir çalışma ile ortaya konması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, ilk yazarın yüksek lisans tezinin bir bölümüdür.

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

- Alkan M, Ertürk S, Atay T, Çağlayan A 2019. Insecticidal efficacy of local diatomaceous earths against adult and larvae of *Tenebrio molitor* L., 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae). Turkish Journal of Entomology, 43(3): 347-254. doi: 10.16970/entoted.550954
- Athanassiou CG, Kavallieratos NG, Meletsis CM 2007. Insecticidal effect of three diatomaceous earth formulations, applied alone or in combination, against three stored-product beetle species on wheat and maize. Journal of Stored Products Research. 43(4): 330-334. doi: 10.1016/j.jspr.2006.08.004
- Burgess NRH, Mc Dermott SN, Whiting A 1973. Aerobic bacteria occurring in the hind gut of the cockroach, *B. orientalis*. The Journal of Hygiene. 71(1): 1-7. doi: 10.1017/s0022172400046155
- Burgess NRH 1978. The cockroach as a health hazard. Proceed The Infection Control Nurses Association. 9: 31-33.
- Cloarec A, Rivault C, Fontaine F, Le Guyander 1992. A. Cockroaches as carriers of bacteria in multifamily dwellings. Epidemiology and Infection. 109(3): 483-490. doi: 10.1017/s0950268800050470
- Çetin ET, Ang Ö, Töreci K 1973. Tıbbi Parazitoloji. İstanbul 13: 504
- Dong PA, Valles RM, Scharf ME, Zeichner B, Bennet GW 1998. The Knockdown resistance (kdr) mutation in pyrethroid-resistant german cockroaches. Pesticide Biochemistry and Physiology. 60: 195-204.
- Ebeling W 1971. Sorptive dusts for pest control. Annual Review of Entomology. 16: 123-158. doi:10.1146/annurev.en.16.010171.001011
- Faulde MK, Scharninghausen JJ, Cavaljuga S 2006. Toxic and behavioural effects of different modified diatomaceous earths on the German cockroach, *Blattella germanica* (L.)(Orthoptera: Blattellidae) Under Simulated Field Conditions. Journal of Stored products research. 42(3): 253-263. doi.org/10.1016/j.jspr.2005.03.001
- Hosseini SA, Bazrafkan S, Vatandoost H, Abaei MR, Ahmadi MS et al. 2014. The insecticidal effect of diatomaceous earth against adults and nymphs of *Blattella germanica*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 4(1): 228-232. doi: 10.12980/APJTB.4.2014C1282
- Jialin Z, Mingsheng W, JianMing C 2007. Resistance investigation of *Blattella germanica* to six insecticides and control strategy in Hefei city. Chinese. Journal of Vector Biology and Control. 2: 98-99.
- Mansouri F, Azaizeh H, Saadf B, Tadmor Y, Abo-Moch F, Said O 2004. The Potential of Middle Eastern Flora as a Source of New Safe Bio-Acrairicides to Control *Tetranychus cinnabarinus*, the Carmine Spider Mite. Phytoparasitica. 32: 66-72.
- Patourel GNJ, Zhou JJ 1990. Action of amorphous silica dusts on the German cockroach *Blattella germanica* (Linneaus) (Orthoptera: Blattidae). Bulletin of Entomological Research 80(1): 11-17. doi:10.1017/S0007485300045855
- Quarles W 1992. Diatomaceous earth for pest control. The IPM Practitioner 14(5/6):1-11.
- Roberts J 1996. Cockroaches linked with asthma, Br. Med. J. 312: 1630-1637. doi:10.1136/bmj.312.7047.1630a
- Rust MK, Reiersen DA (1991). Chlorpyrifos resistance in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) from restaurants Journal Economic Entomology. 84(3): 736-740. doi:10.1093/jee/84.3.736
- Shams G, Safaralizadeh MS, Imani S 2011. Insecticidal effect of diatomaceous earth against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory conditions. African Journal of Agricultural Research. 6(24): 5464-5468. doi: 10.5897/AJAR11.1188
- SPSS 2015. Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Tarshis IB 1959 Sorptive dusts on cockroaches. Calif Agric 13: 3-5
- Wakil W, Shabbir A 2005. Evaluation of diatomaceous earth admixed with rice to control *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Pakistan Entomologist. 27: 15-18.
- Waldvogel MG, Moore CB, Nalyanya GW, Stringham SM, Watson WD et al. 1999. Integrated cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) management in confined swine production, pp. 183-188. In W. H. Robinson, F. Rettich, and G. W. Rambo [eds.] Proceeding of the 3rd international conference of urban pests. Graficke Zavody Hronov, Prague, Czech Republic.
- Zacher F, Kunike G 1931. Untersuchungen über die insektizide Wirkung von Oxyden und Karbonaten. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt für Land und Forstwirtschaft, Berlin. 18: 201-231.

Bazı *Meloidogyne* spp. [*M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 ve *M. luci* (Carneiro ve ark. 2014)] Popülasyonlarının Virüüentliđinin Belirlenmesi

Betül GÜRKAN¹, Ramazan ÇETİNTAŞ²

¹Dođu Akdeniz Geçit Kuşaağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bitki Koruma Bölümü, Kahramanmaraş, ²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kahramanmaraş

¹<https://orcid.org/0000-0003-0195-4562>, ²<https://orcid.org/0000-0002-5738-6915>

✉: betulgurkan86@gmail.com

ÖZET

Kök-ur nematodları polifag bir zararlı olup, özellikle Solanaceae bitkilerinin üretiminde potansiyel bir tehdit oluşturmaktadır. Bu nematodlar ile mücadelede başarılı olabilmek için nematodların tür ve ırklarının tanımlanmasının yanı sıra virüüentliğinin de belirlenmesi önemlidir. Bu çalışmada, Gaziantep ve Osmaniye illerinin bulaşık sebze alanlarında bulunan *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. luci* popülasyonlarının dayanıklı (CLX 37574 F1) ve hassas (Falkon) domates çeşitlerindeki reaksiyonlarına bakılmış ve virüüentlik durumu incelenmiştir. Deneme tam kontrollü iklim odası koşullarında tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olacak şekilde kurulmuştur. Çalışma sonunda CLX 37574 F1 domates çeşidi 38 kök-ur nematodu popülasyonuna karşı dayanıklı bulunmuş (RI < %10) ve popülasyonların tümü avirüüent olarak belirlenmiştir.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 22.09.2021

Kabul Tarihi : 04.11.2021

Anahtar Kelimeler

Meloidogyne spp.,
Dayanıklılık,
Virüüent

Determination of Virulence of Some *Meloidogyne* spp. [*M. incognita* (Kofoid and White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 and *M. luci* (Carneiro et al. 2014)] Populations

ABSTRACT

Root-knot nematodes are polyphag pests and are a potential threat to particularly Solanaceae plants. In order to be successful in managements of these nematodes, it is important to correctly identify the species and the races of the nematodes and determine their virulence. In this study, the reaction of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* and *M. luci* populations in the contaminated vegetable fields of Gaziantep and Osmaniye provinces were determined in resistance (CLX 37574 F1) and sensitive (Falkon) tomato varieties and their virulence status was investigated. The experiment was established under fully controlled climate room conditions as a randomized complete block design with 4 replications. Results of experiment indicated that CLX 37574 F1 tomato variety was resistant to 38 root-knot nematode population (RI < 10%) and all populations were identified as avirulent.

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 22.09.2021

Accepted : 04.11.2021

Keywords

Meloidogyne spp.,
Resistance,
Virulent

Atıf şekli:

Gürkan B, Çetintaş R 2022. Bazı *Meloidogyne* türlerinin (*M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 ve *M. luci* Carneiro ve ark. 2014) Popülasyonlarının Virüüentliđinin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1068-1076. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.998919>

To Cite :

Gürkan B, Çetintaş R 2022. Determination of Virulence of Some *Meloidogyne* spp. [*M. incognita* (Kofoid and White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 and *M. luci* (Carneiro et al. 2014)] Populations. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1068-1076. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.998919>

GİRİŞ

Bitki paraziti kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.) ekonomik olarak önemli olup birçok üründe ciddi kayıplara neden olmaktadır (Jones ve ark., 2013). Bu

nematodların bugüne kadar tanımlanan 100'den fazla türü (Skantar ve ark., 2008; Hunt ve Handoo, 2009; Moens ve ark., 2009) bulunmaktadır. *Meloidogyne* türleri arasında *M. incognita*, *M. javanica* ve *M.*

arenaria'nın en zararlı türler olduğu bildirilmiştir (Moens, 2009; Sun, 2014; Hallman ve Meressa, 2018). Kök-ur nematodlarının 3000'den fazla konukçusu olduğu ve bu nematodlardan dolayı *Solanaceous* sebzelerinin dünya çapında ağır hasar gördüğü bildirilmiştir (Hunt ve Handoo, 2009; Barbary ve ark., 2015). Konukçu bitkilerde nematod parazitliğinden dolayı morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler meydana gelmekte, bu da bitkilerin anormal büyümesine, besin eksikliği belirtilerine, köklerde urlanma, solma, bodurluk, küçük meyve oluşumu, kloroz ve diğer şekil bozukluklarına neden olmaktadır (Moens ve ark., 2009; Santos ve ark., 2012). Nematodlardan oluşan zararın, tarımsal ürünlerde yıllık olarak yaklaşık 100 milyar dolarlık bir kayba neden olduğu tahmin edilmektedir (Coyne ve ark., 2018). Bitkilerdeki verim kaybının şiddeti; ürün çeşidi, kök-ur nematodu türü, mevsimsel değişiklikler ve ürün rotasyonu kullanımına bağlı olarak değişmekte olduğu bildirilmiştir (Wesemael ve ark., 2011; Hamza ve ark., 2017). Kök-ur nematodlarının mücadelesinde toprak solarizasyonu, dayanıklı çeşitler, biyolojik ajanlar, organik bileşikler ve kimyasallar kullanılmaktadır (Collange ve ark., 2011). Kimyasalların hedef olmayan organizmalar üzerinde geniş bir negatif etkisinin olmasından dolayı yasaklanmaları veya uygulamalarının azaltılması için yeni yönergelerin ve düzenlemelerin yapılmasının gerekliliği bildirilmiştir (Villaverde ve ark., 2016; Huang ve ark., 2018). Toprak solarizasyonu tek başına kullanılabilirdiği gibi diğer mücadele yöntemleriyle birlikte kullanılması, toprak kaynaklı patojenleri yönetmede etkili olabilmektedir (Katan, 1996).

Diğer yandan kök-ur nematodlarına karşı mücadelede dayanıklılık genlerini taşıyan bitki çeşitlerinin kullanımının uygun bir alternatif olduğu (Hallmann ve ark., 2009; Williamson ve Roberts, 2009) ve entegre mücadele yönetimi programlarında önemli bir bileşen olarak birlikte kullanılabilirdiği bildirilmiştir (Khan ve ark., 2017; Mukhtar, 2018; Rahoo ve ark., 2017, 2018a, b, 2019). *Solanum peruvianum* L.'den *S. lycopersicum* L.'ye başarıyla aktarılan *Mi* genini taşıyan dayanıklı domates çeşitleri, *M. incognita*, *M. arenaria* ve *M. javanica*'ya karşı dayanıklı olduğu rapor edilmiştir (Iberkleid ve ark., 2014). Dayanıklı bir domates çeşidindeki *Mi 1* geni ikinci dönem larvaların köklere girmesini engellemekte, yumurta sayısını azaltmakta, nematodun daha fazla gelişimini ve üreme oranını azaltmaktadır (Wubie ve Temesgen, 2019). Bitki dayanıklılığının, kök-ur nematodlarına karşı etkili ve karlı bir kontrol yöntemi olduğu belirtilmektedir (Sorribas ve ark., 2005). Fakat dayanıklı bitkilerin dayanıklılığını sürdürebilmesi için uygun bir şekilde kullanılması gerekmektedir (Djian-Caporalino ve ark., 2011). *Mi* dayanıklılık geni taşıyan domates

melezlerinin yoğun olarak kullanımı *Lycopersicon* türleri üzerinde bitki savunma mekanizmalarının üstesinden gelebilen öldürücü nematod popülasyonlarının ortaya çıkmasına neden olduğu tespit edilmiştir (Huang ve ark., 2004; Verdejo-Lucas ve ark., 2009; Tzortzakakis ve ark., 2014; Gine ve Sorribas, 2017; Exposito ve ark., 2019). Virü lent nematodların laboratuvar koşullarında dayanıklılığı kırdığı gözlenmiştir (Djian-Caporalino ve ark., 2011; Jarquin-Barberena ve ark., 1991; Meher ve ark., 2009). Arazi koşullarında ise dayanıklılığın daha fazla kırıldığı tespit edilmiştir (Verdejo-Lucas ve ark., 2009). Dayanıklı domates bitkisindeki *Mi* genini kıran virü lent bir *M. javanica* popülasyonunun avirü lent olan popülasyondan daha fazla ürediği ve virü lent popülasyonun hem dayanıklı hem de hassas domates çeşitlerinin verimini %29 oranında azalttığı görülmüştür (Ornat ve ark., 2001). Ayrıca dayanıklılık geninin 28 °C üzerindeki sıcaklıklarda *Meloidogyne* türlerine karşı dayanıklılığı kırdığı gibi (Dropkin, 1969; Roberts ve ark., 1990), bazı *Meloidogyne* türlerine karşı da (*M. hapla*, *M. chitwoodi*, *M. enterolobii* ve *M. exigua*) dayanıklılık göstermediği bildirilmiştir. Kök-ur nematodlarının virü lent popülasyonları birçok ülkenin sera alanlarında tespit edilmiştir (Ornat ve ark., 2001; Xu ve ark., 2001; Castagnone-Sereno, 2002; Karajeh ve ark., 2005; Tzortzakakis ve ark., 2005). Akdeniz Bölgesi'nde bulunan *M. incognita* ve *M. javanica* izolatlarının *Mi-1.2* genine karşı virü lent olduğu rapor edilmiştir (Devran ve Söğüt, 2010). Diğer taraftan, bazı *M. luci* popülasyonlarının da dayanıklılığı kırdığı tespit edilmiştir (Aydınlı ve Mennan, 2019). Kök-ur nematodlarına karşı mücadeledeki başarının boyutu, lokal olarak oluşan nematod popülasyonunun tür teşhisinin yanı sıra virü lentlik özelliklerinin belirlenmesine de bağlı olduğu bildirilmiştir (Robertson, 2009).

Bu çalışmada, Gaziantep ve Osmaniye illeri sebze alanlarında tespit edilen *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. luci* nematod türlerinin bazı popülasyonlarının dayanıklı ve hassas domates çeşitlerindeki reaksiyonları ile bu popülasyonların virü lentlik durumlarının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Gaziantep, Osmaniye illeri sebze alanlarından toplanan ve Poliagrilamid jel elektroforez yöntemi, morfolojik (perineal kesit) ve morfometrik karakterlere göre teşhisi yapılan *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. luci* türlerinin toplam 38 popülasyonu denemede kullanılmıştır. Aynı zamanda kök-ur nematodlarına dayanıklı CLX 37574 F1 (Clause tohumculuk), hassas (Falkon, Bursa tohumculuk) domates ve hassas biber (Sena)

tohumları kullanılmıştır.

Metot

Kök-ur nematodu popülasyonlarının çoğaltılması

Saf kültürden elde edilen *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. luci* popülasyonlarının çoğaltılması için, 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık, 25±2 °C sıcaklık, %60±10 orantılı nem içeren tam kontrollü iklim odası koşullarında, %80 torf ve %20 perlit bulunan viyollere, hassas domates (Falkon) ve biber (Sena) bitkisi tohumlarının ekimi yapılmıştır. Fideler 3-4 yapraklı hale gelince 0.7 L'lik plastik saksılara %20 torf ve otoklavda 120 °C'de steril edilmiş %80 kum doldurulmuş ve fideler bu saksılara şaşırtılmıştır. Kök-ur nematodu popülasyonlarının 3-5 adet yumurta kümesi, 14-15 cm boyundaki hassas domates ve hassas biber bitkilerine verilmiş ve her bir nematod popülasyonu için saksılar etiketlenmiştir. *M. javanica* biber bitkisinde çoğalamadığı için (Peixoto ve ark., 1995; Özarıslan ve Elekçioğlu, 2003; Pinheiro ve ark., 2020) sadece diğer türlerin (*M. incognita*, *M. arenaria* ve *M. luci*) çoğaltılmasında biber bitkisi kullanılmıştır. Hassas biber bitkilerinde domates bitkisine göre nematodlar daha çok yumurta kümesi oluşturmaktadır. Nematod inokulasyonundan sonra bitkilerin gerekli sulama ve bakım işlemleri 65 gün boyunca yapılmıştır.

Dayanıklı ve hassas domates fidelerinin yetiştirilmesi

Virülemlik denemesi, tam kontrollü iklim odasında (25±2 °C sıcaklık ve %60±10 orantılı nem koşulları) 4 tekerrürlü olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Kök-ur nematodlarına karşı dayanıklı olduğu bilinen CLX 37574 F1 (Clause tohumculuk) ve hassas Falkon (Bursa tohumculuk) domates tohumlarının ekimi, %80 torf, %20 perlit karışımı bulunan viyollere yapılmıştır. Dayanıklı ve hassas domates fideleri 2-4 yapraklı döneme geldiği zaman, otoklavda 120 °C'de steril edilmiş %80 kum, %20 torf bulunan 0.7 l'lik plastik saksılara şaşırtılmıştır. Beyaz sineğe karşı bir kez ilaçlama (Effore/Acetamiprid) yapılmıştır.

İkinci dönem larvaların elde edilmesi

Kök-ur nematodu popülasyonlarının larvalarını elde etmek için hassas bitkilerin kökleri topraktan sökülüştür. Her bir popülasyona ait kökler, yumurta kümelerine zarar verilmeden musluk suyu altında yıkanmıştır. Kökler kurulandıktan sonra stereo mikroskop altında yumurta kümeleri alınmış ve modifiye Bearman Huni yöntemine göre hazırlanan beher kapları içerisine konulmuştur. İnkübatör içinde 28 °C'de 2. dönem larvaların suya geçmesi için 48 saat bekletilmiştir. Böylece yumurtadan çıkan 2. dönem larvaların ultra saf suya geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra 1 ml sudaki 2.

dönem larvalar 5 kez sayılmış ve ortalaması alınarak 1 ml'deki larva sayıları belirlenmiştir.

Virülemlik denemesi

Dayanıklı ve hassas domates fideleri 14-15 cm boya ulaştığında, 38 kök-ur nematodu popülasyonunun 2. dönem larvası bitki başına 1000 adet olacak şekilde kök bölgesinin yakınına açılan yaklaşık 2 cm derinliğindeki 4 oyuğa inokule edilmiştir. Deneme boyunca bitkilerin gerekli sulama, gübreleme ve diğer bakımları yapılmıştır. Bitkilerin kökleri 65 gün sonra sökülüştür ve musluk suyu altında dikkatli bir şekilde yıkanmıştır. Yıkanan kökler kırmızı gıda boyalı (1 g toz boya/1 l su) suyun içerisinde 5-10 dk bekletilmiştir. Deneme sonunda dayanıklı ve hassas domates çeşitleri Hartman ve Sasser, 1985'in 0-5 yumurta kümesi-ur oluşumu reaksiyon skalasına göre değerlendirilmiştir. Bu indekse göre köklerde 0-2 skala değeri bulunan bitkiler dayanıklı, 3-5 skala değeri alan bitkiler ise hassas olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 1). Ayrıca, toprakta bulunan ikinci dönem larva yoğunluğunun belirlenmesi için modifiye Baermann-huni yöntemine (Hooper, 1986) göre her bir saksı toprağı incelenmiş ve bu örneklerden elde edilen larvaların ışık mikroskobu altında sayımları yapılmıştır. Elde edilen bulgulara varyans analizi uygulanmış ve ortalamalar 0.05 önem seviyesinde Duncan'ın çoklu karşılaştırmalı testi ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar R_f (Çoğalma faktörü) = P_f (Sonuç popülasyonu) / P_i (Başlangıç popülasyonu); RI (%): Dayanıklı çeşitte R_f / hassas çeşitte $R_f \times 100$; $RI \leq 10$ avirulent, $10 < RI \leq 50$ kısmen virulent, $RI > 50$ virulent gibi parametrelere göre değerlendirilmiştir (Cortada ve ark., 2009).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Osmaniye ili ve ilçelerinden alınan 25 kök-ur nematodu popülasyonunun avirulent olduğu tespit edilmiştir. CLX 37574 F1 domates çeşidindeki dayanıklılığı sağlayan *Mi* geninin, 17 adet *Meloidogyne incognita*, 2 adet *M. javanica* ve 2 adet *M. arenaria* popülasyonlarına karşı dayanıklılık gösterdiği gibi 4 adet *M. luci* popülasyonuna karşı da dayanıklı olduğu görülmüştür. *M. incognita*'nın 17 adet popülasyonu 0-5 yumurta kümesi reaksiyon skalasına göre değerlendirildiğinde dayanıklı bitkide en düşük 0.00±0.00 ve en yüksek 2.00±0.00; hassas bitkide en yüksek 5.00±0.00, en düşük ise 4.00±0.00 değerini aldığı görülmüştür. *M. incognita*'nın tüm popülasyonlarının RI değeri %0.00 bulunmuş ve Osmaniye'de herhangi bir virulent *M. incognita* popülasyonuna rastlanmamıştır (Şekil 1). *M. javanica*'nın 2 adet popülasyonunun dayanıklı ve hassas bitkideki durumuna bakıldığında RI değerleri %0.00 (38 P) ve %2.27 (62 D) bulunmuştur. RI değerleri %10'un altında çıktığı için *M. javanica*'nın

Osmaniye popülasyonları avirüent olarak tespit edilmiştir. *M. javanica* popülasyonları dayanıklı bitkide en düşük 0.50 ± 0.28 , en yüksek 2.25 ± 0.25 , hassas bitkide ise en düşük 4.00 ± 0.00 , en yüksek 5.00 ± 0.00 yumurta kümesi skala değerini almıştır. *M. arenaria*'nın 2 adet popülasyonu dayanıklı bitkide en düşük ve en yüksek 0.00 ± 0.00 , hassas bitkide ise en düşük 4.50 ± 0.28 , en yüksek 5.00 ± 0.00 yumurta kümesi skala değerini almıştır. *M. arenaria*'nın 2 adet popülasyonunun (16 P, 66 P) RI değeri %0.00 çıkmış

ve avirüent olduğu tespit edilmiştir. Denemede kullanılan *M. luci*'nin 4 adet Osmaniye popülasyonunun dayanıklı bitkideki skala değeri en düşük 0.00 ± 0.00 ve en yüksek 0.25 ± 0.25 ; hassas bitkideki skala değeri ise en yüksek 5.00 ± 0.00 , en düşük 4.25 ± 0.25 bulunmuştur. *M. luci* popülasyonlarının (5 D, 13 D, 60 P ve 71 P) RI değerleri %0.00 bulunmuş ve virüent bir popülasyona rastlanmamıştır (Çizelge 2).



Şekil 1. Avirüent kök-ur nematodu popülasyonu A) Dayanıklı bitki, B) Hassas bitki
Figure 1. Avirulent root-knot nematode population A) Resistant plant B) Sensitive plant

Çizelge 1. Köklerdeki yumurta kümesi ve ur oluşumunun değerlendirildiği skala (Hartman ve Sasser, 1985)
Table 1. Galling and egg mass index used for root evaluations (Hartman ve Sasser, 1985)

Kökteki yumurta kümesi-ur sayısı <i>The number of egg clusters-galls in the root</i>	Skala değeri <i>Scale value</i>	Sonuç <i>Result</i>
Yumurta kümesi ve ur oluşumu yok	0	Dayanıklı
1-2 yumurta kümesi ve ur oluşumu var	1	Dayanıklı
3-10 yumurta kümesi ve ur oluşumu var	2	Dayanıklı
11-30 yumurta kümesi ve ur oluşumu var	3	Hassas
31-100 yumurta kümesi ve ur oluşumu var	4	Hassas
101-üstü yumurta kümesi ve ur oluşumu var	5	Hassas

Gaziantep ili ve ilçelerinden alınan 10 adet *M. incognita*, 1 adet *M. javanica* ve 2 adet *M. arenaria*'dan oluşan toplam 13 popülasyona bakılmıştır. Tüm Gaziantep popülasyonları CLX 37574 F1 domates çeşidinde reaksiyon göstermeyerek avirüent oldukları bulunmuştur. *M. incognita*'nın 10 adet popülasyonu 0-5 skalasına göre dayanıklı bitkide en düşük 0.00 ± 0.00 , en yüksek 1.25 ± 0.47 ; hassas bitkide en düşük 4.00 ± 0.00 , en yüksek ise 5.00 ± 0.00 değerini aldığı tespit edilmiştir. Bu nematodun 10 popülasyonunun da RI değeri %0.00 bulunmuş ve Gaziantep'de herhangi virüent bir *M. incognita* popülasyonuna rastlanmamıştır. *M. javanica*'nın 1 adet popülasyonunun dayanıklı ve hassas bitkideki reaksiyonu incelendiğinde RI değeri %0.00 (96 D) bulunduğu için avirüent olarak tespit edilmiştir. Gaziantep *M. javanica* popülasyonu hassas bitkide 4.00 ± 0.00 skala (0-5) değerini alırken, dayanıklı bitkide ise 0.00 ± 0.00 değerini almıştır. *M.*

arenaria'nın 2 adet Gaziantep popülasyonu denemede kullanılmıştır. *M. arenaria* popülasyonları dayanıklı bitkide en düşük 0.00 ± 0.00 ve en yüksek 2.00 ± 0.00 ; hassas bitkide ise en düşük ve en yüksek 4.00 ± 0.00 yumurta kümesi reaksiyon skala değerini almıştır. *M. arenaria*'nın 2 popülasyonunun da (121 Ba, 122 D) RI değeri %0.00'ın altında çıktığı için avirüent bulunmuştur (Çizelge 3).

Önceki çalışmalar incelendiğinde avirüent popülasyonların varlığı gözlenmiştir. *Mi-1.2* dayanıklılık genine sahip Venezia domates çeşidinin, Slovenya *M. luci* izolatına karşı dirençli olduğu ve *M. luci* popülasyonunun avirüent olduğu tespit edilmiştir (Strajnar ve Širca, 2011). Malike F1 dayanıklı domates çeşidinde *M. incognita* (8 adet), *M. arenaria* (13 adet) ve *M. javanica* (7 adet) popülasyonlarının avirüent olduğu bildirilmiştir (Özarslandan ve Elekçioğlu 2010).

Çizelge 2. Osmaniye kök-ur nematodu popülasyonlarının hassas Falcon ve dayanıklı CLX 37574 F1 domates çeşitlerinde yumurta kümesi indeksi, 2. dönem larva sayılarının Rf, ve RI değerleri.

Table 2. Egg mass index and Rf, RI values of second stage larvae of Osmaniye root knot nematode populations on sensitive Falcon and on resistant CLX 37574 F1 tomato varieties.

Örnek Kodu Sample code	Alındığı ilçe Location	Türler Species	FALKON (Hassas domates çeşidi) FALKON (Sensitive variety of tomato)			CLX 37574 F1 (Dayanıklı domates çeşidi) CLX 37574 F1 (Resistant variety of tomato)			RI (%) RI (%) ^a
			Skala değeri (0-5) ^a	2. dönem larva/500 cm ³ toprak	Rf (Pf/Pi) ^b	Skala değeri (0-5) ^a	2. dönem larva/500 cm ³ toprak	Rf (Pf/Pi) ^b	
			Scale value (0-5) ^a	Second stage juvenil/500 cm ³ soil	Rf (Pf/Pi) ^b	Scale value (0-5) ^a	Second stage juvenil/500 cm ³ soil	Rf (Pf/Pi) ^b	
5 D	Bahçe	<i>M. luci</i>	4.25±0.25 cd	5402.50±153.65 ı	5.40±0.15 f	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
8 P	Bahçe	<i>M. incognita</i>	4.00±0.00 d	5121.25±128.16 ı	5.12±0.12 fg	0.25±0.25 de	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
13 D	Bahçe	<i>M. luci</i>	4.50±0.28 bc	2980.00±133.10 l	2.98±0.13 j	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
15 B	Bahçe	<i>M. incognita</i>	4.00±0.00 d	1833.75±41.50 n	1.83±0.04 l	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
16 P	Bahçe	<i>M. arenaria</i>	5.00±0.00 a	1236.25±34.30 o	1.23±0.03mn	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
26 P	Düziçi	<i>M. incognita</i>	4.50±0.28 bc	6912.50±98.68 g	6.91±0.09 d	0.25±0.00 de	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
29 D	Düziçi	<i>M. incognita</i>	4.25±0.25 cd	4023.75±127.07 k	4.02±0.12 ı	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
33 B	Kadirli	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	3900.00±109.92 k	3.90±0.10 ı	0.50±0.28 cde	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
34 B	Kadirli	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	6006.25±88.01 h	6.00±0.08 e	1.00±0.40 bc	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
35 B	Kadirli	<i>M. incognita</i>	4.00±0.00 d	2963.75±163.21 l	2.96±0.16 j	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
37 B	Kadirli	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	13237.50±134.43 b	1.32±0.01mn	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
38 P	Kadirli	<i>M. javanica</i>	4.00±0.00 d	4400.00±109.92 j	4.40±0.10 h	0.50±0.28 cde	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
40 B	Sumbas	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	8525.00±112.73 f	8.52±0.11 c	0.50±0.28 cde	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
41 D	Sumbas	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	8437.50±85.08 f	8.43±0.08 c	2.00±0.00 a	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
58 B	Hasanbeyli	<i>M. incognita</i>	4.00±0.00 d	10098.75±38.75 d	1.00±0.00 n	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
60 P	Hasanbeyli	<i>M. luci</i>	5.00±0.00 a	18312.50±82.60 a	1.83±0.00 l	0.25±0.25 de	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
62 D	Hasanbeyli	<i>M. javanica</i>	5.00±0.00 a	11012.50±150.51 c	11.01±0.15 a	2.25±0.25 a	288.75±17.83 a	0.28±0.01 a	2.54
63 P	Hasanbeyli	<i>M. incognita</i>	4.75±0.25 ab	1985.00±71.70 n	1.98±0.07 l	1.25±0.25 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
66 P	Hasanbeyli	<i>M. arenaria</i>	4.50±0.28 bc	3037.50±181.85 l	3.03±0.18 j	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
71 P	Hasanbeyli	<i>M. luci</i>	4.50±0.28 bc	1398.75±91.34 o	1.39±0.09 m	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
72 F	Hasanbeyli	<i>M. incognita</i>	4.25±0.25 cd	5045.00±25.57 ı	5.04±0.02 g	0.00±0.00 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
205 B	Toprakkale	<i>M. incognita</i>	4.00±0.00 d	8925.00±171.39 e	8.92±0.17 b	0.50±0.28 cde	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
207 P	Toprakkale	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	9075.00±198.43 e	9.07±0.19 b	0.50±0.28 cde	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
208 B	Toprakkale	<i>M. incognita</i>	4.50±0.28 bc	6643.75±255.81 g	6.64±0.25 d	1.00±0.40 bc	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00
210 P	Toprakkale	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	2397.50±97.77 m	2.39±0.09 k	0.75±0.25 bcd	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00

Ba: Bamyacı, B: Biber, D: Domates, F: Fasulye, P: Patlıcan

^a0-5 yumurta kümesi-ur oluşumu indeksi, 0: yumurta kümesi ve ur oluşumu yok, 1: 1-2 yumurta kümesi ve ur oluşumu var, 2: 3-10 yumurta kümesi ve ur oluşumu var, 3: 11-30 yumurta kümesi ve ur oluşumu var, 4: 31-100 yumurta kümesi ve ur oluşumu var, 5: >100 yumurta kümesi ve ur oluşumu var (Hartman ve Sasser, 1985).

^bRf (Çoğalma faktörü) = Pf (Sonuç popülasyonu) / Pi (Başlangıç popülasyonu).

^cRI (%): Dayanıklı çeşitte Rf / hassas çeşitte Rf x 100; RI < %10 avirulent, %10 ≤ RI < %50 kısmen virulent, RI ≥ %50 virulent (Cortada ve ark., 2009).

Aynı sütundaki farklı harfler, Duncan testine göre birbirinden farklıdır (P ≤ 0.05)

Çizelge 3. Gaziantep kök-ur nematodu popülasyonlarının hassas Falcon ve dayanıklı CLX 37574 F1 domates çeşitlerinde 0-5 yumurta kümesi değeri, 2. dönem larva sayılarının Rf ve RI değerleri

Table 3. Egg mass index and Rf, RI values of second stage larvae of Gaziantep root knot nematode populations on sensitive Falcon and on resistant CLX 37574 F1 tomato varieties.

Örnek Kodu Sample code	Alındığı ilçe Location	Türler Species	FALKON (Hassas domates çeşidi) FALKON (Sensitive variety of tomato)			CLX 37574 F1 (Dayanıklı domates çeşidi) CLX 37574 F1 (Resistant variety of tomato)			RI (%) RI (%) ^a
			Skala değeri (0-5) ^a	2. dönem larva/500 cm ³ toprak	Rf (Pf/Pi) ^b	Skala değeri (0-5) ^a	2. dönem larva/500 cm ³ toprak	Rf (Pf/Pi) ^b	
			Scale value (0-5) ^a	Second stage juvenil/500 cm ³ soil	Rf (Pf/Pi) ^b	Scale value (0-5) ^a	Second stage juvenil/500 cm ³ soil	Rf (Pf/Pi) ^b	
45 B	İslahiye	<i>M. incognita</i>	4.00±0.00 b	2268.75±60.70 j	2.26±0.05 j	0.75±0.47 bcd	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00
82 P	Şehitkamil	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	11450.00±237.17 c	11.45±0.23 c	1.25±0.47 ab	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
84 D	Şehitkamil	<i>M. incognita</i>	4.25±0.25 b	4675.00±77.72 h	4.67±0.07 h	0.25±0.25 cd	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
92 F	Şehitkamil	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	8487.50±173.65 f	8.48±0.17 f	0.25±0.25 cd	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
96 D	Şehitkamil	<i>M. javanica</i>	4.00±0.00 b	2181.25±72.43 j	2.17±0.07 j	0.00±0.00 d	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
105 D	Şahinbey	<i>M. incognita</i>	4.25±0.25 b	9141.25±67.95 e	9.14±0.06 e	1.00±0.57 bc	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
110 Ba	Şahinbey	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	17505.00±285.08 b	17.50±0.28 b	1.00±0.40 bc	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
112 D	Şahinbey	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	20100.00±122.47 a	20.10±0.12 a	0.50±0.28 bcd	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
120 D	Yavuzeli	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	7987.50±117.92 g	7.98±0.11 g	0.25±0.25 cd	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
121 Ba	Yavuzeli	<i>M. arenaria</i>	4.00±0.00 b	3225.00±193.11 ı	3.22±0.19 ı	0.00±0.00 d	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
122 D	Yavuzeli	<i>M. arenaria</i>	4.00±0.00 b	10387.50±100.77 d	10.38±0.10 d	2.00±0.00 a	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
190 P	Oğuzeli	<i>M. incognita</i>	4.75±0.25 a	8381.25±269.91 fg	8.38±0.27 fg	0.00±0.00 d	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00
198 P	Nizip	<i>M. incognita</i>	5.00±0.00 a	8343.75±69.50 fg	8.34±0.07 fg	0.25±0.25 cd	0.00±0.00a	0.00±0.00 a	0.00

Ba: Bamyacı, B: Biber, D: Domates, F: Fasulye, P: Patlıcan

^a0-5 yumurta kümesi-ur oluşumu indeksi, 0: yumurta kümesi ve ur oluşumu yok, 1: 1-2 yumurta kümesi ve ur oluşumu var, 2: 3-10 yumurta kümesi ve ur oluşumu var, 3: 11-30 yumurta kümesi ve ur oluşumu var, 4: 31-100 yumurta kümesi ve ur oluşumu var, 5: >100 yumurta kümesi ve ur oluşumu var (Hartman ve Sasser, 1985).

^bRf (Çoğalma faktörü) = Pf (Sonuç popülasyonu) / Pi (Başlangıç popülasyonu).

^cRI (%): Dayanıklı çeşitte Rf / hassas çeşitte Rf x 100; RI < %10 avirulent, %10 ≤ RI < %50 kısmen virulent, RI ≥ %50 virulent (Cortada ve ark., 2009).

Aynı sütundaki farklı harfler, Duncan testine göre birbirinden farklıdır (P ≤ 0.05).

Dayanıklı Caramba domates çeşidi üzerinde 29 *Meloidogyne* popülasyonundan domatesteki *Mi 1* genine karşı 15 *Meloidogyne* popülasyonunun avirüent, 7 tanesi kısmen virüent ve 7 tanesi (%48) virüent olduğu ortaya çıkarılmıştır (Verdejo-Lucas ve ark., 2012). Karajeh ve ark., (2005)'nin yaptığı çalışmada Ürdün'deki 83 kök-ur nematodu popülasyonunun (*M. javanica*, *M. incognita* ırk 1, ırk 2 ve *M. arenaria* ırk 2) virüenslikleri hassas (Rutgers) ve dayanıklı (Betterboy) domates çeşitleri üzerinde incelenmiştir. Dayanıklı domates çeşidinde 80 popülasyonun avirüent, 3 *M. javanica* popülasyonunun ise virüent reaksiyon gösterdiği bildirilmiştir. Göller Bölgesinde yapılan bir çalışmada sebze alanlarından toplanan ve teşhisi yapılan 25 *M. incognita* popülasyonundan 22 izolat avirüent, 3 izolat virüent, 18 *M. javanica* popülasyonundan ise 14 izolatin dayanıklı domates (Seval RN F1) (*Mi* geni taşıyan) bitkisinde avirüent, 4 izolatin virüent reaksiyon gösterdiği tespit edilmiştir (Uysal, 2015). Orta Karadeniz Bölgesi'nden toplanan 90 *Meloidogyne* izolatinın (*M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. luci*) sera koşullarında dayanıklı (Alsancak) ve hassas (Beril) domates çeşitlerindeki virüenslik durumuna bakılmıştır. Toplam 85 izolat *Mi* geni taşıyan dayanıklı domates bitkisinde reaksiyon göstermemiş ve avirüent olarak belirlenmiştir. *M. luci*'den 4 ve *M. incognita*'dan 1 izolatin ise virüent olduğu tespit edilmiştir (Aydınlı ve Mennan, 2019).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bir bölgede mevcut kök-ur nematodlarının tür, ırk ve virüensliklerinin doğru bir şekilde belirlenmesi bu zararlılarla başarılı bir mücadele için çok önemlidir. Bu çalışmada, Gaziantep ve Osmaniye illerindeki bulaşık sebze arazilerinden alınan *Meloidogyne* cinsine ait 4 türden (*M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. luci*) oluşan toplam 38 popülasyonun dayanıklı CLX 37574 F1 ve hassas Falcon domates bitkilerindeki virüenslik durumu incelenmiş ve tüm popülasyonlar dayanıklı bitkide reaksiyon göstermeyerek avirüent bulunmuştur. Avirüent popülasyonların bulunduğu bu arazilerde, aynı çeşitlerin üst üste ekilmesinden dolayı daha sonraki yıllarda virüent nematod popülasyonlarının ortaya çıkması muhtemeldir. Dayanıklılık genlerine karşı virüent popülasyonların meydana gelmesi, yetiştiriciler için bir tehdit oluşturmaktadır. Bu nedenle *Meloidogyne* türleriyle mücadelede virüent popülasyonların oluşmasını önlemek için, dayanıklı çeşitlerin zayıf konukçu veya hassas çeşitlerle rotasyonu yapılabilir. Böylece, kimyasal kontrole ekolojik bir alternatif sağlayan dayanıklı çeşitlerin entegre nematod yönetimindeki diğer yönetim uygulamalarıyla birlikte kullanılması, virüent popülasyonların oluşumunu önleyebilir. Mücadelede

başarılı olabilmek ve mücadele uygulamalarını doğru bir şekilde belirleyebilmek için bulaşık arazilerde kök-ur nematodu popülasyonlarının virüent olup olmadıklarıyla ilgili daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır. Aynı zamanda virüent kök-ur nematodu popülasyonlarının bulunduğu arazilerde, ürün rotasyonunda kullanılacak olan dayanıklı çeşitlerin etkinliğini arttırmak için, dayanıklılık genlerini arttırmaya yönelik yeni direnç kaynaklarını belirlemede daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, KSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2016/5-57 D).

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Aydınlı G, Mennan S 2019. Reproduction of root-knot nematode isolates from the middle Black Sea Region of Turkey on tomato with *Mi-1.2* resistance gene. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 43 (4): 417-427.
- Barbary A, Djian-Caporalino C, Palloix A, Castagnone-Sereno P 2015. Host genetic resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in Solanaceae: from genes to the field. *Pest Management Science*, 71 (12): 1591-1598.
- Castagnone-Sereno P 2002. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes. *Euphytica*, 124: 193-199.
- Collange B, Navarrete M, Peyre G, Mateille T, Tchamitchian M 2011. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: the challenge of an agronomic system analysis. *Crop Protection*, 30 (10): 1251-1262.
- Cortada L, Sorribas FJ, Ornat C, Andre's MF, Verdejo-Lucas S 2009. Response of tomato rootstocks carrying the *Mi*-resistance gene to populations of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* and *M. javanica*. *European Journal Plant Pathology*, 124 (2): 337-343 pp.
- Coyne DL, Cortada L, Dalzell JJ, Claudius-Cole AO, Haukeland S, Luambano N, Talwana H 2018. Plant-parasitic nematodes and food security in sub-Saharan Africa. *Annual Review Phytopathology*. 56, 381-403.
- Devran Z, Söğüt MA 2010. Occurrence of virulent root knot nematode populations on tomatoes bearing

- the *Mi* gene in protected vegetable growing areas of Turkey. *Phytoparasitica*, 38: 245-251.
- Djian-Caporalino C, Molinari S, Palloix A, Ciancio A, Fazari A, Marteu N, Ris N, Castagnone-Sereno P 2011. The reproductive potential of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* is affected by selection for virulence against major resistance genes from tomato and pepper. *European Journal of Plant Pathology*, 131: 431-440.
- Dropkin VH 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. *Phytopathology*, 59, 1632-1637.
- Exposito A, Garcia S, Gine A, Escudero N, Sorribas FJ 2019. *Cucumis metuliferus* reduces *Meloidogyne incognita* virulence against the *Mi1.2* resistance gene in a tomato melon rotation sequence. *Pest Management Science*, 75, No 7: 1902-1910.
- Gine A, Sorribas FJ 2017. Quantitative approach for the early detection of selection for virulence of *Meloidogyne incognita* on resistant tomato in plastic greenhouses. *Plant Pathology*, 66, 1338-1344.
- Hallmann J, Davies KG, Sikora R 2009. "Biological control using microbial pathogens, endophytes and antagonists," in Root-knot Nematodes, eds R. N. Perry, M. Moens, and J. L. Starr, (Wallingford: CABI international), 380-411.
- Hallman J, Meressa BH 2018. "Nematode parasites of vegetables," in Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, eds R. A. Sikora, D. Coyne, J. Hallman, and P. Timper, (Wallingford: CABI International), 346-410.
- Hamza MA, Ali N, Tavoillot J, Fossati-Gaschignard O, Boubaker H, El Mousadik A, Mateille T. 2017. "Diversity of root-knot nematodes in Moroccan olive nurseries and orchards: does *Meloidogyne javanica* disperse according to invasion processes?" *BMC ecology*, 17 (1), 41.
- Hartman KM, Sasser JN 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology, '69-79'. An Advanced Treatise on *Meloidogyne*, Volume II, Methodology, Eds.: Barker, K.R., Carter, C.C., and Sasser, J.N. North Carolina State University. Graphics, 223.
- Huang X, McFiffen M, Kaloshian I 2004. Reproduction of *Mi*-virulent *Meloidogyne incognita* isolates on *Lycopersicon* spp. *Journal of Nematology*, 36: 69-75.
- Huang B, Li J, Wang Q, Guo M, Yan D, Fang W, Ren Z, Wang Q, Ouyang C, Li Y, Cao A 2018. Effect of soil fumigants on degradation of abamectin and their combination synergistic effect to root-knot nematode. *PLOS ONE*, 13 (6), 19.
- Hunt DJ, Handoo ZA 2009. Taxonomy, identification and principal species. In: Perry, R.N.; Moens, M. and Starr, J.L. (Eds)-Root-knot nematodes. Wallingford, UK, CABI Publishing, 55-97.
- Hooper DJ 1986. Extraction of free-living stages from soil. In J.F. Southey, Ed. Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Reference Book, 402.
- Iberkleid I, Ozalvo R, Feldman L, Elbaz M, Patricia B, Horowitz SB 2014. Responses of tomato genotypes to avirulent and *Mi*-virulent *Meloidogyne javanica* isolates occurring in Israel. *Phytopathology*, 104(5), 484-496.
- Jarquín-Barberena H, Dalmasso A, de Guiran G, Cardin MC 1991. Acquired virulence in the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita*: Biological analysis of the phenomenon. *Revue De Nematologie*, 14, 299-303.
- Jones JT, Haegeman A, Danchin EGJ, Gaur HS, Helder J, Jones MGK, Kikuchi T, Manzanilla-López R, Palomares-Rius JE, Wesemael WM, Perry RN 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 14(9), 946-961.
- Karajeh M, Abu-Gharbieh W, Masoud S 2005. Virulence of root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., on tomato bearing the *Mi* gene for resistance. *Phytopathology Mediterranean Journal*, (44): 24-28.
- Katan J 1996. "Soil Solarization: Integrated Control Aspect, 250-278". In: Principles and Practice of Managing Soilborne Plant Pathogens (Eds. R. Hall). APS Press, St. Paul, 330.
- Khan AR, Javed N, Sahi ST, Mukhtar T, Khan SA, Ashraf W 2017. Glomus mosseae (Gerd & Trappe) and neemex reduce invasion and development of *Meloidogyne incognita*. *Pakistan Journal of Zoology*, 49(3), 841-847.
- Meher HC, Gajbhiye VT, Chawla G, Singh G 2009. Virulence development and genetic polymorphism in *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) *Chitwood* after prolonged exposure to sublethal concentrations of nematicides and continuous growing of resistant tomato cultivars. *Pest Management Science*, 65(11), 1201-1207.
- Moens M, Perry R, Starr J 2009. *Meloidogyne* species: a diverse group of novel and important plant-parasites. In: Root-Knot nematodes. Perry, R., Moens, M., and Starr, J. (Eds): CABI Nosworthy Way, Wallingford Oxfordshire OX10 8DE, UK. 1-17.
- Mukhtar T 2018. Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in tomato with two *Trichoderma* species. *Pakistan Journal Zoology*, 50(4), 1589-1592.
- Ornat C, Verdejo-Lucas S, Sorribas FJ 2001. A Population of *Meloidogyne javanica* in Spain virulent to the *Mi* resistance gene in tomato. *Plant Disease*, 85: 271-276.

- Özarslandan A, Elekçioğlu İH 2003. Bazı hıyar, domates ve biber çeşitlerinin Kök-ur nematodları (*Meloidogyne javanica* Chitwood, 1949 ırk-1 ve *M. incognita* Chitwood, 1949 ırk-2) (Nemata: Heteroderidae)'na karşı dayanıklılıklarının araştırılması. *Türkiye Entomoloji dergisi*, ISSN 1010-6960, 27 (4): 279-291.
- Özarslandan A, Elekçioğlu H 2010. *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919), *M. arenaria* (Neal, 1889) ve *M. javanica* (Treub, 1885) (Tylenchida: Meloidogynidae) popülasyonlarının dayanıklı ve hassas domates çeşitlerinde virülensliğinin araştırılması. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 34 (4): 495-502.
- Peixoto JR, Maluf WR, Campos VP 1995. Evaluation of red pepper genotypes for resistance to *Meloidogyne incognita* race-2 and *M. javanica*. *Horticultura Brasileira*, 13: 154.
- Pinheiro JB, Silva GOD, Macêdo AG, Biscaia D, Ragassi CF, Ribeiro CS, Reifschneider FJB 2020. New resistance sources to root-knot nematode in *Capsicum* pepper. *Horticultura Brasileira*, 38(1), 33-40.
- Rahoo AM, Mukhtar T, Gowen SR, Rahoo RK, Abro SI 2017. Reproductive potential and host searching ability of entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*. *Pakistan Journal Zoology*, 49(1), 229-234.
- Rahoo AM, Mukhtar T, Jakhar AM, Rahoo RK 2018a. Inoculum doses and exposure periods affect recovery of *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora* from *Tenebrio molitor*. *Pakistan Journal Zoology*, 50(3), 983-987.
- Rahoo AM, Mukhtar T, Abro SI, Bughio BA, Rahoo R.K. 2018b. Comparing the productivity of five ento-mopathogenic nematodes in *Galleria mellonella*. *Pakistan Journal Zoology*, 50(2), 679-684.
- Rahoo AM, Mukhtar T, Bughio BA, Rahoo RK 2019. Relationship between the size of *Galleria mellonella* larvae and the production of *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*. *Pakistan Journal Zoology*, 51: 79-84.
- Roberts P, Dalmasso A, Cap GB, Castagnone-Sereno P 1990. Resistance in *Lycopersicon peruvianum* to isolates of *Mi* gene-compatible *Meloidogyne* populations. *Journal Nematology*, 22, 585.
- Robertson L, Diez-Rojo MA, Lopez-Perez JA, Piedra Buena A, Escuer M, Lopez Cepero J, Martinez C, Bello A 2009. New Host Races of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* and *M. javanica* from Horticultural Regions of Spain. *Plant Disease*, 93:180-184.
- Santos LNSD, Alves FR, Belan LL, Cabral PDS, Matta FDP, Junior J, Moraes WBD 2012. Damage quantification and reaction of bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.) to *Meloidogyne incognita* race 3 and *M. javanica*. *Summa Phytopathologica*, 38 (1): 24-29.
- Skantar AM, Carta LK, Handoo ZA 2008. Molecular and morphological characterization of an unusual *Meloidogyne arenaria* Population from traveler's tree, *Ravenala madagascariensis*. *Journal of Nematology*, 40: 179-189.
- Sorribas FJ, Ornat C, Verdejo-Lucas S, Galeano M, Valero J 2005. Effectiveness and profitability of the *Mi*-resistant tomatoes to control root-knot nematodes. *European Journal of Plant Pathology*, 111, 29-38.
- Sun L, Zhuo K, Lin B, Wang H, Liao J 2014. "The complete mitochondrial genome of *Meloidogyne graminicola* (Tylenchida): a unique gene arrangement and its phylogenetic implications", *PLOS ONE*, 9 (6), 98558.
- Strajnar P, Širca S 2011. The effect of some insecticides, natural compounds and tomato cv. Venezia with *Mi* gene on the nematode *Meloidogyne ethiopica* (Nematoda) reproduction. *Acta Agriculturae Slovenica*, 97 (1): 5-10.
- Tzortzakakis EA, Adam MAM, Blok VC, Paraskevopoulos C, Bourtzis K 2005. Occurrence of Resistance breaking Populations of Root-knot Nematodes on Tomato in Greece. *European Journal of Plant Pathology*, (13): 101-105.
- Tzortzakakis EA, Conceicao I, Dias AM, Simoglou KB, Abrantes I 2014. Occurrence of a new resistant breaking pathotype of *Meloidogyne incognita* on tomato in Greece. *Journal Plant Diseases and Protection*, 121 (4): 184-186.
- Uysal G 2015. Göller Bölgesi Sebze Üretim Alanlarında Kök-ur Nematodu Türleri (*Meloidogyne* spp.)'nin Tanılanması ve Domateste *Mi* Genine Karşı Virülensliklerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. 80.
- Verdejo-Lucas S, Cortada L, Sorribas FJ, Ornat C 2009. Selection of virulent populations of *Meloidogyne javanica* by repeated cultivation of *Mi* resistance gene tomato rootstocks under field conditions. *Plant Pathology*, 58, 990-998.
- Verdejo-Lucas S, Talavera M, Andres MF 2012. Virulence response to the *Mi.1* gene of *Meloidogyne* populations from tomato in greenhouses. *Crop Protection*, 39: 97-105.
- Villaverde JJ, Sevilla-Moran B, Lopez-Goti C, Alonso-Prados JL, Sandín-Espana P 2016. Trends in analysis of pesticide residues to fulfil the European Regulation (EC) No. 1107/2009. *Trends in Analytical Chemistry*, 80, 568-580.
- Wesemael WM, Viaene N, Moens M 2011. "Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe," *Nematology*, volume 13 (1), 3-16.
- Williamson VM, Roberts PA 2009. Mechanisms and genetics of resistance. R. N. Perry M. Moens and J.

- L. StarrRoot-knot nematodes, Wallingford, UK: CABI Publishing, 301-325.
- Wubie M, Temesgen Z 2019. Resistance Mechanisms of Tomato (*Solanum lycopersicum*) to Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* species). *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, Volume 11 (2): 33-40.
- Xu J, Narabu T, Mizukubo T, Hibi T 2001. A molecular marker correlated with selected virulence against the tomato resistance gene *Mi* in *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, and *M. arenaria*. *Phytopathology*, (91): 377-382.

The Effect of *Talaromyces funiculosus* ST976 Isolated from *Pistacia vera* Rhizosphere on Phosphorus Solubility in Soil Samples with Different Physicochemical Properties

Şahimerdan TÜRKÖLMEZ¹, Abdullah EREN^{2*}, Göksel ÖZER³, Sibel DERVİŞ⁴

¹GAP Agricultural Research Institute, Şanlıurfa 63040, Türkiye, ²Mardin Artuklu University, Vocational School of Kızıltepe, Department of Plant and Animal Production, Mardin 47000, Türkiye, ³Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Bolu 14020, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-8775-5470>, ²<https://orcid.org/0000-0003-1187-7978>, ³<https://orcid.org/0000-0002-3385-2520>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-4917-3813>

✉: abdullaheren@artuklu.edu.tr

ABSTRACT

In this study, a total of 78 *Talaromyces* isolates were isolated from the pistachio (*Pistacia vera* L.) rhizosphere heavily infested with *Neoscytalidium* spp. The identification studies of the four representative isolates based on morphological and molecular methods showed that all isolates were *T. funiculosus*. The 575 bp long sequence of the internal transcribed spacer region of *T. funiculosus* isolate ST976, selected as a representative of the isolates, was deposited in GenBank under accession no. MW130842. The Maximum Likelihood tree clustered the ST976 isolate with reference *T. funiculosus* isolates derived from the GenBank nucleotide database. The phosphorus dissolution ability of ST976 isolate was determined by an experiment using six soil samples collected from agricultural lands in various locations of Şanlıurfa province. The pH of the soil samples taken varied between 7.21 and 7.88. As a result of the analysis performed with the addition of the isolate ST976 applied to soil samples with different soil structures (Clay and Clay-Loam), it was determined that the isolate ST976 dissolved 109–311% more phosphorus than the control sample. The study is one of the first studies proving the ability of *T. funiculosus* isolate ST976 to dissolve phosphorus without any additives to soil solution was determined.

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 21.02.2021

Accepted : 15.11.2021

Keywords

Talaromyces funiculosus,
ITS,
Phosphate solubilization
Neoscytalidium spp.

Fıstık Ağaçları (*Pistacia vera*) Rizosferinden İzole Edilen *Talaromyces funiculosus* ST976'nın Farklı Fizikokimyasal Özelliklere Sahip Toprak Örneklerinde Fosfor Çözünürlüğüne Etkisi

ÖZET

Bu çalışmada *Neoscytalidium* spp. ile yoğun bir şekilde bulaşık antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) rizosferinden toplam 78 *Talaromyces* izolatu izole edilmiştir. Dört temsilci izolatu morfolojik ve moleküler yöntemlere dayanarak tanımlama çalışmaları, tüm izolatların *T. funiculosus* olduğunu göstermiştir. İzolatları temsilen seçilen *T. funiculosus* ST976 izolatının internal transcribed spacer bölgesinin 575 bp büyüklüğündeki sekansı, GenBank tarafından sağlanan MW130842 erişim numarası ile kaydedilmiştir. Maximum Likelihood dendogramı, ST976 izolatını, GenBank nükleotid veri tabanında bulunan referans *T. funiculosus* izolatları ile birlikte kümelemiştir. ST976 izolatının fosfor çözünme kabiliyeti, Şanlıurfa ilinin farklı lokasyonlarında bulunan tarım arazilerinden alınan altı toprak numunesi ile yapılan deney ile belirlenmiştir. Alınan toprak örneklerinin pH'sı 7.21 ile 7.88 arasında değişmektedir. Farklı toprak yapılarına (Killi ve Killi-Tın) sahip toprak örneklerine uygulanan ST976 izolatının ilave edilmesi ile yapılan analiz sonucunda ST976 izolatının kontrol numunesine göre % 109-311 daha fazla fosfor çözündüğü tespit edilmiştir. Çalışma, *T. funiculosus* izolatu ST976'nın fosforu toprak çözeltisine herhangi bir katkı maddesi olmadan çözebildiğini kanıtlayan ilk çalışmalardan biridir.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 21.02.2021

Kabul Tarihi : 15.11.2021

Anahtar Kelimeler

Talaromyces funiculosus,
ITS,
Fosfor çözünürlüğü
Neoscytalidium spp.

Atıf Şekli: Türkölmez Ş, Eren A, Özer G, Derviş S 2022. The Effect of *Talaromyces funiculosus* ST976 Isolated from Pistacia vera Rhizosphere on Phosphorus Solubility in Soil Samples with Different Physicochemical Properties. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1077-1085. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.884333>

To Cite : Türkölmez Ş, Eren A, Özer G, Derviş S 2022. The Effect of *Talaromyces funiculosus* ST976 Isolated from Pistacia vera Rhizosphere on Phosphorus Solubility in Soil Samples with Different Physicochemical Properties. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1077-1085. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.884333>

INTRODUCTION

Microorganisms consisting of root fungi and many bacterial species that coexist in the soil and living symbiotically in the roots of plants increase the solubility of inorganic phosphates that are insoluble in the soil due to their metabolic functions (Gupta et al., 2012; Özyılmaz and Benlioğlu, 2012; Mehta et al., 2013; Shi et al., 2017). Microorganisms, including *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* and *Burkholderia* species, are capable of producing soluble-inorganic and organic phosphate with the help of organic acids and phosphatase enzymes that they excrete (Rodriguez and Fraga, 1999; Doilom et al., 2020).

Phosphorus (P) in the earth naturally occurs in mineral forms such as phosphate rocks and apatite, the most important feature of which is that they are insoluble (Whitelaw, 1999). The main source of P, which is useful for plants in the soil, is formed as a result of the breakdown of rocks and minerals. The soluble P concentration in soil is usually low, normally 1 mg kg⁻¹ or less (Rodriguez and Fraga, 1999). In addition, since organic substances contain P, there are organic P compounds providing P in the soil (Bolat and Kara, 2017). Phosphorus is essential for agricultural production (Nawara et al., 2017), and plants can absorb P as a nutrient in the form of HPO₄²⁻ or H₂PO₄⁻ from the soil to use in the structure of some very important organic compounds including nucleic acids (Çakmakçı, 2005; Pişkin and Turhan, 2017). In general, it is very effective in the initial development stages of the plant and plays an important role in flowering, root development, seed and fruit formation. Phosphorus is also needed for the formation of substances such as sugar and starch and energy metabolism, which is necessary for the plant to maintain its vital activities.

Another source of P in the soil for plants is fertilizers containing P in normal soluble form, especially used in agricultural areas. The use of commercial fertilizer in developing countries has increased significantly in recent years and although it is not high compared to developed countries in agriculture, there is a wrong use of fertilizers. A large part of this soluble inorganic phosphate applied in the form of iron (Fe), aluminum (Al) and calcium (Ca) compounds at the rate of 75-90% becomes insoluble in the soil in a short time and precipitates (Gyaneshwar et al., 2002; Musafa et al., 2017). Approximately 43% of the 1.319 billion hectares of arable land in the world is insufficient in P, which is among the important limiting factors in

agricultural practices (Dumas et al., 2011).

Mobilization of soil P has been reported for numerous species of soil and rhizosphere fungi (Srinivasan et al., 2012; Sharma et al., 2013), particularly in genera *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Trichoderma*, traversing long distances within the soil more easily than bacteria and may be more important to the solubilization of inorganic phosphate in soils (Kucey, 1983) as they produce and secrete more acids than bacteria (Sharma et al., 2013) and mediate the formation of new secondary minerals of P, reducing the P loss from soil because of surface run off (Burford et al., 2003; Fomina et al., 2005). The most powerful P mobilizers are mycorrhizal fungi being able to solubilize and mineralize soil P and also absorb and transport P into the host root as plant growth-promoting microorganisms (Owen et al., 2015).

The initial aim of this study was to screen rhizospheric fungi established in the zone of soil directly surrounding the pistachio root system in a representative location of the pistachio growing Southeastern Anatolia region to garner a broad perspective regarding their presence and functioning in combination. The study also aimed to identify *Talaromyces* isolates colonized the soil in great amounts together with the pathogenic *Neoscytalidium* spp. with morphological and molecular tools and to assess the ability of the *T. funiculosus* isolate ST976 to dissolve P in six soil samples taken from different parts of Şanlıurfa province. This research is among the originate studies evaluating the ability to dissolve P with only *T. funiculosus* ST976 without any additives to the soil solution is determined.

MATERIALS and METHODS

Collection of soil sample

In August 2019, soil samples were collected from rhizospheres of pistachio trees in an orchard of Bozova, Şanlıurfa, Turkey. Four samples, each consisting of 200 grams of soil, were collected from around symptomatic plants with a sterile container at a depth of 20 cm and at a distance of 25 cm from the roots, immediately sent to the laboratory, mixed thoroughly, shade-dried for 15-20 days, crushed, and sieved through a 2-mm sieve.

Isolation of rhizospheric fungi

A common protocol of soil dilution plate technique was applied to isolate fungi from the shade-dried and

sieved soil samples. At the beginning of the procedure, 10 g of each soil was suspended in 200 mL of sterile distilled water in a screw-capped bottle, and the mixture was stirred with a magnetic stirrer (250 rpm at room temperature) for 20 min. then one ml of aliquot was added to 9 ml of sterile distilled water up to 10^{-6} dilution. In this way, 0.5 ml aliquot of 10^{-6} dilution was transferred with a pipette onto the surface of 15 ml potato dextrose agar (PDA; Difco, Detroit, MI, USA) containing streptomycin sulphate at the concentration of 100 mg L^{-1} in a 100-mm diameter petri dish and spread evenly across the agar surface using a sterile glass spreader. Along these lines, each suspended soil sample was poured over 10 plates (in ten replicates). The plates were labeled and incubated at 25°C in the dark and observed for fungal growth. After 4-7 days of incubation, growing colonies were subcultured on PDA and malt extract agar (MEA; Difco, Detroit, MI, USA) media plates.

Cultural and morphological characteristics of the fungi

After 7 days of incubation at 25°C in the dark on MEA and PDA, colony characteristics were observed. The growth diameter and coloration of the colonies and the texture of the mycelia were noted. For further characterization of tentatively identified *Talaromyces* species (Samson et al., 2011; Yilmaz et al., 2014), isolates were also incubated at 37°C on MEA for 7 days. The microscopic features (spore formation, size and mycelium arrangement) were examined after three additional days of incubation. Microscopic observations were made using an Eclipse E200 model light microscope (Nikon Inc., Tokyo, Japan). The total number of colonies identified was counted for each soil sample. All isolates were deposited in the culture collection of the Plant Pathology Laboratory at the GAP Agricultural Research Institute, Şanlıurfa.

DNA extraction

To extract genomic DNA, a PDA plug (5 mm in diameter) from an actively growing each single-spore culture of *Talaromyces* spp. was transferred into a 50 ml centrifuge tube containing 20 ml of potato dextrose broth (Difco, Detroit, MI, USA) and incubated for 7 days at 25°C in a shaker (ThermoStable™ IS-30: Daihan Scientific Co., Seoul, Korea) at 100 rpm. Mycelial mass was harvested by filtration through a filter paper and rinsed three times with sterile distilled water. Following drying, the mycelia were ground to a homogenized powder with sterilized mortar and pestle under liquid nitrogen. Approximately 100 mg of powder was suspended in preheated 750 μL of extraction lysis buffer (2% CTAB, 2% PVP-40, 0.8 M NaCl, 125 mM Tris-HCl pH 8.0, 25 mM EDTA pH 8.0, 0.5% sodium disulphide, and 0.5% sarcosyl) in a 2 mL Eppendorf tube, vortexed briefly

and then incubated at 65°C for 1 h. After this incubation, 750 μL of chloroform/isoamyl alcohol (24:1 w/w) was added to the suspension, gently mixed for 5 min. The suspension was centrifuged at 13.000 g for 15 minutes to clarify and the supernatant was transferred to a new Eppendorf tube. This step was repeated twice. DNA was then precipitated with 0.6 volume of cold isopropanol and collected by centrifugation at 13.000 g for 10 min. The resulting pellet was rinsed with 70% ethanol and dried at room temperature in a laminar flow for 60 min. The final concentration and quality of the resulting DNA were estimated by a nano spectrophotometer (DS-11 FX+: Denovix Inc., Wilmington, DE, USA) and adjusted to $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ with sterile distilled water for PCR assay. The DNA was stored at -20°C until used.

ITS rDNA sequencing and phylogenetic analysis

The internal transcribed spacer region (ITS) of ribosomal DNA of isolates was amplified with the primer pair of ITS1 (5' - TCC GTA GGT GAA CCT GCG G - 3') and ITS4 (5' - TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC - 3') primer pair described by White et al (1990). Reaction mixtures contained $1\times$ polymerase reaction buffer, 200 μM each dNTPs, 0.4 μM of each primer, 1.25-unit of Taq DNA polymerase (New England BioLabs, Ipswich, MA, USA), 10 ng of template DNA, and sterile distilled water up to 50 μL . Conditions for PCR of ITS constituted an initial denaturation step of 3 min at 94°C , followed by 35 cycles of 30 s at 94°C , 30 s at 52°C and 1 min at 72°C , and a final denaturation step of 10 min at 72°C , which was carried out in a T100 thermal cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). PCR product was confirmed by visualizing on a 1.4% agarose gel containing $1\times$ TAE buffer using a gel documentation system (G: Box F3: Syngene, Cambridge, UK) and bidirectional sequenced with the same primers by a commercial company (Macrogen Inc., Seoul, Korea).

The ITS sequence of isolates was compared to those of all known *Talaromyces* spp. deposited into the National Centre for Biotechnology Information (NCBI) nucleotide database using the Basic Local Alignment Search Tool (Anonymous, 2021). The ITS sequence of representative isolate ST976 was submitted to the NCBI GenBank and deposited under accession no. MW130842. For further analyses, a phylogenetic tree was produced with ST976 and eleven *Talaromyces* isolates belonging to six species. All sequences were aligned with Clustal W system (Thompson et al., 1994) using MEGAX software (Kumar et al., 2018). The Maximum Likelihood (ML) analysis was performed on a maximum parsimony (MP) analysis starting tree automatically generated by the software and the robustness of phylogeny was assessed by 1,000 bootstrap re-samplings (Felsenstein, 1985).

Soil material used in phosphorus solubility analysis

The pH of the soils taken into the trial from 6 different pistachio fields in Şanlıurfa province ranged between 7.21 and 7.88, according to the soil pH limit values reported by Kacar (1995). Haliliye soil sample was determined to be slightly alkaline, while samples taken from other regions were in the middle alkaline class (Table 1).

When the texture classes of the soils were examined according to the method reported by Eyüpoğlu (1999),

Table 1. Some properties of soil materials experimented in this study.

Çizelge 1. Çalışmada denemeye alınan toprak materyalinin bazı özellikleri.

Sample	pH	Soil texture	EC (mS cm ⁻¹)	CaCO ₃ (%)	Total P (mg kg ⁻¹)
Akçakale	7.70	Clay Loam	1.45	26.6	828
Bozova	7.68	Clay Loam	0.86	25.7	676
Eyyübiye	7.88	Clay	1.36	27.7	694
Haliliye	7.21	Clay Loam	4.02	31.1	2.075
Karaköprü	7.84	Clay Loam	0.74	27.3	2.094
Suruç	7.75	Clay	1.04	12.9	839

Determination of the solvent effect of the phosphorus in the soil solution of ST976

Soil samples were dried and sieved to determine the solvent effect of the P in the soil solution of ST976. After being sterilized, 5 g of soil for each sample was weighed and placed in a 150 ml sterile Erlenmeyer flask, 1 g of *T. funiculosus* ST976 (by weighing of 7 mm diameter mycelial agar plugs cut with a sterile cork borer from the centers of the colonies grown on PDA in aseptic conditions) and 100 mL of sterile distilled water were added into the flask and covered with parafilm. Only 5 g of soil and 100 ml of sterile distilled water were added to the control flasks and kept at 25°C in the dark for 14 days (in three replicates). After extraction of samples kept in the dark for 14 days, favorable P concentrations were determined on the ICP-OES device.

Statistical Analysis

The data were analyzed for significance by analysis of variance (ANOVA), followed by Fisher's least significant difference test (LSD) at $P < 0.01$ with Statistical Analysis System (SAS Version 9.0; SAS Institute Inc.; Cary, NC, USA).

RESULTS and DISCUSSION

Fungal species were easily isolated and purified because they formed surface colonies that were well dispersed at 10⁻⁶ dilution. Colonies were identified as *Neoscytalidium* spp. and *Talaromyces* spp. based on the description of their anamorphs (Crous et al., 2006; Samson et al., 2011; Yilmaz et al., 2014). Out of 726 colonies counted in all soil samples, the mean percentage of soil colonization by *Neoscytalidium* spp. (Figure 1) and *Talaromyces* spp. with similar colony

the samples in Eyyübiye and Suruç regions had clayey structure and the samples in other regions had clayey-loam texture, and total P ratios were determined via Induced by Plasma-Optical Emission Spectrometry (ICP-OES). The concentrations of P were measured by the Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (ICP-OES Varian Liberty Series II). Some physical and chemical properties of the soils used in the research are given in Table 1.

type on both media and morphologically similar characteristics for each species were 77.7 and 10.7%, respectively (Table 2). The remaining colonies were minor in proportion (11.6%) and composed of *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., a *Pythium* sp. and a *Rhizopus* sp. Among these genera, *Neoscytalidium* (*N. dimidiatum*) has been previously reported to cause canker, shoot blight, and root rot of pistachio in Turkey (Derviş et al., 2019).



Figure 1. The colonies of *Neoscytalidium* spp. from pistachio rhizosphere.

Şekil 1. Antepfıstığı rizosferinden elde edilen *Neoscytalidium* spp. Kolonileri

Morphological and molecular studies were initiated by selecting 4 isolates, one isolate representing each sampling. Fungal isolates of *Talaromyces* spp. formed dull green and loosely and strongly funiculose (Figure 2. a) colonies on PDA and MEA of 35- and 30-mm diameter after 7 days incubation at 25°C, respectively.

The reverse of colonies was light green and pale brown on PDA and MEA, respectively. Conidiophores were biverticillate (Figure 2. b) with a few subterminal branches. Conidia were unicellular, gray-green in color, smooth-walled, ellipsoidal and 2 to 3 × 1 to 2 µm in size (Figure 2. c). The distinguishing

featured colonies grew well at 37°C in 50 mm-diameters on MEA after 7 days of incubation. These characteristics were consistent with those of *Talaromyces funiculosus* (Thom) described by Samson et al. (2011) and Yilmaz et al. (2014).

Table 2. Frequency of fungi in soil samples from pistachio rhizosphere on potato dextrose agar medium.

Çizelge 2. Patates dekstroz agar ortamında antepfıstığı rizosferinden alınan toprak örneklerinde fungusların bulunma oranı

Fungus	Number of colonies	Soil colonization (%)
<i>Neoscytalidium</i> spp.	564	77.7
<i>Talaromyces</i> spp.	78	10.7
<i>Fusarium</i> spp.	34	4.7
<i>Penicillium</i> spp.	30	4.1
<i>Rhizopus</i> sp.	16	2.2
<i>Pythium</i> sp.	4	0.6

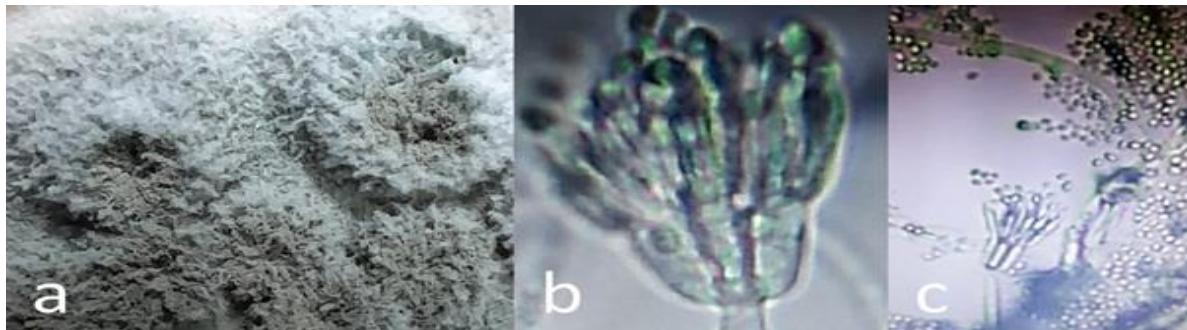


Figure 2. Morphological and distinguishing characters of *Talaromyces funiculosus* a. Strongly funiculose colony type on malt extract agar after 7 days incubation at 25°C in the dark b. Biverticillate conidiophore c. Ellipsoidal conidia

Şekil 2. *Talaromyces funiculosus*'un morfolojik ve ayırt edici karakterleri a. Karanlıkta 25 °C'de 7 gün inkübasyondan sonra malt ekstraktı agarında yoğun fünükülöz koloni tipi b. Bivertisilat konidiyofor c. Elipsoidal konidiler

The PCR sequencing of the ITS locus of rDNA was successfully employed in this study to confirm the identification of isolates. The identification of four representative isolates was confirmed by the BLAST algorithm running on the NCBI based on the ITS sequences which were 575 bp long with identity matches of 100% with those of *T. funiculosus* isolates in the GenBank database. The ITS sequence of the isolate ST976 submitted to the NCBI GenBank was deposited under accession no. MW130842. *Talaromyces* isolates were differentiated from other *Talaromyces* species in the phylogenetic tree (Figure 3). The separation of *T. funiculosus* isolates into a clade was conducted by the Maximum Likelihood method with a high bootstrap value of 94%, which confirm that the sequence analysis of the ITS region is a reliable tool for the identification of *T. funiculosus* isolates.

The results obtained were determined to be statistically significant at the level of $P < 0.01$ in the soils to which the isolate ST976 was added (Table 3).

It was determined that *T. funiculosus* ST976 has the

ability to dissolve P quite effectively in the experiment, which was established by bringing the soil solution and the fungus together, within 14 days compared to the control (in three replicates). As a result of the analyses made to determine the solvent effect of P in the soil solution of ST976, it was determined that ST976 (soil + ST976) increased the favourable P ratio in the soil by 109-311% compared to the control (soil) groups. (Table 3, Figure 4).

It was concluded that the contents of the soil samples did not affect the P dissolution rate in *T. funiculosus* ST976 due to the salt-free or less salty structure. It has been stated that the increase in salinity does not decrease phosphate solubility in *T. funiculosus* SLS8 and it may be beneficial in the protection of phosphate levels in salty soils with the use of fungi (Kanse et al., 2015).

In a study of the state of soil fractions and the ability of fungi to dissolve phosphates, fourteen of the thirty-three isolated fungi were considered to be high or very high P solvents based on a dissolving capacity of $>1.000 \mu\text{g PO}_4^{3-} \text{ ml}^{-1}$ (Barroso and Nahas, 2005).

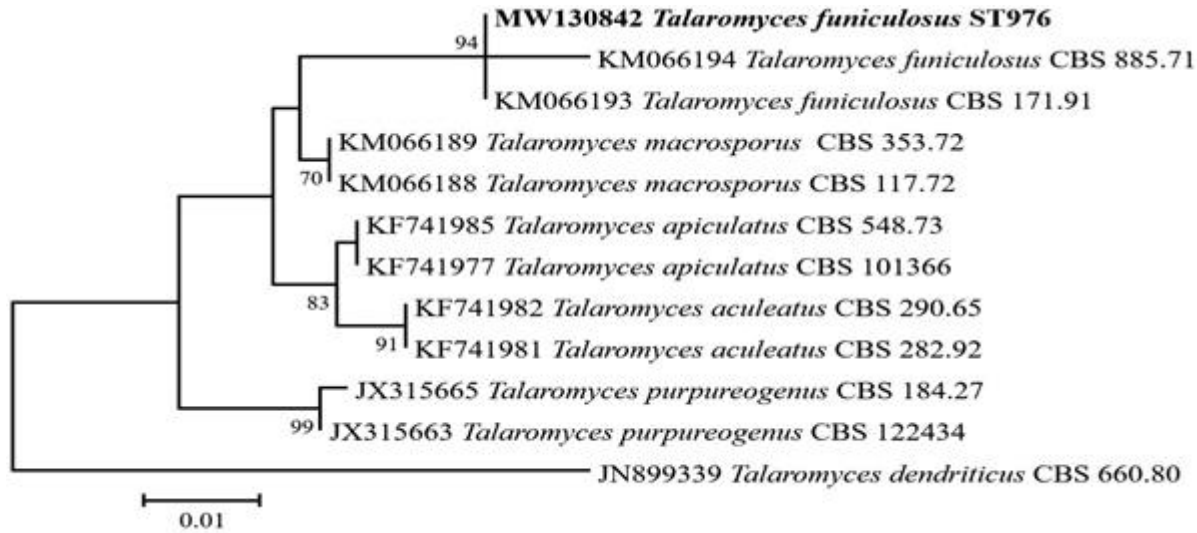


Figure 3. The Maximum Likelihood tree estimated using MEGAX based on ITS sequences showing the relationship among members of the *Talaromyces* genus. The bootstrap support percentages of the analysis are shown at the nodes. The isolate ST976 in bold is obtained in this study.

Şekil 3. *Talaromyces* cinsi üyeleri arasında ilişkiyi gösteren ve ITS dizileri tabanlı MEGAX kullanılarak tahmin edilen Maximum Likelihood dendogramı. Analizin bootstrap destek yüzdeleri nodlarda gösterilmektedir. Kalın harflerle gösterilen ST976 izolatu bu çalışmada elde edilmiştir.

Table 3. Effect on available P solubility by applying the isolate ST976 to soils.

Çizelge 3. ST976 izolatının topraklara uygulanmasıyla alınabilir P çözünürlüğü üzerindeki etkisi.

Sample	Control (soil, mg P L ⁻¹)	Soil + ST976 (mg P L ⁻¹)*	Increase (%)
Akçakale	10.7	26.9	151
Bozova	9.50	19.9	109
Eyyübiye	7.52	25.9	244
Haliliye	40.2	119	196
Karaköprü	9.24	24.4	164
Suruç	4.94	20.3	311

*Statistically significant at the level of $P < 0.01$

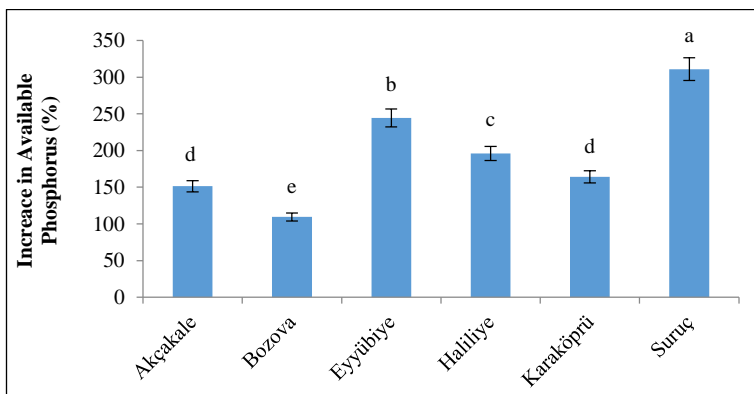


Figure 4. Effect on phosphate solubilization activity of the *Talaromyces funiculosus* isolate ST976. Means of the bars indicated with the same letter are not significantly different from each other according to Fisher's LSD test ($P < 0.01$).

Şekil 4. *Talaromyces funiculosus* izolatu ST976'nın fosfat çözündürme aktivitesi üzerindeki etkisi. Fisher'in LSD testine ($P < 0.01$) göre aynı harfin ardından gelen sütündeki ortalamalar önemli ölçüde farklı değildir.

Whitelaw et al. (1997), stated that increases in P uptake by plants may be due to phosphate dissolution

in the soil as a result of the presence of *Penicillium radicum*. The inoculation of plant seeds with P

dissolving bacteria was reported to promote plant growth by increasing the availability of P fertilizers fixed in the soil or applied (Çakmakçı, 2005). In soil conditions, various phosphate dissolving microorganisms have features such as helping to dissolve insoluble phosphates and improving soil health and quality (Richardson, 2001; Vassilev et al., 2006; Naik et al., 2008; Dash and Gupta, 2011; Sun et al., 2017). Many researchers stated that depending on the soil structure and at low pH, P solubility is more active by fungi (Whitelaw et al., 1999; Çakmakçı, 2005; Song et al., 2008; Chai et al., 2011; Sharma et al., 2013). Seshadri et al. (2000) and Antoun (2005) reported that the soil pH is affected by the microorganisms that dissolve P in the soil, organic acids such as gluconic acid, citric acid and H⁺ (proton) pumping, and the P turns into a form that can be taken by plants.

CONCLUSIONS

In the present study, which was conducted to determine the solvent effect of the P in the soil solution of ST976 isolated from the roots of the pistachio tree, it was determined that ST976 can dissolve P at a rate of 109% to 311% compared to the control, depending on the P ratio in the soil.

Although it has been reported in the literature that organisms dissolving P at low pH are generally more active, the soil samples taken for the research had slightly alkaline and medium alkaline pH, and there were positive increases in P solubility in soils with ST976 added against control groups. Although the element P is found in high amounts in both organic and inorganic forms in the soil, it is still a limiting factor in terms of plant nutrition since it is in a form that cannot be taken by plants. Therefore, the presence of phosphate-dissolving microorganisms in the soil plays an important role in plant nutrition by increasing P uptake by the plant. To minimize chemical applications in terms of increased efficiency and quality in production, it is known that the role of P-dissolving microorganisms in soils with different P content is substantially important. Considering the small amount of research on their use as biological fertilizers and their encouragement of plant growth, more and broader studies should be conducted.

The findings demonstrate the ability of this beneficial rhizospheric fungus to solubilize P as a potential growth promoter under high pathogen pressure (*Neoscytalidium* spp. in this study). In light of other studies, the ability of *T. funiculosus* ST976 to dissolve phosphorus directly in the soil solution was demonstrated in this study. It is thought that the data obtained in soil conditions will be included in scientific studies in a way that will form the basis for the studies on the application of *T. funiculosus*.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

- Anonymous, 2021. BLAST: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>. (Access Date: 15.01.2021).
- Antoun H 2005. Field and greenhouse trials performed with phosphate solubilizing bacteria and fungi. Department of Soil and Agrifood Engineering, Faculty of Agriculture and Food Science, Canada.
- Barroso CB, Nahas E 2005. The status of soil phosphate fractions and the ability of fungi to dissolve hardly soluble phosphates. *Applied Soil Ecology*, 29(1): 73–83.
- Bolat İ, Kara Ö 2017. Plant nutrients: sources, functions, deficiencies and redundancy. *Journal of Bartın Faculty of Forestry*, 19(1): 218–228.
- Burford EP, Fomina M, Gadd GM 2003. Fungal involvement in bioweathering and biotransformation of rocks and minerals. *Mineralogical Magazine*, 67: 1127–1155.
- Çakmakçı R 2005. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 19(35): 93–108.
- Chai B, Wu Y, Liu P, Liu B, Gao M 2011. Isolation and phosphate-solubilizing ability of a fungus, *Penicillium* sp. from soil of an alum mine. *Journal of Basic Microbiology*, 51(1): 5–14.
- Crous PW, Slippers B, Wingfield MJ, Rheeder J, Marasas WFO, Philips AJL, Alves A, Burgess T, Barber P, Groenewald JZ 2006. Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *Studies in Mycology*, 55: 235–253.
- Dash S, Gupta N 2011. Microbial bioinoculants and their role in plant growth and development. *International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research*, 2(13): 232–251.
- Derviş S, Türkölmez Ş, Çiftçi O, Ulubaş Serçe Ç, Dikilitas M 2019. First report of *Neoscytalidium dimidiatum* causing canker, shoot blight and root rot of pistachio in Turkey. *Plant Disease*, 103(6): 1411.
- Doilom M, Guo JW, Phookamsak R, Mortimer PE, Karunarathna SC, Dong W, Liao CF, Yan K, Pem D, Suwannarach N, Promputtha I, Lumyong S, Xu JC 2020. Screening of phosphate-solubilizing fungi from air and soil in Yunnan, China: four novel species in *Aspergillus*, *Gongronella*, *Penicillium* and *Talaromyces*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2443.
- Dumas M, Frossard E, Scholz RW 2011. Modeling biogeochemical processes of phosphorus for global

- food supply. *Chemosphere*, 84(6): 798–805.
- Eyüpoğlu F 1999. Türkiye topraklarının verimlilik durumu. Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Yayınları, Ankara.
- Felsenstein J 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783–791.
- Fomina M, Burford EP, Gadd GM 2005. Fungal dissolution and transformation of minerals: Significance for nutrient and metal mobility. In *Fungi in Biogeochemical Cycles*, ed. G.M. Gadd, 236–266. Cambridge: Cambridge University Press.
- Gupta M, Kiran S, Gulati A, Singh B, Tewari R 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. *Microbiological Research*, 167(6): 358–363.
- Gyaneshwar P, Kumar GN, Parekh LJ, Poole PS 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and Soil*, 245(1): 83–93.
- Kacar B 1995. Bitki ve toprağın kimyasal analizleri, III. Toprak analizleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları, No:3, Ankara.
- Kanse OS, Whitelaw-Wecker M, Kadam TA, Bhosale HJ 2015. Phosphate solubilization by stress-tolerant soil fungus *Talaromyces funiculosus* SLS8 isolated from the neem rhizosphere. *Ann. Microbiol.* 65(1): 85–93.
- Kucey RMN 1983. Phosphate solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 63: 671–678.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analyses across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35: 1547–1549.
- Mehta P, Walia A, Chauhan A, Shirkot CK 2013. Plant growth promoting traits of phosphate-solubilizing rhizobacteria isolated from apple trees in trans Himalayan region of Himachal Pradesh. *Archives of Microbiology*, 195(5): 357–369.
- Musafa MK, Aini LQLQ, Prasetya B 2017. Peran mikoriza arbuskula dan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dalam meningkatkan serapan P dan pertumbuhan tanaman jagung pada andisol. *Jurnal Tanah dan Sumberdaya Lahan*, 2(2): 191–197.
- Naik PR, Raman G, Narayanan KB, Sakthivel N 2008. Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil. *BMC Microbiology*, 8(1): 230–235.
- Nawara S, Van Dael T, Merckx R, Amery F, Elsen A, Odeurs W, Vandendriessche H, Mcgrath S, Roisin C, Jouany C, Pellerin S, Denoroy P, Eichler-Löbermann B, Börjesson G, Goos P, Akkermans W, Smolders E 2017. A comparison of soil tests for available phosphorus in long-term field experiments in Europe. *European Journal of Soil Science*, 68(6): 873–885.
- Owen D, Williams AP, Griffith GW, Withers PJA 2015. Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorous acquisition. *Applied Soil Ecology*, 86: 41–54.
- Özyılmaz Ü, Benlioğlu K 2012. Effect of phosphate solubilizing bacteria to growth of cotton plant and Verticillium wilt. *Turkish Journal of Biological Control*, 3(1): 47–62.
- Pişkin A, Turhan M 2017. the effects of phosphorus applied in spring on yield and quality of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Agriculture and Nature*, 20: 227–231.
- Richardson AE 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Functional Plant Biology*, 28(9): 897–906.
- Rodriguez H, Fraga R 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17 (4-5): 319–339.
- Samson RA, Yilmaz N, Houbraken J, Spierenburg H, Seifert KA, Peterson SW, Varga J, Frisvad JC 2011. Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Studies in Mycology*, 70: 159–183.
- Seshadri S, Muthukumarasamy R, Lakshminarasimhan C, Lgnacimuthu S 2000. Solubilization of inorganic phosphates by *Azospirillum halopraeferans*. *Current Science*, 79 (5): 565–567.
- Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi, TA 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2(1): 587–600.
- Shi XK, Ma JJ, Liu LJ 2017. Effects of phosphate-solubilizing bacteria application on soil phosphorus availability in coal mining subsidence area in Shanxi. *Journal of Plant Interactions*, 12(1): 137–142.
- Song OR, Lee SJ, Lee YS, Lee SC, Kim KK, Choi YL 2008. Solubilization of insoluble inorganic phosphate by *Burkholderia cepacia* DA23 isolated from cultivated soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(1): 151–156.
- Srinivasan R, Yandigeri MS, Kashyap S, Alagawadi AR 2012. Effect of salt on survival and P-solubilization potential of phosphate solubilizing microorganisms from salt affected soils. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19: 427–434.
- Sun WL, Zhao YG, Yang M 2017. Microbial fertilizer improving the soil nutrients and growth of reed in degraded wetland. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 69, 012062
- 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(22): 4673–4680.
- Vassilev N, Vassileva M, Nikolaeva I 2006. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(2): 137–144.
- White TT, Bruns T, Lee S, Taylor J 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J (eds). *PCR Protocols: A guide to methods and applications*, pp. 315-322. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Whitelaw MA 1999. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. In: *Advances in Agronomy*, 69: 99–151.
- Whitelaw MA, Harden TJ, Bender GL 1997. Plant growth promotion of wheat inoculated with *Penicillium radicum* sp. nov. *Soil Research*, 35(2): 291–300.
- Whitelaw MA, Harden TJ, Helyar KR 1999. Phosphate solubilisation in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(5): 655-665.
- Yilmaz N, Visagie CM, Houbraken J, Frisvad JC, Samson RA 2014. Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. *Studies in Mycology*, 78: 175-341.

Phoma tracheiphila'ya Karşı Bazı Fungisitlerin Etkinliğinin Araştırılması

Mukaddes KAYIM¹, Merve Sultan YEŞİL², Ali ENDES³

^{1,2}Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü 01330, Adana-Türkiye, ³Yozgat Bozok Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Yozgat-Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-0309-0390>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4983-2871>, ³<https://orcid.org/0000-0003-4815-5864>

✉: mkayim@cu.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada bir ruhsatlı olmak üzere 11 farklı fungisitlerin 14 farklı konsantrasyonunun *in vitro* koşullarda *Phoma tracheiphila*'nın en virulent izolatının (Pt-E10) miselyal gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır. *In vitro* koşullarda patojenin miselyal gelişimini engellemede cyprodinil (375 g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) kombinasyonunun 5 ppm ≥, fluxapyroxad (75 g l⁻¹) + difenoconazole (50 g l⁻¹) fungisit kombinasyonunun 100 ppm ≥ uygulama dozları %100 etki ederek en etkili fungisitler olmuştur. cyprodinil (375 g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) ve fluxapyroxad (75 g L⁻¹) + difenoconazole (50 g L⁻¹) Bu fungisit kombinasyonlarının EC₅₀ değerleri sırasıyla 0.12 ve 1.23 ppm olarak *P. tracheiphila* (Pt-E10) için hesaplanmıştır. Azoxystrobin, dithianon ve pyraclostrobin gibi etkili maddeli fungisitler *P. tracheiphila*'nın miselyal gelişimini engellemede kayda değer bir etki göstermemiştir. Sera denemelerinde ise cyprodinil (375 g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) ve fluxapyroxad (75 g L⁻¹) + difenoconazole (50 g L⁻¹) fungisit kombinasyonlarının normal dozları hastalık şiddetini engellemede çok etkili değilken, uygulama dozunun iki katı kullanıldığında hastalık sırasıyla %62.6 ile %45.3 düzeyinde engellenmiş, ruhsatlı bakırhidroksit ise hastalığı sadece % 9.8 oranında engellemiştir.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 04.06.2021

Kabul Tarihi : 11.10.2022

Anahtar Kelimeler

Fungisit

Limon

Patojenisite

Plenodomus tracheiphilus

Investigation of the Effectiveness of Some Fungicides Against *Phoma tracheiphila*

ABSTRACT

In this study, the effects of 14 different concentrations of 11 different fungicides, including one licensed, on the mycelial growth of *Phoma tracheiphila*'s most virulent isolates (Pt-E10) were investigated in *in vitro* conditions. The 5.0 ppm ≥ of cyprodinil (375 g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) combination and 100 ppm ≥ of fluxapyroxad (75 g L⁻¹) + difenoconazole (50 g L⁻¹) combination were the most effective fungicides with 100 % effect on radial growth inhibition. The EC₅₀ values of these fungicide combinations were calculated for *P. tracheiphila* (Pt-E10) as 0.12 and 1.23 ppm, respectively. Fungicides with active substances such as azoxystrobin, dithianon and pyraclostrobin did not show any significant effect in preventing mycelial development of *P. tracheiphila*. In greenhouse trials, the normal doses of cyprodinil (375 g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) and fluxapyroxad (75 g L⁻¹) + difenoconazole (50 g L⁻¹) fungicide have not been very effective in preventing disease severity. However, when using two fold application doses of fungicides the disease severity was prevented at 62.6% and 45.3%, respectively, and the licensed copper hydroxide prevented the disease only at the rate of 9.8%.

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 04.06.2021

Accepted : 11.10.2022

Keywords

Fungicide

Lemon

Pathogenicity

Plenodomus tracheiphilus

Atıf Şekli: Kayım M, Yeşil MS, Endes A 2022. *Phoma tracheiphila*'ya Karşı Bazı Fungisitlerin Etkinliğinin Araştırılması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1086-1097. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.948066>

To Cite : Kayım M, Yeşil MS, Endes A 2022. Investigation of the effectiveness of some fungicides against *Phoma tracheiphila*. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1086-1097. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.948066>

GİRİŞ

Türkiye, yaklaşık olarak 4.3 milyon ton turunçgil üretimi ile dünyada 8. sırada, 0.9 milyon ton limon üretimi ile Akdeniz ülkeleri içerisinde 1. sırada yer almaktadır (Anonim, 2019). Türkiye’de limon üretiminin illere göre dağılımında Mersin %59.0’lik üretim payı ile ilk sırada, %24.3’lük pay ile Adana ikinci sırada yer almaktadır. Türkiye limon üretiminin %83.3’lük kısmını bu iki il karşılamaktadır (Anonim, 2020). Türkiye’de yetiştirilen limonlar; ekşi, tatlı ve limon benzerleri olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır. Doğu Akdeniz Bölgesinde ticari olarak tercih edilerek geniş çapta yetiştiriciliği yapılan Eureka, Kütdiken, Enterdonat, Yediveren ve Lizbon çeşitleri ekşi limon grubundandır. Akdeniz ülkelerinde ekşi limon grubu tüm limon çeşitleri Uçkurutan hastalığı (*Phoma tracheiphila*)’na son derece duyarlı olup, bu tip ağaçlarda ciddi kayıplar yaşanmaktadır. Nitekim Adana ili ve merkez ilçelerinde ekşi limon grubundan olan Eureka, Kütdiken, Enterdonat ve Yediveren limon çeşitlerinden oluşan bahçelerde yapılan survey çalışmalarında ağaçların çoğunluğunun uçkurutan hastalık belirtileri gösterdiği ve ciddi ağaç ölümleri olduğu tespit edilmiştir (sayısal veri alınmamıştır). *P. tracheiphila* funguslar alemi içerisinde, Ascomycota şubesinde, Pleosporales takımında yer alan *Phoma* cinsi bir patojendir. *Phoma tracheiphila* (Petri) Kan.& Gik. (Petri, 1929; Kantschaveli ve Gikashvili, 1948) etmeni, limon yanında diğer turunçgil türlerini de infekte etmesi nedeniyle de Gruyter ve ark. (2013) tarafından *Plenodomus tracheiphilus* (Petri) Gruyter, Aveskamp & Verkley olarak tekrar sınıflandırılmıştır. Uçkurutan hastalığı etmeni turunçgil yetiştiriciliği yapılan İtalya, İspanya, Portekiz, Fransa, Lübnan, İsrail, Libya, Mısır, Fas, Tunus, Yunanistan, Türkiye, Suriye, Irak, Yemen, Kıbrıs, Malta, Kolombiya, Uganda ve Avustralya’da rapor edilmiştir (Anonim, 2014). Uçkurutan hastalığının karakteristik semptomları uç yapraklarda kloroz oluşumu ve yaprak sapı sürgünde kalacak şekilde bölgesel yaprak dökümleri, patojenin iletim demetlerinde ilerlemesi ve salgıladığı “malseccin” toksininden dolayı somon rengi görünümü ile sürgünlerde uçtan itibaren kurumalar oluşturmakta ve daha sonra tüm bitkinin ölümü ile sonuçlanmaktadır (Klotz, 1954). Uçkurutan hastalığı mücadelesinde; kültürel uygulamalar sürekli ağaçların kontrol edilip hastalıklı olanlarının sökülüp imha edilmesi, ağaçların obur dallarının düzenli olarak temizlenmesi, bitkide yara açılmaması, hastalıklı sürgünlerin budanarak imha edilmesi ve budamaların patojenin inaktif olduğu yüksek sıcaklıklarda yapılması ve yeni bahçelerin hastalıktan arı sertifikalı fidanlarla kurulması şeklindedir (Dinç ve ark., 1981; Salerno ve Cutili,

1981; Navarro ve ark., 2002; Migheli ve ark., 2009). Uçkurutan ile mücadelede *Agrobacterium* ile *P. tracheiphila*’nın patojenik olmayan mutantların, endofitlerin (Coco ve ark., 2004; Migheli ve ark., 2009) ve simbiyot mikorizaların kullanılması (Özdemir, 2019) patojenin miselyal gelişimini engellemede başarılı sonuçlar vermektedir. Bununla birlikte pratikte uçkurutan hastalığının mücadelesinde düzenli aralıklarla ruhsatlı bakırlı fungusitler uygulanmaktadır. Ancak bakırlı fungusitler patojenin bitki yüzeyinde çimlenmesini önlemeye yöneliktir. İnfekteli ağaçların bu fungusitlerle tedavi edilmesi etmenin trakeomikoz patojen olması nedeniyle mümkün değildir. Bu çalışmanın amacı, limon bahçelerinde sorun oluşturan *P. tracheiphila*’ya karşı bazı sistemik ve koruyucu etkili fungusitlerin *in vitro* koşullarda patojenin radyal miselyal gelişimini engelleme etkisi ve sera koşullarında limon fidanlarında hastalık şiddeti üzerindeki etkilerinin belirlenmesidir.

MATERYAL ve METOD

Fungal izolat, besi ortamı ve bitki materyalleri

Phoma tracheiphila izolat, “Kütdiken” limon fidanları üzerinde en virulent olduğu önceden saptanan PtE-10 *in vitro* ve sera fungusit denemelerinde patojen materyali olarak kullanılmıştır. *P. tracheiphila* izolatının alt kültüre alınması ve *in vitro* fungusit deneme çalışmalarında besiyeri olarak 100 mg L-1 tetrasiklin ilave edilmiş PDA (potato dextrose agar) besi ortamı kullanılmıştır. Sera koşullarında fungusit denemelerinde bitki materyali olarak Kütdiken limon çeşitinden 1 yaşında, toplam 45 adet fidan *in vitro* çalışmalarda en etkili iki ve bir adet ruhsatlı bakırlı fungusit olmak üzere 3 farklı fungusit sera denemelerinde kullanılmıştır. Her fungusit için (3 tekerrür x 4 farklı doz + 3 negatif kontrol) 15 adet fidan kullanılmıştır. Fungisit denemeleri Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’nün uygulama arazisindeki seralarında yürütülmüştür.

Fungisitler

In vitro koşullarda fungusit denemelerinde 8 farklı etkili madde grubuna ait toplam 10 adet fungusit kullanılmıştır. Fungisitlerin seçiminde *Phoma* ile aynı familya içerisinde bulunan siğir patojenik fungusların mücadelesinde en yaygın kullanılan etkili maddelere öncelik verilmiştir (Çizelge 1).

Fungisitlerin PDA Besi Ortamında Hazırlanması

100 mL’lik cam şişelerin her birine 60 mL PDA ortamı hazırlanarak 121°C, 1 atm basınçta 20 dak. otoklav edilmiştir. Öncelikle denemelerde kullanılması planlanan fungusitlerin steril su

içerisine farklı konsantrasyonlarda (0.0, 0.05, 0.01, 0.5, 0.1, 1.0, 5.0, 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 ppm) stok solüsyonları hazırlanmıştır. Her bir ticari preparatın stok solüsyonlarından ppm olarak hesaplanan fungusitler PDA ortamlarına eklenerek homojen karıştırıldıktan sonra fungusit içeren besi ortamları 9 cm'lik plastik steril petri kaplarına dökülmüştür. Her konsantrasyon için 3 petri kullanılmıştır. Steril kabin içerisinde ortamların katılaşmasını takiben *P. tracheiphila*'nın PDA ortamında, 23 ±1 °C'de geliştirilen 10 günlük saf

kültürlerinden alınan 6 mm'lik diskler fungusitli besi ortamlarına misel ortama temas edecek şekilde ters olarak petrinin ortasına yerleştirilmiştir. Fungus disklerini içeren petriler parafilm ile kapatılarak 15 litrelik şeffaf, plastik saklama kapları içerisine alınmış ve karanlıkta 23 ±1 °C iklim odasında 4 hafta inkübe edilmiştir. Bu sürede haftalık olarak petrilerde gelişen fungusların miselyal gelişimi milimetrik bir cetvel ile dik kesişen eksenlerden (x,y) ölçümler yapılmıştır.

Çizelge 1. Çalışmada Kullanılan Fungisitler ve Etkili Madde Grubu

Table 1. Fungicides and Active Ingredients Using on Study

Etkili Madde Adı ve Miktarı Active Ingredient and Amount	Etkili Madde Grubu Active Ingredient Group	Etki Mekanizması Mode of Action
Azoxystrobin (250 g/L)	Strobilurinler	a: Mitokondriyal membranda stokrom b'den sitokrom c1'e elektronların taşınmasını engellemek
Dithianon (%12) Pyraclostrobin (% 4)	Quinone, Strobilurinler	Bitkide savunma mekanizmasını uyarma+ a
Pyraclostrobin(%12.8)+ Boscalid (%25.2)	Strobilurinler, Carboximide	a + Suksinat dehidrogenaz inhibitörü (SDHI)
Cyprodinil(375g/kg)+ Fludioxonil (250g/kg)	Pyrimidine, Pyrrol	Metionin biyosentezini engelleme + Ozmotik sinyal üretiminde MAP Histidin Kinaz enzimi
Fluxapyroxad (75g/L) Difenoconazole (50 g/L)	Pyrazole-4 Carboxamide Triazololler	SDHI + b: Funguslarda sterol (ergosterol) biyosentezini engelleme
Propiconazole(150g/L)+ Difenoconazole 150g/L)	Triazololler	b
Metconazole (60g/L)	Triazololler	b
Tebuconazole (%25)	Triazololler	b
Fenbuconazole (50g/L)	Triazololler	b
Cyflufenamid(%3.4)+ Triflumizole (%15)	Phenyl acetamide + İmidazole	Hedef noktası bilinmiyor + b
Bakır Hidroksit (%35 metalik bakıra eşdeğer)	Bakırlı fungusitler	c: Enzim işlevini, enerji transferi ve membran bütünlüğünü bozma, spor çimlenmesini engelleme

In vitro Koşullarda Fungisitlerin *P. tracheiphila* İzolatları Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Çalışma, tesadüf parselleri deneme desenine göre her izolat için 3 tekerrürlü olarak kurulmuş, her petri bir tekerrür varsayılmıştır. Denemeler bir kez tekrar edilmiştir. Fungisitlerin engelleme oranları Abbott (1987), formülüne göre aşağıda belirtildiği şekilde hesaplanmıştır. Yüzde etki = (İlaçsızda koloni gelişimi - İlaçlıda koloni gelişimi) / (İlaçsızda koloni gelişimi) ×100

EC₅₀ (miselyal gelişimi %50 engelleyen doz) değerleri her izolat için SPSS (versiyon 24) istatistik yazılım programında yer alan Probit analizine tabi tutularak hesaplanmıştır. Elde edilen değerlere varyans analizi yapılarak, ortalamalar arasındaki farklar Tukey's HSD ($\alpha = 0.05$) testine göre değerlendirilmiştir.

Sera Çalışmalarında Kullanılan Fungisit Dozlarının Hazırlanması

Deneme, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü uygulama arazisinde bulunan seralarda Kütdiken limon fidanları üzerinde yürütülmüştür. Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak bir kez kurulmuş, her fidan bir tekerrür kabul edilmiştir. Sera çalışmalarında fungusit etkinliğini saptamak amacı ile *in vitro* çalışmalar sonucunda belirlenen en etkili 2 adet fungusit ve pozitif kontrol olarak ruhsatlı 1 adet bakırlı fungusit seçilmiştir. Pozitif kontrolün *in vitro* çalışmalarda etkili en düşük dozu (1 ppm) dikkate alınmış ve bu dozun 25, 50, 75 ve 100 katı olmak üzere 4 doz hazırlanarak kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak ise bitkilere sadece su uygulanmıştır.

***P. tracheiphila* Spor Süspansiyonunun Limon Fidanlarına İnokulasyonu**

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü uygulama arazisindeki seralarda bulunan ve 1 hafta önce fidanların tepe sürgünleri 20 cm kesilmiş ve 3 fungusitin 4 farklı dozu ve su kontrolü uygulanmış fidanlara patojen inokulasyonu için 2 nolu böcek iğnesi gövde kabuk dokusuna batırılarak küçük yaralar açılmış ve Pt-E10 izolatının hazırlanan spor süspansiyonu (4×10^{-6} spor ml⁻¹) bu yaralara doğru sprey ile uygulanmıştır. İnokulasyondan bir hafta önce ve inokulasyondan 2 ve 4 hafta sonra olmak üzere toplam 3 kez fungusit uygulamaları yapılmıştır (Ploetz ve ark., 2011; Twizeyimana ve ark., 2013).

***P. tracheiphila* ile İnfekteli Limon Fidanlarına Fungisitlerin Uygulanması ve Değerlendirilmesi**

Dört farklı dozda hazırlanan fungusit karışımları bir el spreyi püskürtme yöntemiyle fidanın tüm kısımlarına gelecek şekilde uygulanmış, fungusitlerin etiketlerindeki etki süresi dikkate alınarak, 15 günde bir kez olmak üzere toplamda 3 kez ilaçlama yapılmıştır (Ploetz ve ark., 2011; Twizeyimana ve ark., 2013). Denemelerin değerlendirilmesi ilk fungusit uygulamasını takip eden 45. günde yapılmıştır. Fungisit uygulamalarının değerlendirilmesinde Solel ve Spiegel-Roy (1978), ile Tusa ve ark. (2000),'nın 0-5 skalası kullanılmıştır. Elde edilen skala değerleri kullanılarak aşağıdaki Townsend-Heuberger (1943), formülü ile hastalık şiddeti hesaplanmıştır. Hastalık şiddeti (%) = $[\sum (n \times V) / (Z \times N)] \times 100$

Formülde: n=Skalada farklı hastalık derecelerine isabet eden fidan sayısı, V=Skala değeri, Z=En yüksek skala değeri, N=Değerlendirilen toplam fidan sayısıdır. Daha sonra elde edilen hastalık şiddetleri üzerine fungusitlerin yüzde etkisi, kontrole (sıfır doz) göre hesaplanmış ve böylece denemede kullanılan fungusitlerin uçkurutan hastalığına karşı etkisi belirlenmiştir. Her bir fungusitin her bir doz için 3 tekrar olmak üzere her bir tekrar toplam 3 limon fidanı (Çeşit: Kütdiken) içermiştir. Çalışma tesadüf bloklar deneme desenine göre tasarlanmış ve bir kez tekrarlanmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Fungisitlerin *in vitro* Koşullarda *P. tracheiphila*'nın Miselyal Gelişimi Üzerine Etkileri

Denemeye alınan 11 farklı fungusitin 0,01-1000 ppm arasında değişen, kontrol (0.0) ile birlikte 14 farklı konsantrasyonu PDA ortamına ilave edilmiş, her bir tek fungusit ya da fungusit kombinasyonu için doz artışına bağlı olarak patojenin miselyal gelişiminde farklı seviyelerde azalmalar olduğu gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan 11 fungusitin patojenin koloni

gelişimi üzerine etkileri genel olarak incelendiğinde, fungusit konsantrasyonları arttıkça fungal miselyal gelişimde azalma olduğu görülmüştür. Çizelge 1'de yer alan fungusit veya fungusit kombinasyonlarının her biri ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Funguslarda ergosterol biyosentezi inhibitörü olan strobilurin grubu fungusitlerden azoxystrobin etkili maddeli fungusitin 1 ppm üzerindeki dozları fungal misel gelişimi engellemeye başlamış, 250 ppm üzerindeki uygulama dozlarında ise gözle görülebilir derecede misel gelişiminde engelleme oluşturmuştur (Çizelge 2 ve 3). 1000 ppm konsantrasyonunda *P. tracheiphila*'nın miselyal gelişimini % 70.6 oranında engellemiştir (Çizelge 2 ve 3). Funguslarda ergosterol biyosentez inhibitörü strobilurin ve bitkilerde savunma mekanizmasını uyaran koruyucu etkiye sahip quinone kombinasyonu olan dithianon (% 12) + pyraclostrobin (% 4) fungusitlerin 14 farklı dozunun etkisine bakıldığında, azoxystrobinde olduğu gibi 1 ppm üzerindeki konsantrasyonlarda fungal gelişimi engellemeye başlamış, 250-1000 ppm aralığındaki konsantrasyonlarda fungal miselyal gelişimi % 61.9'dan % 72.6'ya kadar değişen oranlarda engellemiştir (Çizelge 2 ve 3). Strobilurin ve carboximide kombinasyonu olan pyraclostrobin (% 12.8) + boscalid (% 25.2) fungusit konsantrasyonlarının hepsi fungal miselyal gelişimi engellemeye başlamıştır. Ancak, gözle görülebilir düzeyde engelleme 25 ppm ve üzerindeki uygulama dozlarında gözlenmiştir. Bu fungusitlerin en yüksek uygulama dozunda (1000 ppm) miselyal gelişim %100 oranında engellenmiştir (Çizelge 2 ve 3). Funguslarda metionin biyosentezini engelleyen pirimidin ve bitkide ozmotik sinyal üretiminde MAP histidin kinaz enzimini teşvik eden koruyucu etkiye sahip pyrrol kombinasyonu olan cyprodinil (375 g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) fungusit kombinasyonu, denenen fungusitler içerisinde en etkili bulunmuş olup, 5ppm ve üzerindeki uygulama konsantrasyonlarında fungal miselyal gelişimi % 100 engellenmiştir (Çizelge 2 ve 3). Suksinat dehidrogenaz inhibitörü (SDHI) pyrazole-4 carboxamide ve triazol kombinasyonu olan fluxapyroxad (75 g L⁻¹) ve difenoconazole (50 g L⁻¹) kombinasyonunun 14 farklı dozunun etkisine bakıldığında, 0.01 ppm konsantrasyonlarda fungal gelişimi engellemeye başlamış, 100-1000 ppm aralığındaki konsantrasyonlarda fungal miselyal gelişim % 100 engellenmiştir (Çizelge 2 ve 3). İki adet triazol etkili madde grubu içeren propiconazole (150 g L⁻¹) + difenoconazole (150 g L⁻¹) kombinasyonunun 14 farklı uygulama dozunun etkisine bakıldığında, 0.01 ppm üzerindeki konsantrasyonlarda fungal miselyal gelişim engellenmeye başlanmış, 100-1000 ppm aralığındaki konsantrasyonlarda miselyal gelişim % 69.0'dan % 100'e kadar değişen aralıkta engellenmiştir (Çizelge 2 ve 3). Triazol grubu olan fenbuconazole (50 g L⁻¹) ile metconazole (60 g L⁻¹) fungusitlerin 14 farklı dozunun etkisine bakıldığında,

Çizelge 2. *In vitro* koşullarda fungusit kombinasyonlarının farklı dozlarının *P. tracheiphila* radyal miselyal gelişimine etkisi
 Table 2. The effect of different doses of fungicide combinations on *P. tracheiphila* radial mycelial growth in vitro condition

Fungisit / Aktif Madde Fungicide / Active ingredients	Uygulama Dozları (ppm) Application doses (ppm)													
	0.00	0.01	0.05	0.1	0.5	1	5	10	25	50	100	250	500	1000
Koloni Çapı (mm) Radial Growth (mm)														
Azoxystrobine (250 g L ⁻¹)	42.0 ± 0.000	42.0 ± 0.000 g	42.0 ± 0.000 e	42.0 ± 0.000 f	42.0 ± 0.000 h	40.0 ± 0.000 g	37.8 ± 0.166 g	35.0 ± 0.000 g	32.7 ± 0.166 h	30.3 ± 0.440 f	28.7 ± 0.440 h	16.5 ± 0.500 f	14.5 ± 0.288 d	12.3 ± 0.333 d
Boscalid (%25.2) + Pyraclostrobin (%12.8)	42.0 ± 0.000	37.2 ± 0.726 cd	35.0 ± 0.000 c	35.5 ± 0.288 c	33.2 ± 0.166 d	31.8 ± 0.333 d	27.8 ± 0.166 c	23.2 ± 0.166 c	20.2 ± 0.166 c	16.8 ± 0.440 c	13.2 ± 0.600 c	8.0 ± 0.000 c	6.0 ± 0.000 c	0.0 ± 0.000 a
Cyflufenamid (%3.4) + Triflumizole (%15)	42.0 ± 0.000	36.3 ± 0.333 c	33.5 ± 0.288 b	32.0 ± 0.000 b	30.0 ± 0.000 c	25.2 ± 0.440 c	20.2 ± 0.440 b	17.5 ± 0.288 b	13.3 ± 0.333 b	10.0 ± 0.000 b	8.0 ± 0.000 b	7.0 ± 0.000 b	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a
Cyprodinil (%37.5) + Fludioxonil (%25)	42.0 ± 0.000	32.0 ± 0.000 a	27.2 ± 0.440 a	24.7 ± 0.166 a	20.0 ± 0.000 a	7.7 ± 0.166 a	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a
Difenoconazole (50 g L ⁻¹) + Fluxapyroxad (75 g L ⁻¹)	42.0 ± 0.000	35.0 ± 0.000 b	33.0 ± 0.000 b	32.0 ± 0.000 b	27.7 ± 0.333 b	21.2 ± 0.166 b	19.3 ± 0.333 b	16.2 ± 0.166 b	12.0 ± 0.000 b	8.7 ± 0.666 b	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a
Difenoconazole (150 g L ⁻¹) + Propiconazole (150 g L ⁻¹)	42.0 ± 0.000	37.8 ± 0.166 de	36.8 ± 0.166 d	36.0 ± 0.000 c	33.7 ± 0.166 d	32.2 ± 0.166 d	30.0 ± 0.000 d	26.0 ± 0.000 d	22.2 ± 0.440 cd	19.2 ± 0.927 d	13.0 ± 0.000 c	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a	0.0 ± 0.000 a
Dithianon (%12) + Pyraclostrobin (%4)	42.0 ± 0.000	42.0 ± 0.000 g	41.0 ± 0.577 e	39.8 ± 0.440 e	37.7 ± 0.166 g	36.0 ± 0.000 f	33.0 ± 0.000 f	32.0 ± 0.000 f	28.0 ± 0.000 fg	24.5 ± 0.288 e	22.0 ± 0.000 f	16.0 ± 0.000 f	14.0 ± 0.000 d	11.5 ± 0.288 d
Fenbuconazole (50 g L ⁻¹)	42.0 ± 0.000	39.0 ± 0.000 ef	38.0 ± 0.000 d	38.0 ± 0.288 d	36.0 ± 0.000 f	35.0 ± 0.000 f	32.0 ± 0.000 ef	29.3 ± 0.333 e	26.0 ± 0.000 ef	21.0 ± 0.000 d	18.0 ± 0.000 e	10.0 ± 0.000 d	7.0 ± 0.000 c	0.0 ± 0.000 a
Bakır hidroksit (%35 metalik bakıra eşdeğer)	42.0 ± 0.000	42.0 ± 0.000 g	42.0 ± 0.000 e	42.0 ± 0.000 f	42.0 ± 0.000 h	40.3 ± 0.333 g	36.0 ± 1.154 g	32.3 ± 0.881 f	29.7 ± 1.333 g	28.7 ± 0.333 f	26.3 ± 0.666 g	20.3 ± 0.333 g	17.0 ± 1.000 e	9.3 ± 0.333 c
Metconazole (60 g L ⁻¹)	42.0 ± 0.000	39.0 ± 0.000 ef	38.0 ± 0.000 d	37.3 ± 0.166 d	36.0 ± 0.000 f	35.0 ± 0.000 f	30.0 ± 0.000 d	27.0 ± 0.000 d	24.0 ± 0.000 de	21.0 ± 0.000 d	17.0 ± 0.000 de	12.0 ± 0.000 e	7.0 ± 0.000 c	4.0 ± 0.000 b
Tebuconazole (%25)	42.0 ± 0.000	39.2 ± 0.166 f	37.8 ± 0.166 d	36.2 ± 0.166 c	35.0 ± 0.000 e	33.7 ± 0.440 e	31.0 ± 0.000 de	30.0 ± 0.000 e	25.0 ± 0.000 e	20.0 ± 0.000 d	16.0 ± 0.000 d	7.0 ± 0.000 b	4.0 ± 0.000 b	0.0 ± 0.000 a

Değerler her aktif bileşen için üç tekrarin ortalamasıdır (Ortalama ± Standart hata). Sütunlarda aynı harfe sahip ortalamalar, Tukey's HSD çoklu karşılaştırma testine (P=0.05) göre bir birinden farklıdır.

Çizelge 3. *In vitro* koşullarda fungusit kombinasyonlarının farklı dozlarının *P. tracheiphila* miselyal gelişimini % engelleme oranı (Ortalama ± SH).
 Table 3. Percentage of inhibition rate of *P. tracheiphila* mycelial growth of different doses of fungicide combinations in vitro condition (Mean ± Std. Err.)

Fungisit / Aktif Madde Fungicide / Active ingredients	Uygulama Dozları (ppm) Application doses (ppm)													
	0.00	0.01	0.05	0.1	0.5	1	5	10	25	50	100	250	500	1000
	Engelleme oranı (%) Inhibition rate (%)													
Azoxystrobine (250 g L ⁻¹)	0.0 ± 0.000	0.0 ± 0.000	0.0 ± 0.000	0.0 ± 0.000	0.0 ± 0.000	4.8 ± 0.000	9.9 ± 0.400	16.7 ± 0.000	22.2 ± 0.400	27.8 ± 1.058	31.7 ± 1.026	60.7 ± 1.200	65.5 ± 0.692	70.6 ± 0.800
Boscalid (%25.2) + Pyraclostrobin (%12.8)	11.5 ± 1.743	16.7 ± 0.000	15.5 ± 0.692	21.0 ± 0.400	24.2 ± 0.800	33.7 ± 0.400	44.8 ± 0.400	52.0 ± 0.400	59.9 ± 1.058	68.7 ± 1.409	81.0 ± 0.000	85.7 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000
Cyflufenamid (%3.4) + Triflumizole (%15)	13.5 ± 0.800	20.2 ± 0.692	23.8 ± 0.000	28.6 ± 0.000	40.1 ± 1.058	52.0 ± 1.058	58.3 ± 0.692	68.3 ± 0.766	76.2 ± 0.000	81.0 ± 0.000	83.3 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000
Cyprodinil (%37.5) + Fludioxonil (%25)	23.8 ± 0.000	35.3 ± 1.058	41.3 ± 0.400	52.4 ± 0.000	81.7 ± 0.366	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000
Difenoconazole (50 g L ⁻¹) + Fluxapyroxad (75 g L ⁻¹)	16.7 ± 0.000	21.4 ± 0.000	23.8 ± 0.000	34.1 ± 0.800	49.6 ± 0.400	54.0 ± 0.800	61.5 ± 0.400	71.4 ± 0.000	79.4 ± 1.600	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000
Difenoconazole (150 g L ⁻¹) + Propiconazole (150 g L ⁻¹)	9.9 ± 0.400	12.3 ± 0.400	14.3 ± 0.000	19.8 ± 0.400	23.4 ± 0.400	28.6 ± 0.000	38.1 ± 0.000	47.2 ± 1.058	54.4 ± 2.206	69.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000
Dithianon (%12) + Pyraclostrobin (%4)	0.0 ± 0.000	2.4 ± 1.385	5.2 ± 1.026	10.3 ± 0.400	14.3 ± 0.000	21.4 ± 0.000	23.8 ± 0.000	33.3 ± 0.000	41.7 ± 0.692	47.6 ± 0.000	61.9 ± 0.000	66.7 ± 0.000	72.6 ± 0.692	77.8 ± 0.692
Fenbuconazole (50 g L ⁻¹)	7.1 ± 0.000	9.5 ± 0.000	9.5 ± 0.692	14.3 ± 0.000	16.7 ± 0.000	23.8 ± 0.000	30.2 ± 0.800	38.1 ± 0.000	50.0 ± 0.000	57.1 ± 0.000	76.2 ± 0.000	83.3 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000
Bakır hidroksit (%35 metalik makıra eşdeğer)	0.0 ± 0.000	0.0 ± 0.000	0.0 ± 0.000	0.0 ± 0.000	4.0 ± 0.800	14.3 ± 2.742	23.0 ± 2.116	29.4 ± 3.166	31.7 ± 0.766	37.3 ± 1.600	51.6 ± 0.800	59.5 ± 2.400	77.8 ± 0.800	77.8 ± 0.800
Metconazole (60 g L ⁻¹)	7.1 ± 0.000	9.5 ± 0.000	11.1 ± 0.400	14.3 ± 0.000	16.7 ± 0.000	28.3 ± 0.000	35.7 ± 0.000	42.9 ± 0.000	50.0 ± 0.000	59.5 ± 0.000	71.4 ± 0.000	83.3 ± 0.000	90.5 ± 0.000	90.5 ± 0.000
Tebuconazole (%25)	6.7 ± 3.666	9.9 ± 0.400	13.9 ± 0.400	16.7 ± 0.000	19.8 ± 1.026	26.2 ± 0.000	28.6 ± 0.000	40.5 ± 0.000	52.4 ± 0.000	61.9 ± 0.000	83.3 ± 0.000	90.5 ± 0.000	100.0 ± 0.000	100.0 ± 0.000

diğer triazol gruplarında olduğu gibi 0.01 ppm konsantrasyonlarında fungal miselyal gelişimi engellemeye başlamış, 250 -1000 ppm aralığındaki konsantrasyonlarda ise engelleme etkisi sırasıyla % 76.2 – 100 ve %71.4 – 90.5 olmuştur. Metconazole miselyal gelişimi engellemede % 100 başarı sağlamamıştır. Aynı şekilde triazol grubu olan tebuconazole (% 25) fungisitinin 14 farklı dozunun etkisine bakıldığında, diğer triazol gruplarında olduğu gibi 10 ppm üzerindeki konsantrasyonlarda fungal miselyal gelişim fark edilebilir oranda engellenmeye başlamış, 500-1000 ppm aralığındaki konsantrasyonlarda ise % 100 başarı sağlamıştır.

İmidazole grubu cyflufenamid (% 3.4) + triflumizole (%15) fungisit kombinasyonunun farklı uygulama dozunun etkisine bakıldığında, 500 ppm ve üzerindeki konsantrasyonlarda fungal miselyal gelişim % 100 engellenmiştir (Çizelge 2 ve 3).

Bakırlı fungusitler grubundan olan bakır hidroksitin (%35 metalik bakıra eşdeğer) 14 farklı dozunun etkisine bakıldığında, sadece 250 ppm üzerindeki uygulama dozlarında fungal miselyal gelişimin baskılandığı görülmektedir. Bununla birlikte en yüksek uygulama dozunda (1000 ppm) miselyal gelişim % 59.52 oranında baskılanmıştır. Azoxystrobin (250 g L-1), bakır hidroksit (%35

metalik bakıra eşdeğer) ve dithianon (% 12) + pyraclostrobin (% 4) fungisit kombinasyonunun EC₅₀ değerleri incelendiğinde, azoxystrobinin (250 g L-1) EC₅₀ değerinin en yüksek (196.20 ppm) olduğu bunu, 173.30 ppm ile ruhsatlı fungisit olan bakır hidroksitin ve 103.78 ppm ile dithianon (% 12) + pyraclostrobin (% 4) fungisit kombinasyonlarının izlediği görülmektedir (Çizelge 4). Bu üç fungisit ve kombinasyonun EC₅₀ değerleri yüksek olduğundan en az etkiye sahip fungusitler olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan EC₅₀ değerleri çok daha düşük dozlarda (27.11 ve 26.79 ppm) olan metconazole (60 g L-1) ve fenbuconazole (50 g L-1)'ün *P. tracheiphila*'nın misel gelişimini engellemede istatistiksel olarak benzer etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 4). Tebuconazole yukarıda sözkonusu edilen iki fungiste göre daha etkili olduğu EC₅₀ değerinin 18.29 ppm konsantrasyonunda saptanmıştır. Cyprodinil (375 g kg-1)+ fludioxonil (250 g kg-1), EC₅₀ değeri 0.12 ppm'lik doz kullanımıyla denemede çalışılan diğer fungusitler içerisinde en etkili sonuç veren fungisit olduğu, bunu 1.23 ppm ile difenoconazole (50 g L-1) + fluxapyroxad (75 g L-1) kombinasyonunun takip ettiği ikinci en etkili fungisit kombinasyonu olduğu istatistiksel olarak da doğrulanmıştır.

Çizelge 4. *In vitro* denemelerde *P. tracheiphila*'ya karşı kullanılan fungusitlerin EC₅₀ Değerleri
Table 4. EC₅₀ Values of fungicides used against *P. tracheiphila* in *in vitro* experiments

Aktif maddeler / Fungisitler <i>Active ingredients (a.i) / Fungicides</i>	EC ₅₀ değerleri (ppm) <i>EC₅₀ value</i>
Cyprodinil (375 g kg-1) + Fludioxonil (250 g kg-1)	0.12 ± 0.001 a
Difenoconazole (50 g L-1) + Fluxapyroxad (75 g L-1)	1.23 ± 0.034 a
Cyflufenamid (% 3.4) + Triflumizole (%15)	2.37 ± 0.038 a
Difenoconazole (150 g L-1) + Propiconazole (150 g L-1)	8.97 ± 0.017 ab
Boscalid (% 25.2) + Pyraclostrobin (% 12.8)	9.58 ± 0.496 ab
Tebuconazole (% 25)	18.29 ± 0.133 bc
Fenbuconazole (50 g L-1)	26.79 ± 0.346 c
Metconazole (60 g L-1)	27.11 ± 0.086 c
Dithianon (%12) + Pyraclostrobin (% 4)	103.78 ± 2.367 d
Bakır Hidroksit (%35 metalik bakıra eşdeğer)	173.30 ± 8.294 e
Azoxystrobin (250 g L-1)	196.20 ± 2.478 f

Değerler her aktif bileşen için üç tekrarın ortalamasıdır (Ortalama ± Standart hata). Sütunlarda aynı harfe sahip ortalamalar, Tukey's HSD çoklu karşılaştırma testine göre bir birinden farklı değildir (P=0.05).

Values are mean (Mean ± Standart error) of three replicates for each active ingredient. Means with the same letter in a column are not significantly different according to Tukey's HSD multiple comparison test (P=0.05).

Fungal miselyal gelişimi baskılamada tüm uygulama dozları göz önünde bulundurulduğunda, en az etkili fungisit EC₅₀ değeri 196.20 ppm ile azoxystrobin olduğu, bunu ikinci en az etkili EC₅₀ değeri 173.30 ppm ile ruhsatlı koruyucu fungusitlerden bakır hidroksitin olduğu görülmektedir. Strobilurin grubu fungusitler tek başına kullanıldığında bu fungusun gelişimini yeterince baskılayamadığı görülmüştür. Aynı

şekilde bakır hidroksitte fungal misel gelişimini durduramamıştır. Ayrıca bakır hidroksitin çok düşük konsantrasyonlarında çok sayıda *P. tracheiphila* piknidiumları gelişmiştir (piknidium sayımları yapılmamıştır).

Fungisitlerin Sera Koşullarında *P. tracheiphila*'ya Karşı Etkisi

Cam serada 21 ± 2 °C sıcaklık ve nemli ortamda

patojen ile inokulasyonda 6 hafta sonra, fungusitlerin etkinliğini ölçmek amacı ile dallar tepeden 50 cm uzunluğunda kesilmiş ve gövde kabuk dokusu kaldırılmış ve etmenin varlığını gösteren iletim demetinde oluşan turuncu renklenmenin uzunluğu milimetrik ölçülmüştür. Limon fidanlarının gövde nekroz uzunlukları ve uygulanan fungusit dozların % engelleme oranı Çizelge 5'de ve Şekil 1'de gösterilmiştir. Çizelge 5.'de görüldüğü gibi *in vitro*

koşullarda en etkili bulunan cyprodinil (375 g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) fungusit kombinasyonunun 100 ppm dozunun uygulandığı fidanlarda nekroz uzunluğu 6 hafta içerisinde 20.3 mm tepeden aşağı doğru ilerlerken (Çizelge 5) (Şekil 2A), fluxapyroxad (75 g L⁻¹) + difenoconazole (50 g L⁻¹) kombinasyonunun 100 ppm dozunda nekroz uzunluğu 29.7 mm ile daha fazla nekroz gelişmiştir (Şekil 1B).

Çizelge 5 *P. tracheiphila* ile inoküle edilen Kütdiken limon fidanlarına 3 farklı fungusitin 4 farklı dozu uygulandıktan 6 hafta sonra limon fidanları gövdesindeki nekroz uzunlukları ve fungusitlerin % engellenme oranları

Table 5. Length of necrosis on the stem of Kütdiken lemon trees infected with *P. tracheiphila* 6 weeks after application of 4 different doses of 3 different fungicides and inhibition rate (%) of fungicides

Fungisitler /Aktif maddeler <i>Fungicides / Active ingredients</i>	Uygulama dozları (ppm) <i>Application doses (ppm)</i>				
	0	25	50	75	100
	Nekroz uzunluğu (mm) (<i>Necrosis length (mm)</i>)				
Cyprodinil (%37.5) + Fludioxonil (%25)	54.3 ± 6.984	45.3 a ± 0.333	36.0 a ± 3.055	31.0 a ± 4.509	20.3 a ± 2.603
Fluxapyroxad (75 g L ⁻¹) + Difenoconazole (50 g L ⁻¹)	54.3 ± 6.984	51.5 b ± 0.288	46.0 b ± 2.081	36.5 a ± 1.755	29.7 b ± 0.881
Bakır hidrosit (%35 metalik bakıra eşdeğer)	54.3 ± 6.984	53.3 c ± 0.333	52.5 b ± 0.763	51.3 b ± 0.881	49.0 c ± 1.000
Fungisitler /Aktif maddeler <i>Fungicides / Active ingredients</i>	Uygulama dozları (ppm) <i>Application doses (ppm)</i>				
	0	25	50	75	100
	Engelleme oranı (%) (<i>Inhibition rate (%)</i>)				
Cyprodinil (%37.5) + Fludioxonil (%25)	-	16.6 ± 0.613	33.7 ± 5.622	42.9 ± 8.299	62.6 ± 4.791
Fluxapyroxad (75 g L ⁻¹) + Difenoconazole (50 g L ⁻¹)	-	5.2 ± 0.531	15.3 ± 3.831	32.8 ± 3.231	45.3 ± 1.623
Bakır hidrosit (%35 metalik bakıra eşdeğer)	-	1.8 ± 0.613	3.3 ± 1.405	5.5 ± 1.623	9.8 ± 1.840

Değerler her aktif bileşen için üç tekrarın ortalamasıdır (Ortalama ± Standart hata). Sütunlarda aynı harfe sahip ortalamalar, Tukey's HSD çoklu karşılaştırma testine göre bir birinden farklı değildir (P=0.05).

Values are mean of three replicates for each active ingredient (Mean ± Standart error). Means with the same letter in a column are not significantly different according to Tukey's HSD multiple comparison test (P=0.05).

Diğer taraftan, ruhsatlı % 35 metalik bakıra eşdeğer bakır hidroksit uygulamasında 49 mm nekroz uzunluğu ölçülmüş olup (Şekil 1C), fungusit uygulanmamış fidanlardaki nekroz uzunluğuna (54.3 mm) yakın bir sonuç vermiştir (Şekil 1D). Bununla birlikte hiç fungusit uygulanmamış fidanların iletim demetlerinde renklenme daha koyu kahverengileşme şeklinde gelişmiştir. EC₅₀ değeri düşük ikinci en etkili fungusit kombinasyonu (75 g L⁻¹ fluxapyroxad + 50 g L⁻¹ difenoconazole)'nun en yüksek dozunun, 100 ppm uygulandığı fidanlarda nekroz uzunluğu ise 29.7 mm olarak ölçülmüştür (Çizelge 5; Şekil 1B).

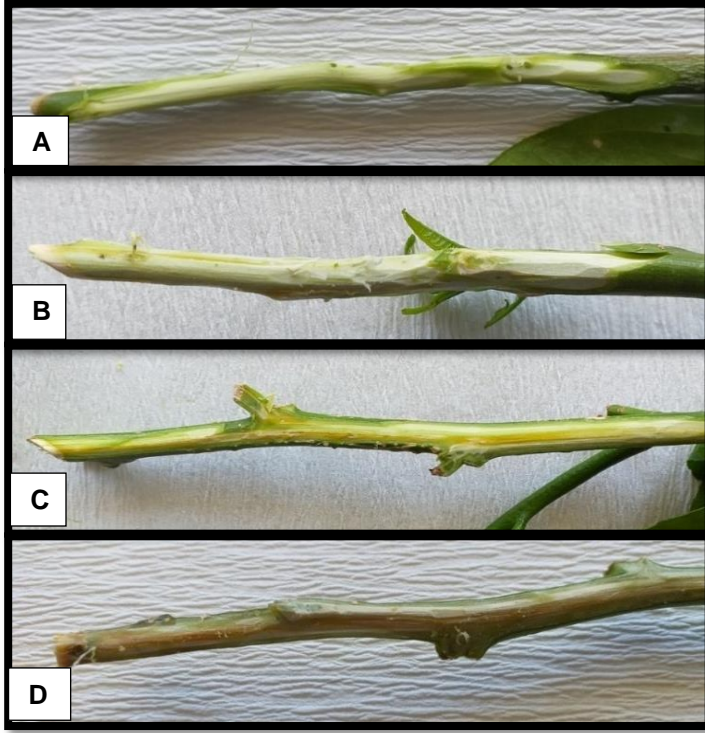
Bakır hidroksit (%35 metalik bakıra eşdeğer)'in en yüksek dozunun uygulandığı fidanlarda nekroz uzunluğu ise 49 mm (Çizelge 5; Şekil 1C.) olup, hiç fungusit uygulanmamış pozitif kontroldeki 54.3 mm nekroz uzunluğu (Çizelge 5; Şekil 1D) ile en yakın olmuştur. Sera koşullarında fungusit uygulama sonuçlarına bakıldığında, *in vitro* koşullarında elde edilen radyal misel gelişim engellenme oranlarına göre fungusitlerin etkileri daha az düzeyde olmuştur. Bu durum, patojenin trakeomikoz etmen olduğu için bitki yüzeyine uygulanan lokal sistemik fungusitlerin

sadece uygulanan yerde etkisi gösterip bitki içerisinde iletim demetleri ile yukarıya doğru hareket etmediğini göstermektedir. Sistemik etkili fungusitlerin hastalığı engelleme yüzdelere bakıldığında doğal olarak en düşük nekrozun geliştiği fungusit kombinasyonu uygulaması % etki bakımından en etkili olarak saptanmıştır. Buna göre cyprodinil (375g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) kombinasyonunun 100 ppm dozu fungusu % 62.6 oranında engellemiştir (Çizelge 5). Bunu sırasıyla fluxapyroxad (75 g L⁻¹) + difenoconazole (50 g L⁻¹) fungusit kombinasyonu % 45.3 ile bakır hidroksit(%35 metalik bakıra eşdeğer) ise %9.8 engelleme oranı ile takip etmiştir. Fungisitlerin normal dozları uygulandığında ise hastalık engelleme oranları sırasıyla % 33.7, % 15.3 ve % 3.3 olarak saptanmıştır. Fungal gelişimi baskılamada hiçbir fungusist % 100 etkili olamamıştır.

Sera koşullarda fungusit uygulama sonuçlarına göre, cyprodinil (375g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) etkili maddelerin en düşük dozu (25 ppm) uçkurutan hastalık gelişimini % 16.6 oranında engellerken en yüksek dozu (100 ppm) % 62.6 oranında engelleyici

etki göstermiştir. Farklı etkili maddeli fungusitlerde uygulama dozları arasında istatistiksel olarak farklar tespit edilmiştir. Genel değerlendirme yapıldığında

ise bu azaltıcı etkinin artan dozlarla alakalı olduğu açıklanabilir (Çizelge 4).



Şekil 1. *P. tracheiphila* spor süspansiyonu ile inoküle edilmiş Kütdiken limon fidanlarında fungusitlerin 100 ppm dozlarının etkisi (A: cyprodinil (375 g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹), (B: fluxapyroxad (75 g L⁻¹) + difenoconazole (50 g L⁻¹), (C: bakır hidroksit (%35 metalik bakıra eşdeğer)) ve (D: fungusit uygulanmamış)

Şekil 1. Effect of 100 ppm doses of fungicides on Kütdiken lemon seedling inoculated with *Phoma tracheiphila* spore suspension (A: cyprodinil (375 g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹), (B: fluxapyroxad (75 g L⁻¹) + difenoconazole (50 g L⁻¹), (C: copper hydroxide (%35 equivalent to metallic copper) ve (D: no fungicide applied)

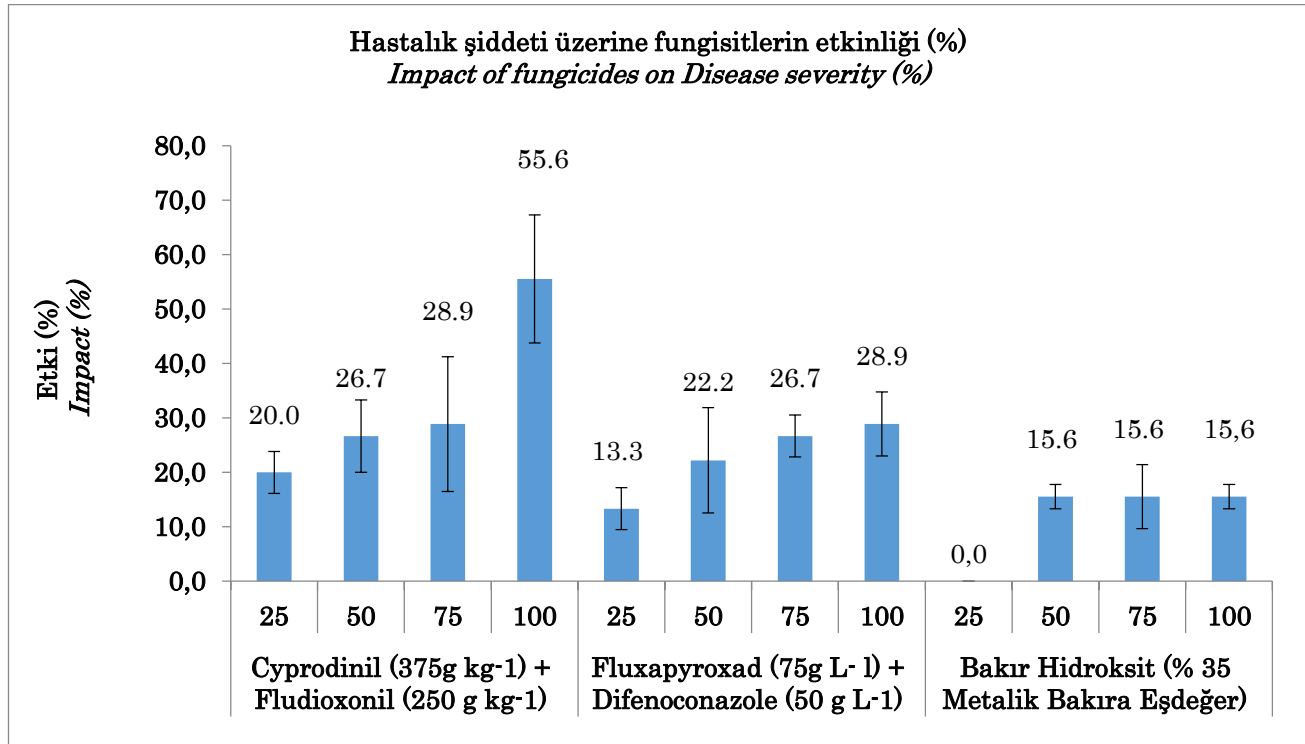
Sera şartlarında uygulanan fungusitlerin dozları arttırıldıkça hastalık şiddetinde azalmaya neden olmuştur (Şekil 2). Bu durum bakır hidroksitin en yüksek dozu ile diğer fungusit kombinasyonların en yüksek dozları (100 ppm) karşılaştırıldığında cyprodinil (375g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) kombinasyonunda hastalık şiddeti % 13, fluxapyroxad (75 g L⁻¹) + difenoconazole (50 g L⁻¹) kombinasyonunda % 20 ve bakır hidroksit (% 35 metalik bakıra eşdeğer) uygulamasında ise % 40 seviyesinde gerçekleşmiştir.

Fungisitlerin farklı dozlarının fidanlar üzerinde belli seviyelerde hastalık şiddeti oluşturmuştur. Buna göre; cyprodinil (375 g kg⁻¹) + fludioxonil (250 g kg⁻¹) fungusitinin en düşük dozu % 20.0 ve en yüksek dozu % 55.6 seviyesinde hastalık şiddeti üzerine etki gösterirken, fluxapyroxad (75g L⁻¹) + difenoconazole (50 g L⁻¹) % 40 ve % 26 şiddetinde, ruhsatlı bakır hidroksit (% 35 metalik bakıra eşdeğer) ise % 13.3 ve % 28.9 arasında en hastalık şiddeti üzerine etki göstermiştir.

Sistemik fungusitlerin dünyada kullanılmaya başlaması ile mal secco (MSD), Uçkurutan hastalığına karşı Elia (1969), turunç fidanlarını *P. tracheiphila* ile yapay inokule ederek hastalandırılmış ve benomyl uygulaması ile fidanlarda hastalık gelişimini ve simptom oluşumunu engellediğini rapor etmiştir. Perrotta ve ark., (1970) thiabendazole ve vitavax'ı *in vitro* ve *in vivo* denemelerde turunç fidanlarında kullanmışlar ve Elia (1969), ile benzer sonuçları almışlardır. Bu araştırmalarda benomylin etkisini hem *in vitro* hem de açık alan fidan denemeleri ile doğrulamışlardır. Salerno ve Somma (1971), fungusit absorpsiyonunun kökler, yapraklar ve korteks yoluyla gerçekleştiğini, bitki dokularında translokasyonun apoplast yoluyla gerçekleştiğini ve fungusitin tacın üst kısımlarında ve yaprakların uç kenarlarında biriktiğini bildirmişlerdir. Uçkurutan ile mücadelede benomyl veya methyl-thiophanate sistemik fungusitlerin 5 ay boyunca toprak ve yeşil aksam ilaçlaması olarak kullanılması gerektiğinden, fungusit bitki vejetatif kısımlarında, yaprakta ve meyvede en üst seviyede birikmekte, diğer taraftan

patojenin lokalize olduğu ksilem iletim demetinde hiç birikmemekte, kabuk dokusunda ise yok denecek

kadar çok düşük miktarda birikmektedir (Somma ve ark., 1978).



Şekil 2. Sera koşullarında *P. tracheiphila* ile yapay olarak inoküle edilen Kütdiken limon fidanlarına uygulanan 3 farklı fungisit kombinasyonunun farklı dozlarının hastalık şiddetine % etkisi. Dikey çizgiler standart hatayı gösterir.

Figure 2. The effect of different doses of three different fungicide combinations on diseases severity of Kütdiken lemon seedling inoculated with *P. tracheiphila* in greenhouse condition. Vertical lines represent the standard errors of the means.

Sistemik fungisitlerden benzimidazol grubu thiabendazole limon gövdelerine injekte edildiğinde uygulama yerinden 175 cm'lik mesafeye dağılmış, benomyl ise kışın 300 cm, yazın ise 150 cm injeksiyon noktasında yukarıya çıkmış ve patojen gelişimini durdurmuştur (Solel ve ark., 1977). Türkiye'de, Dinç ve ark., (1981) ise benomyl'i ekim, aralık ve mart aylarında yeşil aksam ilaçlaması olarak kullandıklarında *P. tracheiphila*'yı baskıladığını kabuklu bit olması durumunda bu fungusite % 1.5 beyaz yağ ilave ederek uygulanmasını önermişlerdir. Ancak, bu fungisitlerin uzun süreli kullanımları dallarda dikenlerin açtığı yaralardan yeni infeksiyonların olması durumunda hastalığı kontrol edememiştir. Diğer taraftan sistemik fungisitlerin uzun süreli kullanımının daha dayanıklı ırkların gelişmesine neden olduğu bildirilmiştir (Gimenez-Verdu ve Luisi, 1978). Nitekim benomyl'in kullanımı Türkiye'de uçkurutan ile mücadelede kullanımı 2011 yılında yasaklanmıştır (Anomim, 2011).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sera koşullarında fungisit uygulamalarının patojenin bitkide gelişimini tamamen baskılamadığını, ancak

patojenin iletim demetlerinde ilerlemesini yavaşlattığını göstermiştir. Bu durumda limon üreticilerinin temmuz ve ağustos aylarında ağaçlarda temiz budama ve koruyucu fungisitlerle entegre mücadele programı ve bunların arasına biyolojik preparatları da girdirerek toprak yapısını iyileştirme ve bitkinin savunma mekanizmasını teşvik edici uygulamalarla mücadele programlarının desteklenmesi önerilmektedir (Nigro ve ark., 2011; Özdemir, 2019). Bu patojene karşı sistemik fungisitler önerilmediği için limon ağaçlarında faydalı endofit mikroorganizmaların da saptanması, saflaştırılması ve diğer faydalı mikroorganizmalarla kombine edilerek uçkurutan ile mücadeleye dahil edilmesi sağlanmalıdır (Kalai-Grami ve ark., 2014). En önemlisi hastalığa karşı dayanıklı limon çeşit ıslah programları üzerinde sürdürülebilir çalışmaların başlatılması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından FYL2018/10390 Nolu Yüksek Lisans Tez Projesi olarak desteklenmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Abbott WS 1987. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of the American Mosquito Control Association*, (3)2: 302-303
- Anonim 2011. [https://www.tarimorman.gov.tr/Konu/934/Yasaklanan Bitki Koruma Urunleri Aktif Madde Listesi](https://www.tarimorman.gov.tr/Konu/934/Yasaklanan%20Bitki%20Koruma%20Urunleri%20Aktif%20Madde%20Listesi)
- Anonim 2020. Türkiye Limon Üretimi, 2020. <https://www.tuik.gov.tr/> (Alınma tarihi: 29.05.2021)
- Anonim 2014. Scientific opinion on pest categorisation of *Plenodomus tracheiphilus* (petri) Gruyter, Avskamp & Verkley [syn. *Phoma tracheiphila* (Petri) L.A. Kantschaveli & Gikashvili]. EFSA Panel on Plant Health (PLH). European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, 34 pages
- Anonim 2019. Dünya Turunçgil Üretimi, 2019. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Alınma Tarihi: 29.05.2021)
- Coco V, Grimaldi V, Licciardello G, Cirvilleri G, Grasso S, Catara A 2004. Inhibition of *Phoma tracheiphila* by *Pseudomonas* in citrus seedling. *Proceedings of the 8th. International Citrus Congress, Agadir, Morocco: 729-732*
- de Gruyter J, Woudenberg JHC, Aveskamp MM, Verkley GJM, Groenewald JZ, Crous PW 2013. Redisposition of Phoma-like anamorphs in Pleosporales. *Studies in Mycology*, 75:1-36
- Dinç N, Turan K, Salih H 1981. Akdeniz bölgesi limonlarında görülen Uçkurutan hastalığı [*Deuterophoma tracheiphila* (Petri) Kane. et Ghik.]'nin savaş yöntemleri üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 21(2): 89-99
- Elia 1969. Brevi note preliminari su tentativi di lotta endoterapica del mal secco degli Agrumi. *Informatore Fitopatologico* 19(8): 403-404
- Gimenez-Verdu I, Luisi N 1978. Saggio di attivita di due fungicidi sistemici verso il "mal secco" degli Agrumi, *Atti Giornate Fitopatologiche* 1978. Catania-acireale Italy: 407-415
- Kalai-Grami L, Saidi S, Bachkouel S, Slimene IB, Mnari-Hattab M, Hajlaoui MR, Limam F 2014. Isolation and characterization of putative endophytic bacteria antagonistic to *Phoma tracheiphila* and *Verticillium albo-atrum*. *Appl. Biochem Biotechnol*, 174: 365-375.
- Kantschaveli LA, Gikashvili KG 1948. Materials for the study of "mal secco" or dying up of lemon trees in SSR. *Trudy Nauchno-Issledovatel's kogo. Instituta Zashchity Rastenii Gruzinskoi SSR*, 5:1-43
- Klotz LJ 1954. Mal Secco disease of Citrus.; *Citrus leaves*, January 1954
- Migheli Q, Cacciola SO, Balmas V, Pane A, Ezra D, Magnano di San Lio G 2009. Mal secco disease caused by *Phoma tracheiphila*: a potential threat to lemon production worldwide. *Plant Disease*, 93: 852-867
- Navarro N, Pina JA, Juarez J, Ballester-Olmos JF, Duran-Villa N, Guerri J, Moreno P, Ortega C, Navarro A, Arregui JM, Cambra M, Zaragoza S 2002. The Spanish varietal certification system. *Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias*, Valencia, Spain
- Nigro F, Ippolito A, Salerno MG 2011. Mal secco disease of citrus: a journey through a century of research. *Journal of Plant Pathology*, 93(3): 523-560
- Özdemir KS 2019. Limon ağaçlarında uçkurutan hastalığı'na (*Phoma tracheiphila* kanc. & ghik.) karşı mikorizal funguslar ve dayanıklılık teşvik edicilerin etkinliğinin belirlenmesi Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora tezi, 90 sy
- Petri L 1929. Sulla posizione sistematica del fungo parassita delle piante di limone affette da "mal secco" (in Italian). *Bolletino della Stazione di Patologia Vegetale*, 9: 393-396
- Ploetz RC, Perez-Martinez JM, Evans EA, Inch SA 2011. Towards fungicidal management of laurel wilt of avocado. *Plant Disease*, 95 (8): 977-982
- Salerno M, Cutuli G 1981. The management of fungal and bacterial diseases of citrus in Italy. *Proceeding of the 4th International Citrus Congress*, November 1981 Tokyo, Japan. The international Society of Citriculture, Vol I, Ed. Matsumoto K 1: 360-362
- Salerno M, Somma V 1971. Observatione on the systemic nature of benomyl in sour orange seedlings and results of trials against citrus Mal secco. *Phytoph. Mediterranea*, 10 (1): 99-106 (Rev. App. Pathology 50 (12): 674
- Solel Z, Pinkas Y, Shabi E 1977. Internal therapy of mal secco of lemon by pressure infection of fungicides. *Netherland J. Plant Pathology*, 83 (1): 383-391
- Solel Z, Spiegel-Roy P 1978. Methodology of selection of lemon clones for tolerans to mal secco (*Phoma tracheiphila*) *Phytoparasitica*, (6)3: 129-134
- Somma V, Cutuli G, Li Destri Nicosia O, Solerno M 1978. Accumulation e persistenza del benomyl e del metil-tiofanate in organi vegetativi e frutti di piante di limone trattate alla chioma. *Atti Giornate Fitopatologiche* 1978, Catania Acireale, Italy:51-57
- Tusa N, Bosco SF, Nigro F, Ippolito A 2000. Response

of cybrids and somatic hybrid of lemon to *Phoma tracheiphila* infections. *HortScience*, (35)1: 125-127
Townsend GR. Heuberger JW 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *The Plant Disease Reporter*, 27: 340-343

Twizeyimana T, McDonald V, Mayarquin JS, Wang DH, Na F, Akgül DS, Eskalen A 2013. Effect of fungicide application on the management of avocado branch canker (formerly *Dothiorella* canker) in California. *Plant Disease*, 97 (7): 897-902.

Investigation of the Biocontrol Effectiveness of Some Bacterial Strains on Eggplant Gray Mold Disease (*Botrytis cinerea*) in in vitro and in vivo conditions

Alican AKÇA¹, Elif TOZLU^{2*}

^{1,2} Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Atatürk University, Erzurum, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-0553-3482>, ²<https://orcid.org/0000-0002-0016-9696>

✉: elifalpertozlu@atauni.edu.tr

ABSTRACT

Gray mold agent *Botrytis cinerea* (teleomorph: *Botryotinia fuckliana* (de Barry) Whetzel) causes significant yield losses in many economically important vegetables. Chemicals are used in the control to reduce yield loss. As a result of the intensive use of chemicals in the control of plant diseases, human health and the environment are adversely affected. Therefore, interest in environmentally friendly control practices has increased recently. One such application is the use of beneficial bacteria in the biological control of diseases. In this study; biocontrol potentials of 12 bioagent bacteria strains (1 *Bacillus cereus*, 2 *Bacillus megaterium*, 2 *Bacillus pumilus*, 2 *Bacillus subtilis*, 1 *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, 1 *Paenibacillus polymyxa*, 2 *Pantoea agglomerans* and 1 *Pseudomonas fluorescens*) have been determined against gray mold disease agent *B. cinerea* on eggplant *in vitro* and *in vivo*. *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurofaciens* and *Bacillus amyloliquefaciens*, which were the most efficient strains found *in vitro* conditions, were also effective against *B. cinerea* *in vivo*. In conclusion, it was determined that two most effective bacterial strains could be used as a biocontrol agent in the biological control of *B. cinerea* in eggplant growing.

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 18.06.2021
Accepted : 14.10.2021

Keywords

Bacteria
Biological control
Botrytis cinerea
Gray mold
Eggplant

Patlıcanda Kurşuni Küf Hastalığı (*Botrytis cinerea*) Üzerine Bazı Bakteriyel İzolatların *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Biyolojik Mücadele Etkinliklerinin Araştırılması

ÖZET

Kurşuni küf etmeni *Botrytis cinerea* (teleomorph: *Botryotinia fuckliana* (de Barry) Whetzel) ekonomik öneme sahip birçok sebze önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Verim kaybını azaltmak için mücadelede kimyasallar kullanılmaktadır. Kimyasalların bitki hastalıkları mücadelesinde yoğun şekilde kullanılması sonucu, insan sağlığı ve çevre olumsuz etkilenmektedir. Bundan dolayı son zamanlarda çevre dostu mücadele uygulamalarına ilgi giderek artmıştır. Bu uygulamalardan birisi de faydalı bakterilerin hastalıkların biyolojik mücadelesinde kullanılmasıdır. Bu çalışmada; 12 biyoajan bakteri izolatının (1 *Bacillus cereus*, 2 *Bacillus megaterium*, 2 *Bacillus pumilus*, 2 *Bacillus subtilis*, 1 *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, 1 *Paenibacillus polymyxa*, 2 *Pantoea agglomerans* ve 1 *Pseudomonas fluorescens*) patlıcanda kurşuni küf hastalığına neden olan *B. cinerea* üzerine etkisi *in vitro* ve *in vivo* şartlarda belirlenmeye çalışılmıştır. *In vitro* şartlarda en etkili izolatlardan olan *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aureofaciens* ve *Bacillus amyloliquefaciens*'in *B. cinerea*'ya karşı *in vivo* şartlarda da etkili olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak; en etkili bulunan 2 bakteri izolatının patlıcan yetiştiriciliğinde *B. cinerea*'nın biyolojik mücadelesinde biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Makale Konusu

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 18.06.2021
Kabul Tarihi : 14.10.2021

Anahtar Kelimeler

Bakteri
Biyolojik mücadele
Botrytis cinerea
Kurşuni küf
Patlıcan

Atıf İçin: Akça A, Tozlu E 2022. Patlıcanda Kurşuni Küf Hastalığı (*Botrytis cinerea*) Üzerine Bazı Bakteriye İzolatların *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Biyolojik Mücadele Etkinliklerinin Araştırılması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1098-1108. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.953977>

INTRODUCTION

Botrytis cinerea is one of the most common studied fungal pathogens, causing gray mold rot in more than 500 plant species (Williamson et al., 2007). This pathogen has adverse effects on a variety of economically important crops and is classified as the important plant fungal pathogen (Dean et al., 2012). The annual economic losses of *B. cinerea* easily exceed \$ 10 billion worldwide (Weiberg et al., 2013). Jiang and Liu (2015) stated that gray mold (*Botrytis*) is a common fungal disease in eggplants, reducing the production by 20-30%.

B. cinerea has a wide host range, various attack modes, and both sexual and asexual stages to survive in suitable or unsuitable conditions (Fillinger and Elad, 2016). Conidia (asexual spores) of *B. cinerea* are easily spread by wind or water (Brandhoff et al., 2017). To date, the primary means of controlling gray mold has remained as the application of synthetic fungicides, which may account for about 8 percent of the entire global fungicide market, with annual global expenditures on *Botrytis* control often exceeding € 1 billion (Dean et al., 2012). However, the controlling effects of fungicides on *B. cinerea*, whose plastic and prone to develop chemical resistance genes, are unsatisfactory (Droby et al., 2009; Kanetis et al., 2017). Even though the utilization of chemicals seems to be simple and successful in the short-term control against the pathogen, it should not be disregarded that the fungus develops resistance against chemicals in a short time and sporulation rapidly occurs, in addition to its permanent negative effects on human and environmental health. For this reason, it is necessary to either develop an alternative control method to chemical control or to perform applications that would enhance the effectiveness of this control method. Today, with the increase of environmental awareness, an increase in studies regarding putting forth the negative effects of chemicals used in the control against pathogens and the use of environmentally friendly preparations in controlling diseases is observed (Aşkın and Katırcıoğlu, 2008; Soyulu et al., 2010; Laslo and Mara, 2019). The fact that some of these environmentally friendly methods have been made into preparations and have been started to be used in many countries over the years is the best proof that studies on biological controlling have been fruitful (Uygun et al., 2010). In recent years, the use of plant growth promoting bacteria (PGPB) strains for both microbial fertilization and biological control has increased (Ji et al., 2006). Bacterial antagonists represent an important biocontrol option against diseases caused by *B. cinerea* due to their rapid development and the diversity of antifungal and

defense elicitor compounds they produce (Haidar et al., 2016).

In this study, it was aimed to develop environmentally friendly bioagents that can be alternative to chemicals in the control against gray mold and do not threaten the health of humans and other organisms.

MATERIAL and METHOD

Material

Plant material, pathogenic fungus isolate and potential biogenic bacteria strains

Eggplant stems and fruit samples that were demonstrating gray mold symptom were collected during survey studies conducted in greenhouses in Serik District of Antalya. *B. cinerea* ET 33 isolate was obtained as a result of isolations from diseased samples. Also, eggplant variety (cv. Berceste F1) was used as the test plant. 12 bacteria strains were selected as bioagents from the bacterial strains tested against bacterial and fungal plant pathogens and pests in previous studies from the Microorganism Culture Collection at Atatürk University, Faculty of Agriculture, Plant Protection Department (Table 1).

Methods

Isolation of fungal disease agent

Surface disinfection was applied to the samples brought from the field in the laboratory. After, they were placed in petri dishes containing Potato Dextrose Agar (PDA) and left for incubation at 20-25 °C. Pure cultures were obtained by taking hyphal discs in a diameter of 4 mm from the tip of colonies that were developed within 7-8 days, and transferring them to petri dishes containing PDA. These isolates were then transferred to the test tubes containing PDA, and were preserved at +4 °C for the later stages of the study.

Pathogenicity test of fungal disease agent

Eggplant seedlings were planted in the soil that was prepared with the mixture of organic matter-rich peat and perlite in equal volume, and were kept in the plant growth cabinet at 24 °C for 12-hour dark and 12-hour light cycles. After the eggplant seedlings reached the period of 3-5 leaves, 30 µl sterile water was given to their stems via wounds opened 5 cm above the soil with the help of a micropipette, and then micellar discs of 4 mm diameter, which were taken from the fungal culture developed for 7-8 days, were placed in these wounds. For controls, sterile water was similarly given to the inflicted wounds, followed by the inoculation of sterile PDA discs. The treated plants were kept in wet polyethylene bags for 24 hours to obtain high humidity at 25°C temperature.

Table 1. Identification, hypersensitivity, nitrogen fixation, phosphate solubility and pathogenicity test results of bacterial bioagent strains used in this study.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan biyoajan bakteri strainlerinin tanısı, aşırı duyarlılık testi, azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğü ve patojenite testi sonuçları

<i>Bacterial strains</i>	<i>Isolated from</i>	<i>MIS Results</i>	<i>S*</i>	<i>ITS results</i>	<i>Accessed number**</i>	<i>I (%)</i>	<i>N</i>	<i>P</i>	<i>HR</i>	<i>Reference</i>
TV-87A	Sugar beet	<i>Bacillus megaterium</i>	0.467	<i>Bacillus amyloliquafaciens</i>	MN507862	95	+	-	-	Erman et al., 2010
RK-79	Apple	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.762	-	-		+	+		Gökçe and Kotan, 2016
TV-67C	Raspberry	<i>Bacillus pumilus</i>	0.630	-	-		-	-	-	Erman et al., 2010
TV-17C	Raspberry	<i>Bacillus subtilis</i>	0.677	-	-		+	+		Çakmakçı et al., 2010
TV-6F	Wheat	<i>Bacillus subtilis</i>	0.831	-	-		+	-		Çakmakçı et al., 2010
FDG-37	Soil	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.222	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aureofaciens</i>	NR114473	98.7	+	+	-	Karagöz et al., 2016
RK-92	Pear	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.889	-	-		+	+	-	Gökçe and Kotan, 2016
TV-91C	Wheat	<i>Bacillus megaterium</i>	0.474	-	-		+	+	-	Çığ et al., 2014
TV-12E	Wheat	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0.551	-	-		+	+	-	Erman et al., 2010
BAB-410	<i>Ricania simulans</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	0.620	-	-		*	*	-	Göktürk et al., 2018
TV-125A	Sahlep	<i>Bacillus cereus</i>	0.297	-	-		*	*	-	Çığ et al., 2014
FD-9	<i>Bemisia tabaci</i>	<i>Bacillus pumilus</i>	0.620	-	-		*	*	-	In this study

S:** Similarity index, *** GenBank, **I:** Identification, **N:** Nitrogen fixation, **P:** Phosphate solubility, **+**: Positive reaction, **-:** Negative reaction, **HR:** Hypersensitivity test

The seedlings were taken from the moisture chamber one day after the inoculation. Fourteen days after the inoculation, the isolates were recovered through the re-isolation from the parts demonstrating disease symptoms, and thus Koch postulates were completed.

Molecular identification of fungal disease agent

Morphological diagnosis of ET 33 isolate developed in PDA was made and molecular identification was made using the ITS1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG 3') and ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990). After the obtained sequence data were combined with the BioEdit program, they were compared with the species found in the GenBank via the program BLASTN + and sequence data entry was performed (Table 1).

Identification of bacterial strain FD-9 by microbial identification system (MIS) and hypersensitivity test

Fatty acid methyl esters of the FD-9 strain was analyzed according to the standard protocol of the Microbial Identification (= MIS, MIDI, Inc., Newark, DE) system (Paisley, 1995). These tests were repeated 3 times, and the highest diagnostic result in terms of percentage was considered as the definitive result.

The bacterial strain FD-9 was tested for hypersensitivity on tobacco plants (*Nicotina tabacum* L. var. Samsun) as described before (Klement, 1968).

Determination of *in vitro* antagonistic activities of bacterial strains

For this purpose, a disc of 4 mm diameter was taken from 5 days old active growing fungal culture and was placed in the middle of the petri dishes containing PDA. Putative antagonist bacterial strains, were drawn on the edge of the petri with a swab, and were left for incubation in the dark at 25 °C. As a control, only pathogenic fungus with PDA was cultivated. Measurements were made when the petri dishes completely covered the fungal mycelium agar surface in the control petri dish (Tozlu et al., 2018). The inhibition percentage of the fungal colony growth by bacterial bio control agent was calculated via the utilization of the radial growth inhibition percentage formula described by Wang et al. (2012).

$$\text{Inhibition (\%)} = (C - T) \times 100 / (C - 6)$$

C: the diameter of the mycelial growth in control petri plates

6: the diameter of pathogen disk

T: the diameter of mycelial growth in treated petri plates

In the study, 3 petri plates were used per bacterial isolate.

In vivo tests

To test the effectiveness of 5 bacterial strains, which were found effective *in vitro* conditions against pathogen, a pot experiment with eggplant seedlings was established in the climate chamber with 3 repetitions. Bioagent bacterial strains were streaked on Nutrient Agar (NA), incubated at 28°C for 48 hours, then were reinoculated into Nutrient Broth (NB) incubated at 28°C for 24 hour furthers. Bacterial cell was centrifuged and its concentration was adjusted to 10⁸ cfu/ mL 30 µl of the suspension prepared from bioagent bacteria was given to the wounded part inflicted on the stem of the eggplant seedlings with the help of a micropipette. And then, the mycelium disc taken from the tip of the pathogen fungus, which was developed in PDA, was placed in the suspension-applied wound, and the stem was wrapped with parafilm. The study was carried out in 3 repetitions. The following 0-4 scale was used in the evaluation.

- 0: No leaf lesion
- 1: 5% of leaf area infected
- 2: 25% of leaf area infected
- 3: 50% of leaf area infected
- 4: 75% or more of leaf area

The scale values obtained from *in vivo* test results were converted to percent disease severity with the help of the disease severity (DS) formula (Viriyasuthee et al., 2019). Disease severity (DS) was calculated as follows:

$$\text{DS (\%)} = \sum (S \times L) \times 100 / (M \times S_{\max})$$

DS= disease severity

S: rating score

L: number of plant in rating

M: total number of sampled plants

S_{max}: highest rating

Molecular diagnosis of the most effective antagonist bacterial strains

Molecular characterization of the most effective strains TV-87A and FDG-37 was realized through targeting the 16Sr region.

Genomic DNA of bacterial strains were extracted from bacterial suspension of strains using the genomic DNA Purification Kit (QIAGEN) according to the manufacturer's instructions. Amplicons for the 16S rDNA sequences were generated using universal primers 27F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) and 907R (CCGTCAATTCMTTTRAGTTT) using published reaction conditions (Chandler et al., 2011). After the obtained sequence data were combined with the BioEdit program, they were compared with the species found in the GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) (Zhang et al., 2000) via the program BLASTN +, and sequence data entry was performed (Table 1).

Statistical Analysis

Analysis of variance was applied to the values regarding the obtained *in vitro* test results, and the differences between the averages were compared with the LSMeans Differences Student's test at a significance level of $P < 0.01$. Data analysis was made via the utilization of JMP IN (SAS Institute, Cary, NC, %0 PC version) statistics software.

RESULTS and DISCUSSION

Following molecular diagnosis of ET 33 isolate fungal disease agent was identified as *Botrytis cinerea* with

99% similarity to those available in GenBank.

According to the results of analysis of variance in the study, the difference between applications was found to be statistically significant (mycelial growth F: 7.8012; $P < 0.01$ and inhibition of mycelial growth F: 7.8008; $P < 0.01$). Differences between groups were also determined using the LSMeans Differences Student's test. The percentage inhibition rate results of bacterial strains whose antifungal effects were tested under *in vitro* conditions against the ET 33 isolate of *B. cinerea* are presented in Table 2.

Table 2. Antifungal activities of the bacterial strains against *Botrytis cinerea* ET 33 isolate in *in vitro* condition.
Çizelge 2. *In vitro* şartlarda *Botrytis cinerea*'nın ET 33 izolatına karşı biyoajan bakteri strainlerinin antifungal aktivitesi.

Bacterial strains	Mycelial Growth(mm)	Inhibition of Mycelial Growth(%)
<i>Bacillus pumilus</i> FD-9	34.2 A	65.23 A
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aureofaciens</i> FDG-37	34.2 A	65.23 A
<i>Bacillus subtilis</i> TV-6F	36.7 A	62.14 A
<i>Bacillus amyloliquafaciens</i> TV-87A	37.5 A	61.11 A
<i>Bacillus pumilus</i> TV-67C	39.0 A	59.26 A
<i>Bacillus subtilis</i> TV-17C	47.3 AB	48.97 AB
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> BAB-410	58.3 BC	35.39 BC
<i>Bacillus megaterium</i> TV-91C	58.8 BC	34.77 BC
<i>Pantoea agglomerans</i> RK-92	68.3 CD	23.05 CD
<i>Pantoea agglomerans</i> RK-79	69.3 CDE	21.81 CDE
<i>Bacillus cereus</i> TV-125A	70.2 CDE	20.78 CDE
<i>Paenibacillus polymyxa</i> TV-12E	83.8 DE	3.91 DE
Control (<i>Botrytis cinerea</i>)	87.0 E	0.00 E
	CV 19.55	34.88
	LSD 1.83	22.68

*Mean values given in the same column followed by the same letter are not significantly different according to the LSD Means Student's test ($P < 0.01$).

In the bacterial strains tested in the *in vitro* experiments, while the bacterial strains FD-9 and FDG-37, which have the highest efficacy, inhibited the development of pathogenic fungus by 65.23%, the TV-12E strain, which has the lowest efficacy, took place in the same group with the control with a 3.91% inhibition rate (Table 2, Fig 1).

The effectiveness of the bacterial strains of TV-87A, FDG-37, TV-6F, TV-67C and FD-9, which are highly effective under *in vitro* conditions, were further tested under *in vivo* conditions in pot trials, and their symptoms were assessed (Table 3).

In the conducted study, no symptoms were encountered neither in the controls where only NB and only bioagent applications were performed, nor in the eggplant plants in pots where TV-87A bacterial strain and ET 33 fungal isolate were applied together, and statistically these applications were included in the same group (Table 3). These applications were followed by pots in which bacterial strains FDG-37 (5.88%), TV-6F (82.50%), TV-67C (85.83%) and FD-9

(87.50%) were applied together with the pathogen. The most severe symptoms were detected in pots (93.33%) where disease agent ET 33 was applied alone or applied together with bacterial strains TV-6F and TV-67C (Table 3). Pot assay of bacterial strains tested in *in vivo* conditions is presented in Fig 2.

Molecular diagnosis was performed from pure cultures of 2 bacterial biocontrol agents that showed the highest inhibitory effect in both *in vitro* and *in vivo* tests. FDG-37 and TV-87A were identified as *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aureofaciens* (similarity: %98.7; accession number: NR114473) and *Bacillus amyloliquafaciens* (similarity: %95; accession number: MN507862) respectively.

Due to the inadequacy of cultural measures alone and the damage caused by the unconscious use of pesticides to the environment, studies all over the world have turned to alternative methods that can be utilized in the control against different plant pathogens. Among these methods, biological control also has an important place.

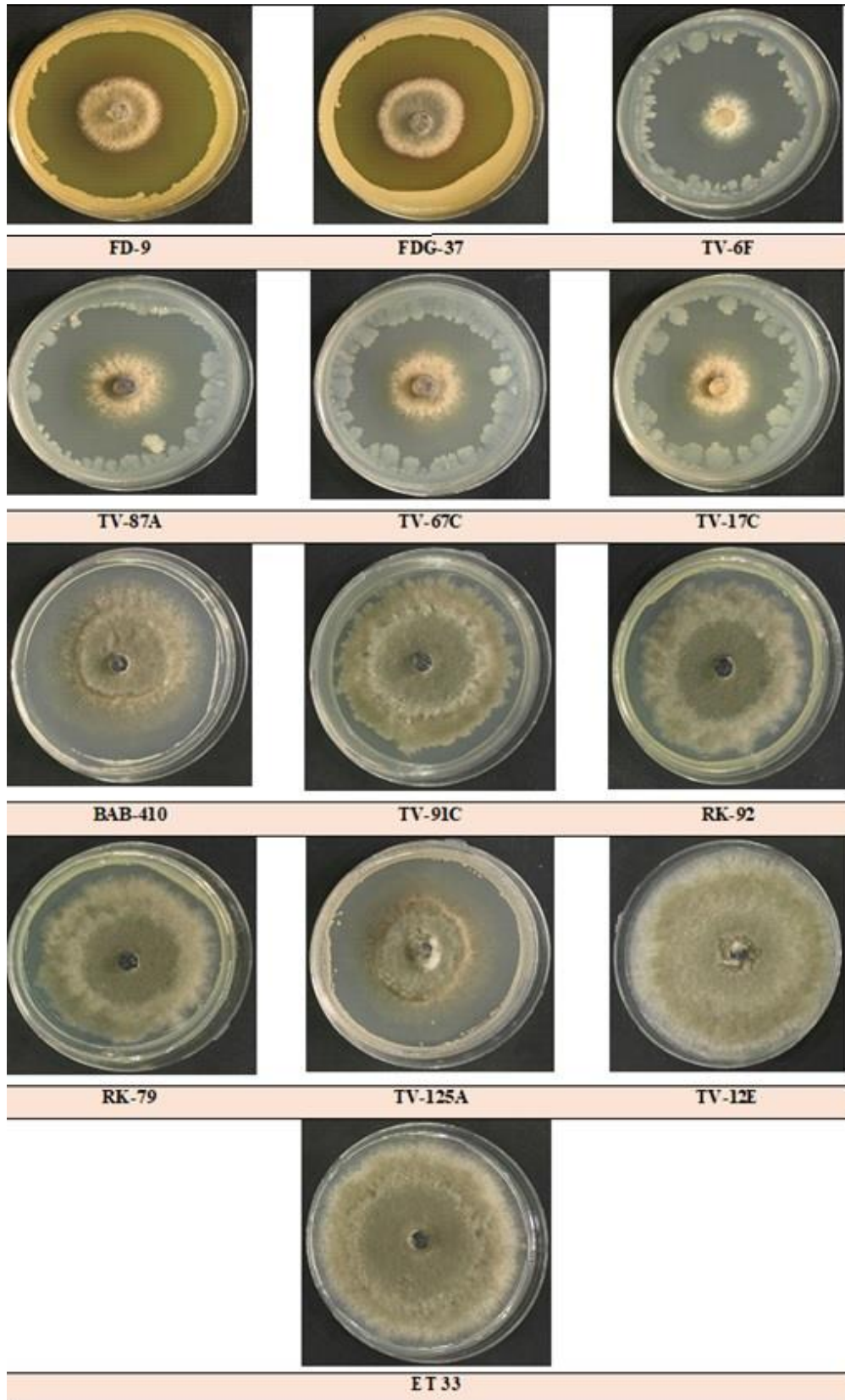


Figure 1. Antifungal activities of the bacterial strains against *Botrytis cinerea* ET 33 isolate in in vitro condition.
Şekil 1. *In vitro* şartlarda *Botrytis cinerea*'nın ET 33 izolatına karşı biyoajan bakteri strainlerinin antifungal aktivitesi.



Figure 2. The most effective biocontrol bacterial strains against *Botrytis cinerea* ET 33 isolate in in vitro and in vivo condition (Control 1: Only pathogen, Control 2: Only biocontrol agent, Control 3: Only NB).

Şekil 2. *In vitro* ve *in vivo* şartlarda *Botrytis cinerea*'nın ET 33 izolatına karşı en etkili biyoajan bakteri strainleri (Kontrol 1: Sadece patojen, Kontrol 2: Sadece biyoajan bakteri, Kontrol 3: Sadece NB).

Table 3. Antifungal effect of tested bacterial strains against *Botrytis cinerea* ET 33 isolate in in vivo conditions.

Çizelge 3. In vivo şartlarda *Botrytis cinerea*'nın ET 33 izolatına karşı biyoajan bakteri strainlerinin antifungal aktivitesi.

Treatment	DS (%)*	
Control 2	TV-87A	0.00 A
	TV-67C	0.00 A
	FDG-37	0.00 A
	TV-6F	0.00 A
	FD-9	0.00 A
Control 3 (Only NB)		0.00 A
TV-87A+ET 33	0.00 A	
FDG-37+ET 33	5.88 A	
TV-6F+ET 33	82.50 B	
TV-67C+ET 33	85.83 BC	
FD-9+ET 33	87.50 BC	
Control 1 (Only pathogen)		93.33 C
		CV 19.29
		LSD 9.66

*DS: Disease severity. Mean values in the same column by the same letter are not significantly different to the LSMeans Student's test ($P < 0.01$).

The *Bacillus* species are most frequently used biocontrol agents in biological control studies. The antimicrobial compound(s) produced by *Bacillus* spp. can be formulated in a cheap, stable, and effective manner revealed that these organisms can be used safely in modern agriculture (Göğüsgeren and Çolak, 2009). In addition, the fact that *Bacillus* species form spores can be found in almost all types of soils, and endophytically colonized plants has led them to be widely used as bioagents (Tiwari et al., 2014). As with many plant pathogens, studies were conducted where species belonging to the *Bacillus* genus were used in the biological control against *B. cinerea* and successful results were obtained. Recently, Aktan and Soyly (2020) also reported that PGPB isolates of *Pseudomonas* spp and *Enterobacter cloacae* were found highly effective for siderophore production, *S. marcescens* for solubilisation of phosphorus, *E. cloacae* for IAA production, *Bacillus* spp for ammonia production. Overall their results suggest that use of the most efficient PGPB isolates have an excellent potential to be used as biofertiliser for cultivation of economically important crops.

In a study a total of 163 bacterial strains isolated from tomato leaves were evaluated for their ability to suppress gray mold on tomatoes, and 4 strains were found to reduce the incidence of *B. cinerea* (Yıldız et al., 2007). In another study on tomato, where the effectiveness of 2 strains belonging to the *Bacillus* genus was determined in both laboratory and greenhouse conditions against the *B. cinerea*, it was reported that both strains reduced the disease severity by 67% and 66%, respectively (Sheng et al., 2016). In very recent study, antifungal activities of several putative bacterial biocontrol agent (BCA) isolates, which were obtained from commercial vermicompost,

were investigated against soilborne fungal disease agents *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae* in vitro. According to their results, 28 bacterial isolates (49.12% of total isolates) were inhibited mycelial growth of *S. sclerotiorum* by 1.72- 75.43%, *M. phaseolina* by 1.67-65.83%, *B. cinerea* by 3.44-57.18%, and *V. dahliae* by 2.28-58.74%, respectively (Soyly et al., 2020). In a study conducted on strawberries, 186 bacterial strains were tested against the gray mold disease agent, and it was determined that 36 of tested isolates suppressed the development of *B. cinerea*, and that among the *Bacillus* species, *B. lentimorbus*, *B. megaterium*, *B. pumilis*, *B. subtilis* were the most effective species (Dönmez et al., 2011). In another study, it was reported that *Xanthomonas maltophilia*, *B. pumilis*, *Lactobacillus* sp., *Pseudomonas* sp., and *Gliocladium catenulatum* strains (Elad et al., 1994) reduced the *B. cinerea* sporulation, whereas *Paecilomyces lilacinus*, *Bacillus firmus*, and *Actinomyces* sp. reduced the severity of infection (Yıldız, 1990).

Çiftçi and Altınok (2019) found *Pseudomonas aeruginosa* as the most successful isolate against *B. cinerea* in pot experiments with a yield rate of 58.1% compared to the positive control containing only pathogen inoculum on eggplant seeds.

Toral et al. (2020) evaluated the potential use of XT1 as a plant growth promoter and biocontrol agent against *B. cinerea*, the results of this study revealed the importance of jasmonic acid (JA) and ethylene hormones.

TV-6F strain of *B. subtilis*, was previously tested under in vitro conditions and was found to suppress disease development successfully in the previous studies such as in red cabbage against *S. sclerotiorum* (76.46%)

(Tozlu et al., 2016), in raspberry against *B. cinerea* (95.24%) (Tekiner et al., 2018), in cucumber (77.61%), strawberry (77.11%) (Tozlu et al., 2018) and in quince (77.61%) against *Alternaria alternata* (Tekiner et al., 2019), in citrus fruits against *Penicillium digitatum* (69%) (Mohammadi et al., 2017) and in tomato against *Alternaria solani* (69%) (Çamlıca and Tozlu, 2019). In this study, the TV-6F strain inhibited the mycelial growth of *B. cinerea*, *in vitro* conditions by 62.14%. TV-87A strain of *B. megaterium*, whose effectiveness was tested in this study similarly, was tested against *A. alternata*, which was isolated from cucumber and strawberry in a previous study, and was found to inhibit the development of the pathogen at the rates of 77.61% and 77.11% respectively (Tozlu et al., 2018).

It was reported in another study that the TV-87A strain of *B. megaterium* was also effective under the control of *Bipolaris sorokiniana*, which causes wheat root rot, and caused significant increases in plant growth parameters (Gökçe and Kotan, 2016). This strain, which also inhibited the development of *B. cinerea* at the rate of 61.11% *in vitro* in this study, completely stopped the pathogen development in eggplant plants under *in vivo* conditions.

Similarly, the TV-67C strain of *B. pumilus* was tested against *A. alternata*, which was isolated from cucumber and strawberry, and was found effective at the rates of 87.63% and 65.89%, respectively (Tozlu et al., 2018). In addition, Çamlıca and Tozlu (2019) detected that TV-67C strain prevented the development of *A. solani* in tomato under *in vitro* conditions at the rate of 69%.

In several studies, some fluorescent *Pseudomonas* species asserted disease control in lettuce and tomato plants under greenhouse conditions (Lee et al., 2006). Walker et al. (2001) detected that strain of *Pseudomonas antimicrobica* prevented the conidial germination of *B. cinerea*. It was determined that FDG-37 strain of *P. fluorescens* prevented the development of *Geotrichum candidum*, which causes bitter rot disease in carrots, under *in vitro condition* at the rate of 26.85% (Tozlu, 2016), and prevented the development of *B. sorokiniana*, causing root rot in wheat, at the rate of 66.39% (Gökçe and Kotan, 2016). In this study, on the other hand, the same isolate was effective at a rate of 65.23% against the *B. cinerea*, which was isolated from eggplant.

CONCLUSION

In this study, antagonistic bacterial strains belonging to *Bacillus* (8), *Pantoea* (2), *Paenibacillus* (1), and *Pseudomonas* (1) genus were tested against *B. cinerea* ET 33 isolate under *in vitro* and *in vivo* conditions. Results indicated that antagonist bacterial strains *P. chlororaphis* subsp. *aureofaciens* FDG-37 and *B. amyloliquafaciens* TV-87A were effective against *B. cinerea*. Microbial formulations consisting of these

bacteria have direct potential for the control of *B. cinerea*. In future, further studies are being planned to prepare a commercial preparation after making a good carrier consisting of organic material with long shelf life for the most effective bacterial strain.

ACKNOWLEDGEMENT

We would like to thanks Prof. Dr. Recep KOTAN for bacterial strains.

Author Contribution Rates

The authors declare that they contribute equally to the article.

Conflict of interest/Competing interests

The authors declare that there is no conflict of interests.

REFERENCES

- Aktan ZC, Soylu S 2020. Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu. KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi, 23 (2): 641-654.
- Aşkın A, Katircioğlu YZ 2008. Determination of pathogenicity of the precipitating damping off disease in tomato seedlings in the provinces of Ayaş, Beypazarı and Nallıhan in Ankara. Plant Protection Bulletin, 48(2): 49-59 (in Turkish).
- Brandhoff B, Simon A, Dornieden A, Schumacher J 2017. Regulation of conidiation in *Botrytis cinerea* involves the light-responsive transcriptional regulators *bclt3* and *bcreg1*. Current Genetics, 63: 931-949.
- Chandler JA, Lang JM, Bhatnagar S, Eisen JA, Kopp A 2011. Bacterial communities of diverse *Drosophila* species: Ecological Context of a Host-microbe Model System. Plos Genetics 7:e1002272.
- Çakmakçı R, Erman M, Kotan R, Çığ F, Karagöz K, Sezen M 2010. Growth promotion and yield enhancement of sugar beet and wheat by application of plant growth promotion rhizobacteria. International Conference on Organic Agriculture in Scope of Environmental Problems, 03-07 February 2010, Famagusta, Cyprus Island, 198-202.
- Çamlıca E, Tozlu E 2019. Biological Control of *Alternaria solani* in tomato. Fresenius Environmental Bulletin, 28(10): 7092-7100.
- Çığ F, Sönmez F, Karagöz K, Erman M, Çakmakçı R, Kotan R, Amak Z 2014. Investigation of the impacts of nitrogen fixing and phosphate dissolving bacteria isolated in Lake Van Basin on the development of Kirik Wheat within the context of sustainable agriculture. International Congress on Green Infrastructure and Sustainable Societies/Cities, 8-

- 10 May 2014, Izmir, Turkey, p: 205.
- Çiftçi G, Altınok HH 2019. Effects of plant growth promoting rhizobacteria treatments of eggplant seeds against grey mold (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) disease. KSU J Agric Nat, 22(3): 421-429.
- Dean R, van Kan JAL, Pretorius ZA, Kosack KEH, Pietro AD, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology, 13: 414-430.
- Dönmez MF, Esitken A, Yıldız H, Ercişli S 2011. Biocontrol of *B. cinerea* on strawberry fruit by plant growth promoting bacteria. The Journal of Animal & Plant Sciences, 21(4): 758-763.
- Droby S, Wisniewski M, Macarisin D, Wilson C 2009. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? Postharvest Biology and Technology, 52: 137-145.
- Elad Y, Kohl J, Fokkema NJ 1994. Control of infection and sporulation of *B. cinerea* on bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi. European Journal of Pathology, 100(5): 315336.
- Erman M, Kotan R, Çakmakçı R, Çığ F, Karagöz K, Sezen M 2010. Effect of nitrogen fixing and phosphate-solubilizing *Rhizobacteria* isolated from Van Lake basin on the growth and quality properties in wheat and sugar beet. Turkey IV. Organic Farming Symposium, 28 June-1 July 2010, p: 325-329, Erzurum, Turkey.
- Fillinger S, Elad Y 2016. Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0>.
- Gögüsgeren N, Çolak Ö 2012. Determination strains of *Bacillus* spp. which produces an effective antibiotic against *Trichoderma* spp. and investigation of the opportunity to be in situ of these strains at micelle culture of *Ganoderma lucidum*. Çukurova University Journal of the Faculty of Engineering, 27(3): 165-164.
- Gökçe AY, Kotan R 2016. Investigation of biological control possibilities of wheat root rot disease caused by *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) using PGPR and bio-control bacteria in controlled condition. Plant Protection Bulletin, 56(1): 49-75.
- Göktürk T, Tozlu E, Kotan R 2018. Prospects of entomopathogenic bacteria and fungi for biological control of *Ricania simulans* (Walker 1851) (Hemiptera: Ricaniidae). Pakistan J. Zool., 50(1): 75-82.
- Haidar R, Fermaud M, Calvo-Garrido C, Roudet J, Deschamps A 2016. Modes of action for biological control of *Botrytis cinerea* by antagonistic bacteria. Phytopathologia Mediterranea, 55(3): 301-322.
- Ji H, Ramsey MR, Hayes DN, Fan C, McNamara K, Kozłowski P, Torrice C, Wu M, Shimamura T, Perera SA 2006. Structure, expression, and functional analysis of the hexokinase gene family in rice (*Oryza sativa* L.). Planta, 224(3): 598-611.
- Jiang Z, Liu X 2015. Early visualization detection of gray mold (*Botrytis*) on eggplant leaves based on multi-spectral image. Applied Mechanics and Materials, 741: 323-327.
- Kanetis L, Christodoulou S, Iacovides T 2017. Fungicide resistance profile and genetic structure of *Botrytis cinerea* from greenhouse crops in Cyprus. European Journal of Plant Pathology, 147: 527-540.
- Karagöz K, Kotan R, Dadasoglu F, Dadaşoğlu E 2016. Identification and characterisation of potential biofertilizer bacterial strains. 1st International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences (ICANAS), 21-23 April, Antalya, Turkey.
- Klement Z 1968. Pathogenicity factors in regard to relationships of phytopathogenic bacteria. Phytopathology, 58: 1218-1222.
- Laslo E, Mara G 2019. Is PGPR an Alternative for NPK Fertilizers in Sustainable Agriculture? Chapter 51-63pp. Microbial Interventions in Agriculture and Environment (Editors: Dhananjaya Pratap Singh Vijai Kumar Gupta and Ratna Prabha), Springer, 596p.
- Lee JP, Lee SW, Kim CS, Son JH, Song JH, Lee KY, Kim HJ, Jung SJ, Moon BJ 2006. Evaluation of formulations of *Bacillus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *B. cinerea*. Biological Control, 37(3): 329-337.
- Mohammadi P, Tozlu E, Kotan R, Kotan Senol M 2017. Potential of some bacteria for biological control of post harvest citrus green mould caused by *Penicillium digitatum*. Plant Protect Sci., 53(3): 134-143.
- Paisley R 1995. MIS Whole Cell Fatty Acid Analysis by Gas Chromatography. MIDI, Inc., Newark DE 5.
- Sheng JX, Duck HP, Kim JY, Byung Sup K 2016. Biological control of gray mold and growth promotion of tomato using *Bacillus* spp. isolated from soil. Trop. Plant Pathol., 41: 169-176.
- Soylu EM, Kurt Ş, Soylu S 2010. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. International Journal of Food Microbiology 143:183-189.
- Soylu EM, Soylu S, Kara M, Kurt Ş 2020. Determinations of *in vitro* Antagonistic Effects of Microbiomes Isolated from Vermicompost Against Major Plant Fungal Disease Agents of Vegetables. KSU J. Agric Nat 23(1): 7-18.
- Tekiner N, Tozlu E, Kotan R, Dadaşoğlu F 2018. Biological Control of *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* with Bioagent Bacteria and Fungi Under *In vitro* Conditions. Fresenius Environmental Bulletin, 29(1): 640-649.
- Tekiner N, Kotan R, Tozlu E, Dadaşoğlu F 2019. Determination of Some Biological Control Agents Against *Alternaria* Fruit Rot in Quince. Alinteri J. of Agr. Sci., 34(1): 25-31.

- Tiwari K, Thakur HK 2014. Diversity and molecular characterization of dominant *Bacillus amyloliquefaciens* (JNU-001) endophytic bacterial strains isolated from native Neem varieties of Sanganer region of Rajasthan. *Journal of Biodiversity, Bioprospecting and Development*, 1(1): 1-15.
- Toral L, Rodríguez M, Béjar V, Sampedro I 2020. Crop Protection against *Botrytis cinerea* by rhizosphere biological control agent *Bacillus velezensis* XT1. *Microorganisms*, 8(7): 992.
- Tozlu E 2016. Biological Control of Carrot Sour Rot (*Geotrichum candidum* Link) by Some Bacterial Biocontrol Agents. *Atatürk University Journal of Agricultural Faculty*, 47(1): 1-9.
- Tozlu E, Tekiner N, Kotan R, Örtücü S 2018. Investigation on The Biological Control of *Alternaria alternata*. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 88(8): 1241-1247.
- Tozlu E, Mohammadi P, Kotan Şenol M, Nadaroglu H, Kotan R 2016. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, the causal agent of white mould disease in red cabbage, by some bacteria. *Plant Protection Science*, 52(3): 188-198.
- Uygun N, Ulusoy MR, Satar S 2010. Biological control. *Turkish Journal of Biological Control* 1(1): 1-14.
- Walker R, Innes CMJ, Allan EJ 2001. The potential biocontrol agent *Pseudomonas antimicrobica* inhibits germination of conidia and outgrowth of *Botrytis cinerea*. *Letters in Applied Microbiology*, 32: 346-348.
- Wang H, Yan Y, Wang J, Zhang H, Qi W 2012. Production and characterization of antifungal compounds produced by *Lactobacillus plantarum* IMAU10014. *PLoS ONE* 7(1): e29452. doi:10.1371/journal.pone.0029452
- Weiberg A, Wang W, Lin FM, Zhao H, Zhang Z, Kaloshian I, Huang HD, Jin H 2013. Fungal small rnas suppress plant immunity by hijacking host RNA interference pathways. *Science (New York, N.Y.)*, 342: 11-123.
- White TJ, Brauns T, Lee S, Taylor J 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M.A. INNIS, D.H. GELFAND, J.J. SNINSKY, T.J. WHITE, eds. *PCR Protocols. A guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, 315-322.
- Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, van Kan JA 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8: 561-580.
- Viriyasuthee V, Saepaisan S, Saksirirat W, Gleason ML, Chen RS, Jogloy S 2019. Effective plant ages for screening for field resistance to alternaria leaf spot (caused by *Alternaria* spp.) under natural infection in jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Agronomy*, 9:754. doi:10.3390/agronomy9110754.
- Yıldız F 1990. Investigations on biological control of *Botrytis cinerea* Pers. on the greenhouse grown vegetable crops. Ege University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, PhD Thesis, Izmir. 84 p. (in Turkish).
- Yıldız F, Yıldız M, Delen N, Coşkuntuna A, Kınay P, Türküsay H 2007. The effects of biological and chemical treatment on gray mold disease in tomatoes grown under greenhouse conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31(5): 319-325.
- Zhang Y, Bell A, Perlman PS, Leibowitz MJ 2000. Pentamidine inhibits mitochondrial intron splicing and translation in *Saccharomyces cerevisiae*. *RNA*. 6(7): 937-51.

Determination of Irrigation Lengths in Vertisol Soils Using the Two-Point Infiltration Method and Kostiakov-Lewis Equation

Barış BAHÇECİ^{1*}

¹Çukurova University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Structures of Irrigation, Adana, Türkiye

^h<https://orcid.org/0000-0002-9693-0653>

✉: baris_bahceci@hotmail.com

ABSTRACT

Vertisol soils, which cover large lands in irrigated areas in Turkey and the world, swell when wet and form deep cracks when dry. These properties of Vertisol soils cause a significant decrease in irrigation efficiency when irrigating with surface irrigation methods, thus causing water insufficiency and drainage problems. If appropriate irrigation time, flow rate and furrow-border lengths are used, water application efficiency can be increased in these soils. For this purpose, two-point infiltration tests were carried out using 120 m long, 0.5-0.6% slopping furrows. A constant water level orifice was used to keep the flow rate unchanged during the tests. Water advanced and recession times were observed and recorded at stations created at 20 m intervals. Before and after the test, the cross-sectional area of the furrow was measured with a rill-meter. By evaluating the obtained data, the Kostiakov-Lewis infiltration equation, which is expressed as $Z = 0.00822 \tau^{0.27695} + 0.00048 \tau$ equation, was obtained. With the determined equation, the optimal irrigation length was estimated to be approximately 85 m for 90% water application efficiency and 115 m for 80% water application efficiency, using the advance and recession curves.

Biosystems Engineering

Research Article

Article History

Received : 31.01.2021

Accepted : 19.10.2021

Keywords

Harran Plain
Infiltration Methods
Surface Irrigation
Orifice

İki Nokta İnfiltrasyon Yöntemi ve Kostiakov-Lewis Denklemi Kullanılarak Vertisol Topraklarda Sulama Uzunluklarının Belirlenmesi

ÖZET

Türkiye ve Dünya'da sulanan alanlarda geniş arazileri kaplayan vertisol topraklar, ıslakken şişer ve kurduğunda derin çatlaklar oluştururlar. Vertisol toprakların bu özellikleri, yüzey sulama ile sulanırken sulama randımanının önemli ölçüde düşmesine, dolayısıyla su yetersizliğine ve drenaj sorunlarına neden olur. Uygun sulama süresi, debi ve karık-border uzunlukları kullanılırsa, bu topraklarda su uygulama randımanları artabilir. Bu amaçla 120 m uzunluğunda, %0.5-0.6 eğimli karıklar kullanılarak iki nokta yöntemi ile infiltrasyon testleri yapılmıştır. Test süresince akış debisinin değişmemesi için sabit su seviyeli orifis kullanılmıştır. Su ilerleme ve çekilme süreleri 20 m aralıklarla oluşturulan istasyonlarda gözlenerek kaydedilmiştir. Test öncesinde ve sonrasında rillmetre ile karık kesit alanı ölçülmüştür. Elde edilen verilerin değerlendirilmesiyle, $Z = 0.00822 \tau^{0.27695} + 0.00048 \tau$ eşitliği ile ifade edilen Kostiakov-Lewis infiltrasyon eşitliği elde edilmiştir. Belirlenen eşitlik ile, ilerleme ve çekilme eğrileri kullanılarak, %90 su uygulama randımanı için en uygun sulama uzunluğu yaklaşık 85 m ve %80 su uygulama randımanı için 115 m olarak tahmin edilmiştir.

Biyosistem Mühendisliği

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 31.01.2021

Kabul Tarihi : 19.10.2021

Anahtar Kelimeler

Harran Ovası
İnfiltrasyon Yöntemleri
Yüzey Sulama
Orifis

To Cite: Bahçeci B 2022. Determination of Irrigation Lengths in Vertisol Soils Using the Two Point Infiltration Method and Kostiakov-Lewis Equation. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1109-1118. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.946063>

Atıf Şekli: Bahçeci B 2022. İki Nokta İnfiltrasyon Yöntemi ve Kostiakov-Lewis Denklemi Kullanılarak Vertisol Topraklarda Sulama Uzunluklarının Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg. 25 (5): 1109-1118. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.946063>

INTRODUCTION

Infiltration is one of the basic components of the hydrological cycle and is a highly complex process affected by many factors. The rate of infiltration, advanced and recession, which determine important aspects such as surface flow and deeper infiltration in-furrow and border methods. Advance and recession time in clogged border methods; a very important criteria that affects the maximum permissible application rate in rain and drop methods (Kanber, 1997).

Infiltration rate measurement methods could be listed as cylinder infiltrometer, sprinkler, ponding, blocked furrow, input-output flow measurement, and two-point method.

Numerous equations have been developed to explain the phenomenon of infiltration. These equations can be divided into three groups: physically-based equations, semi-empirical models, and empirical models (Turner 2006). Physically based equations are based on mass conservation and Darcy's laws. These approaches use data obtained from soil water properties and do not require measuring the infiltration. Green-Ampt Model, Philip Model, Smith and Parlange Model (Skaggs and Khaleel 1982; Rawls et al. 1993). While the semi-empirical models were obtained to explain the experimental results. They are based on simple forms of the continuity equation and simple hypotheses that give a coherent infiltration rate. Horton, Holtan, Overton and Singh and Yu models are considered within the infiltration group (Rawls et al 1993). Empirical models have been derived from data obtained from field or laboratory experiments. Empirical models have a tendency to be less affected by assumptions about soil surface and profile properties, but are more restrictive if calibrated, so calibration parameters are determined based on real field measurements (Skaggs and Khaleel 1982, Hillel 1998). The mentioned models are the most used equations in the world. Kostiakov Models, modified by Huggins and Monke Models, are widely used in irrigation engineering (Kanber 1997).

As the swollen clayey soils dry, there are large cracks with significant effect on the infiltration. The frequency and intensity of drying of the soil profile and the increase in the number of wetting / drying cycles help to form cracks (Hulugalle et al. 2001). Vertisol soils are dominated by smectite clay minerals, which swell while wetting, shrinking and forming deep cracks (Probert et al 1987). The formation of large cracks and slits during the irrigation season in Vertisol soil causes considerable water losses, irrigation efficiency is falling and various problems arise. Depending on the formation of cracks, the infiltration parameters also have been changing with time.

After the estimation and calibration of infiltration parameters in furrow irrigation, a large number of studies have been carried out in order to optimize the irrigation criteria.

Application efficiency in undeveloped surface irrigation systems varies between 45 and 60%. With careful management and water control, reuse of tailwater, this value can be increased up to 70-85% (Ley 1978). It is stated that the efficiency of water application in a good irrigation network should not be less than 50-60% (Güngör et al. 1996; Bautista and Wallender 1993; Kanber 1997). Esfandiari and Maheshwari (1996) showed that furrow irrigation in Australia caused excessive water accumulation, surface flow losses, and salinity problems due to poor planning and management. For optimum water management in surface irrigation, detailed infiltration characteristics of the field to be planned should be known. Evaluation of field-based infiltration is very difficult due to terrestrial and temporal changes in soil physical properties, initial moisture content and management differences (Bautista and Wallender 1993). The two-point method is a simple, compact and relatively accurate inverse function widely used to estimate the parameters of the Kostiakov-Lewis function. However, the applicability of the method is limited to inclined free-draining furrows (Zerihun et al. 2004). The performance of the Kostiakov, Philip, and Horton (exponential equation) models showed that when compared with the Kostiakov-Lewis model results, the Kostiakov-Lewis model gave the best correlation between cumulative infiltration and time (Zhang et al. 2012).

Increasing irrigation efficiencies in vertisol soils covering large areas in our country depends on well-made infiltration tests at a significantly level. The reliability of the results obtained from spatially small footprint infiltration tests is quite low. If the test sites are vertisols and have deep cracks and crevices, their reliability is much reduced. However, it is difficult to repeat infiltration tests covering large areas. In addition, as the test area expands, soils variation increases and the uniformity disappears.

Taking into account the above explanations, and using infiltration data obtained at the end of the test study, we estimated the optimal irrigation lengths in vertisol soils irrigated by surface irrigation methods, in order to reduce the percolation losses and increase the irrigation efficiency in Harran plain.

MATERIAL and METHODS

The tests were carried out on the Harran Seri soil, which is widespread in the Southeastern Anatolian Region. For this purpose, the GAP Agricultural Research Institute land located on the 34th km of

Şanlıurfa-Akçakale road was used as a test site (Figure 1).

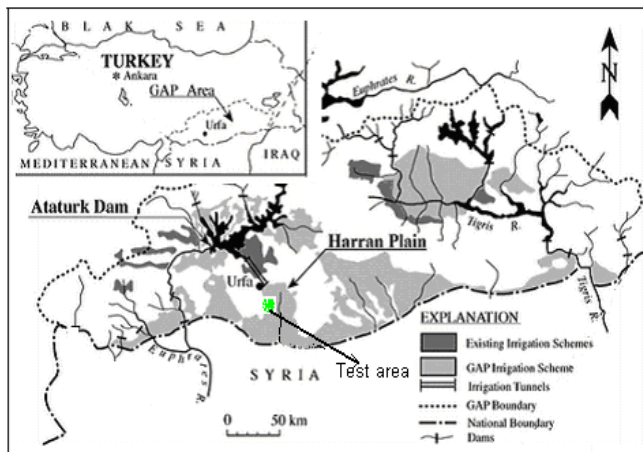


Figure 1. Geographic location of test area
 Şekil 1. Test alanının coğrafi konumu

Climate Characteristics

The Harran Plain is under the influence of the Mediterranean and the continental climate characteristics of the South Eastern Anatolia Region. The summers are hot and dry, the winters are cold and rainy. The temperature difference between night and day is high.

The Soil Properties of Test Site

The study was carried out on the Harran series soil showing vertisol characteristics. The study area has alluvial material, flat and deep soils. The soils are generally heavily textured the studied area has a fairly flat topography and the average slope (s) is 0.65% (USDA-SCS, 1998). There is chlorite, illite, kaolinite, and quartz minerals in the Harran series soils along with smectite and palygorskite, the dominant clay minerals (Çakmaklı 2008). Some physical and chemical properties of the working-site soils are shown in Table 1.

Table 1. Some physical and chemical properties of the test site soil
 Çizelge 1. Test sahası toprağının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Depth cm	pH	ECe dS m ⁻¹	Texture			BD g cm ⁻³	FC %	PWP %	AW mm	RAW mm	Lime (%)	Organic matter (%)	
			Sand%	Clay%	Silty%								
0 - 30	7.72	0.969	23.2	53.8	23.0	C	1.25	33.44	21.64	4.43	2.66	31.10	1.54
30 - 60	7.77	0.874	25.2	53.8	21.0	C	1.30	32.34	21.99	4.04	2.42	25.40	1.32
60 - 90	7.74	0.961	25.1	52.8	22.0	C	1.35	34.38	22.75	4.71	2.83	24.30	
0-90										13.17	7.90		

pH, soil reaction; FC, Field capacity; PWP, permanent wilting point; AW, available water; BD bulk density; RAW readily available water

Two Point Infiltration Method

The methodology for the evaluation of alternate and continuous furrows was taken from the works of Walker and Skogerboe (1987), Walker (1989). The Kostikov-Lewis infiltration equation has been used for obtaining infiltration parameters of soil with the Two-point methodology given by Walker and Skogerboe (1987).

$$Z = a \tau^b + f_0 \tau \quad (1)$$

where Z is the cumulative infiltration per unit length of the furrow (m³ m⁻¹), τ is the intake opportunity time (min), k and a are empirical parameters, and f₀ is the empirical base of the infiltration rate (m³ m⁻¹ min⁻¹).

The method developed for the planning of surface irrigation; the method is also known as the volume balance approach. The method relies on the existence of an exponential relationship between the rate of progression of water and time over the furrow (Kanber 1997).

In the infiltration test with the two-point method, the progress of the water along the furrow (the advanced phase, the time to reach the waterfronts) and the recession phase to measure the total infiltration were

measured (Walker and Skogerboe 1987). From the moment the test was brought to end, and after the water was cut, recession times were determined by measuring the time at which was reached these stations

It is assumed that the infiltration function is in the form of Kostikov-Lewis form (Kanber 2010). For this purpose, the following equations were used.

$$X = pt^r \quad (2)$$

$$r = \frac{\ln 2}{T_a - \ln T_{0.5a}} \quad (3)$$

in equations; X, water is the distance of advanced, m; t, time since the beginning of the advanced, min; T_a total advanced time, minutes; T_{0.5a} the time taken for water to travel halfway through the water in half of the furrow, or the half-way distance, in minutes; r and p are the empirical coefficients.

The coefficients for the Kostikov-Lewis equation are obtained by using the progress data. For this purpose, the volume-balance equation for any time period is written as follows.

$$Q_0 t = \sigma_y \cdot A_0 \cdot X + \sigma_2 \cdot a \cdot t_a \cdot X + \left(\frac{f_0 \cdot t \cdot X}{1+r} \right) \quad (4)$$

Where; A_0 is the flow cross-sectional area at the inlet of the furrow, m^2 ; Q_0 , applied flow rate, $m^3 \text{ min}^{-1}$; t , the time elapsed since the beginning of the run, min; t_a , flow time, min; σ_y , surface storage shape factor, (0.70-0.809); σ_2 , subsurface shape factor. Equivalent items are estimated by means of the equations given below.

$$\sigma_z = \frac{b+r(1-b)+1}{(1+b)(1+r)} \quad (5)$$

$$A = \sigma_1 y^{\sigma_2} \quad (6)$$

$$WP = \gamma_1 y^{\gamma_2} \quad (7)$$

In equation; y , depth, m; WP , wet perimeter, m. The coefficients and exponents are empirical. The current cross-sectional area at the entrance of the furrow;

$$A_0 = C_1 \left(\frac{Q_0 n}{60 \sqrt{S_0}} \right)^{C_2} \quad (8)$$

The following equations are used for the calculation of the coefficients.

$$C_2 = \frac{3\sigma_2}{5\sigma_2 - 2\lambda_2} \quad (9)$$

$$C_1 = \sigma_1 \left(\frac{\gamma_1^{0,67}}{\sigma_1^{1,67}} \right)^{C_2} \quad (10)$$

The infiltration coefficients such as a , b and f_0 at the end of the test carried out by the two-point method are estimated by the following equations (Walker and Skogerboe 1987).

In equation, Z , cumulative infiltration depth, cm; t , irrigation time, hour; f_0 , basic infiltration rate, cm h^{-1} ; a and b are the infiltration coefficients.

While the infiltration of water along the furrow was examined, the volume-equilibrium approach in the furrow end and the middle was determined by the following equations.

$$Q_0 (T_{0,5a}) = \frac{\sigma_y A_0 L}{2} + \frac{\sigma_2 a (T_{0,5a})^b L}{2} + \left(\frac{f_0 (T_{0,5a}) L}{2(1+r)} \right) \quad (11)$$

and for the field end,

$$Q_0 (T_a) = \sigma_y A_0 L + \sigma_2 a (T_{0,5a})^b L + \left(\frac{f_0 (T_a) L}{(1+r)} \right) \quad (12)$$

Here, $T_{0,5a}$, the time taken for water to travel half way through the neck, min; T_a , time to advance of water to the end of the furrow, min; L , lateral size, m; a and b infiltration coefficients; r , achievement equalization superiority.

$$b = \frac{\ln(V_a / V_{0,5a})}{\ln(T_a / T_{0,5a})} \quad (13)$$

$$V_a = \frac{QT_a}{L} - 0,77A_0 - \frac{f_0 T_a}{(r+1)} \quad (14)$$

$$V_{0,5a} = \frac{2QT_a}{L} - 0,77A_0 - \frac{f_0 T_{0,5a}}{(r+1)} \quad (15)$$

$$a = \frac{V_a}{\sigma_2 T_a^b} \quad (16)$$

The value of f_0 in the infiltration equation is calculated by the following equation.

$$f_0 = \frac{Q_{in} - Q_{out}}{L} \quad (17)$$

The Q_{in} and Q_{out} values in the equation are the flow quantities entering and outgoing, $m^3 \text{ min}^{-1}$.

In making the tests and evaluating the results, was benefited from the principles given by Walker and Skogerboe (1987); Mitchell and van Genuchten (1993); Waller and Wallender (1991); Kanber (1997; 2010).

Stream Size and Fixed Flow

A fixed head orifice was used to obtain constant flow during the tests (Figure 2). On the base of the orifice, there are drain pipes and on the upper side, there are discharge pipes to provide a constant head on both sides. The exit nipples on the orifice side were extended to the entrance of the test furrows with hoses. According to the diameters of the hoses, approximate the flow rates were calculated with orifice equality. Later, volumetric flow control was performed before starting the tests and the hoses outlet width were adjusted in the water outlet to obtain the appropriate flow rate.

Measurement of Furrow Geometries

At the beginning and end of each infiltration test, the geometry of the furrow was determined. For this purpose, the rill-meter was placed in the chosen places at the beginning, in the middle, and at the end of the furrow. Using the furrow and flow cross-sectional areas were determined (Kanber et al 1996).

Rillmeter is formed on a horizontal bar with 5 cm spacing and 16 pieces of 50 cm bar (Figure 3). To determine the furrow cross-section profile, the upper beam of the rillmeter was placed on the furrow parallel to the ground using a spirit level.

This beam was used as the reference plane in the measurements. After the vertical bars were placed parallel to each other and perpendicular to the reference plane, the sections from the top of the bars to the borders were measured to obtain the furrow cross-section profile.

This process was repeated three times throughout the ridge before and after irrigation to obtain an average value. Values, such as the depth of the furrow, the



cross-section area, and the wet perimeters were determined with the obtained data.



Figure 2. Orifice used to provide a constant water head
Şekil 2. Sabit su yükü sağlamak için kullanılan orifis



Figure 3. Rillmeter used in measuring the flow cross-sectional areas
Şekil 3. Akış kesit alanlarının ölçülmesinde kullanılan rillmeter

This process was repeated three times throughout the ridge before and after irrigation to obtain an average value. Values, such as the depth of the furrow, the

cross-section area, and the wet perimeters were determined with the obtained data.

Tests for Determining the Properties Furrow

The results obtained from the infiltration tests are discussed in detail in the following sections. In the test, 120 m length and 80 cm width furrows were used.

Before the test the average of the measurements was taken and plotted, and the furrow cross-sectional profile was determined (Table 2). The procedure was repeated after the test to determine the changes in the cross-section of the cross.

In order to determine the furrow depth and cross-sectional area values were used the obtained values from Figure 4, which these values are the average values of the rillmeter measurements before and after the test.

Table 2. Mean cross-section values obtained before and after the test
Çizelge 2. Test öncesi ve sonrası elde edilen ortalama kesit değerleri

Before	Average values, cm															
	23.9	25.0	24.1	21.4	18.2	15.5	12.7	10.7	11.3	13.6	15.6	18.4	21.7	24.2	25.7	25.3
After	25.5	26.8	25.4	22.9	20.1	18.0	15.7	14.2	14.3	15.5	17.5	20.8	23.3	25.9	26.5	25.2

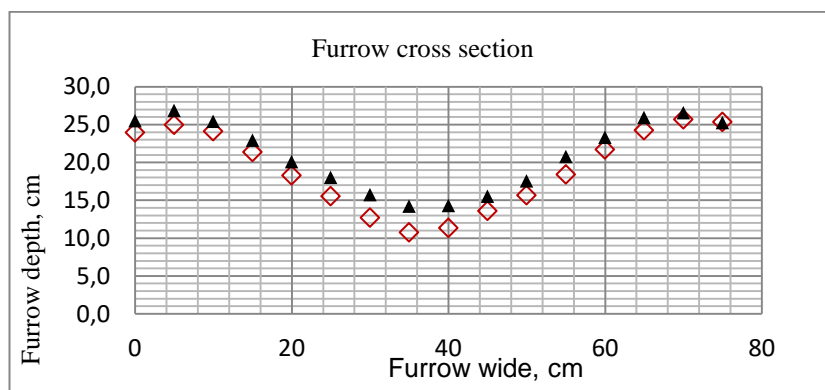


Figure 4. The cross-sectional profile, before and after the test
Şekil 4. Test öncesi ve sonrası kesit profili

The rillmeter measurements of the depth and width of the test furrow are given in Table 3.

Using Figure 4, the cross-sectional area per 1 cm height was calculated from the furrow bottom. In this process, as shown in the graph, the minimum point of the furrow bottom is 14.2 cm. This point was assumed to be 0. In this case, when the ordinate value is $Y_1 = 15$, the height from the bottom of the trough is found $Y_1 - Y_0 = 0.15 - 0.142 = 0.008$ m (Table 4).

Continuing process, for each cm height, was found

abscissa values of the furrow width, and at Table 4 were processed. Furrow width for each depth was determined by the difference $X_2 - X_1$. When the depth of the furrow was 0.08 m, the furrow width was 0.12 m, and the furrow depth was 0.118 m, the furrow width was determined as 0.568 m.

By using the obtained values, the cross-section areas of the furrows were calculated for different depths of the furrows. Other properties related to the test furrows are given in Table 5.

Table 3. The relationship between the depth of the furrow and the width of the furrow

Çizelge 3. Karık derinliği ile karık genişliği arasındaki ilişki, m

	0.0	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
Furrow depth, m	0.00	0.005	0.015	0.025	0.035	0.045	0.055	0.065	0.075	0.085	0.095
Furrow wide, m	0.00	0.140	0.185	0.230	0.260	0.285	0.315	0.355	0.405	0.445	0.520

Table 4. Relationship between furrow depth and wide

Çizelge 4. Karık derinliği ile genişliği arasındaki ilişki

Ordinate	Y	0.142	0.15	0.16	0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	0.22	0.23	0.24	0.25	0.26
Height	H	0	0.008	0.018	0.028	0.038	0.048	0.058	0.068	0.078	0.088	0.098	0.108	0.118
Absis	X_1		31.5	28.8	27.2	25	22.5	20.4	18.2	16.5	14.9	13.2	11	8.5
Absis	X_2		43.5	46.5	49	50.9	52.4	53.8	55.4	57.3	59.5	61.3	63.1	65.3
Wide furrow	m	0	0.12	0.177	0.218	0.259	0.299	0.334	0.372	0.408	0.446	0.481	0.521	0.568

Table 5. Some properties of tested furrows

Çizelge 5 Test karığının bazı özellikleri

L	S_0	W	SMD	Q_{in}	Q_{runoff}	n1	n2	n3
m	$m\ m^{-1}$	m	cm	$m^3\ min^{-1}$	$m^3\ min^{-1}$			
120	0.0065	0.8	14.218	0.1125	0.05434	0.04	0.02	0.015

L; furrow length, SMD; soil moisture deficit; Q_{in} input flow; Q_{runoff} : output flow; n1 for newly plowed soil; n2; Irrigated, smooth surface soils; n3 for dense vegetation covered soil that prevents water movement

RESULTS and DISCUSSION

Advanced and Recession Times

The length of furrows used in tests are 120 m, and the slope 0.65%, width of furrows 0.8 m and soil moisture deficit 0.14 m, and flow stream used $q = 1.875\ l\ s^{-1}$. During the test period, the water was observed at stations at a distant of 20 meters and the time to reach the end of the furrow and the recession times also observed, after the water was cut off (Table 6).

The advanced and recession curves plotted from the obtained data are given in Figure 5. The water reached the middle of the furrow in 15 minutes, and to the end of the furrow in 45 minutes.

The recession time from the entrance of the furrow was measured as 248 minutes. At the beginning of the furrow, the rate of water advanced was high, towards the end of the furrow, as expected, decreased (Table 6). Calculated parameters for the tested furrow are given in Table 7.

At the end of the test, the cross-sectional area was measured and the mean values of the results obtained are given in Table 8.

At the end of the field tests, the furrow parameters calculated by evaluating the data obtained and the coefficients of the Kostikov-Lewis infiltration equation are given in Table 9, and 10.

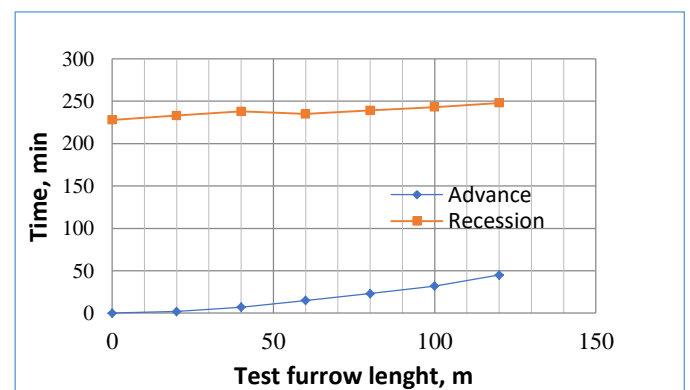


Figure 5. Advanced and recession curves

Şekil 5. İlerleme ve çekilme eğrileri

Table 6. Advanced-recession and net irrigation times

Çizelge 6 İlerleme ve çekilme eğrileri ile net sulama süreleri

Distance m	0	20	40	60	80	100	120	120	60
Advance time, min	0	2	7	15	23	32	45	45	15
Recession time, min	228	233	235	238	239	243	248	248	235
T _{net}	228	231	231	220	216	211	203		

Table 7. Parameters of tested furrow

Çizelge 7. Test karığına ilişkin parametreler

T. m	y. m	a ₂	a ₁	σ ₁	σ ₂
0.52	0.095	0.804775216	3.457053094	1.9155	1.80478
0.285	0.045				

Table 8. Parameters related to the furrow profile

Çizelge 8. Karık profiline ilişkin parametreler

Width (T), m	Depth (y), m	(0,5*(T _i -T _{i-1})) ²	(Y _i -Y _{i-1}) ²	2*((Y _i -(Y _{i-1})) ² +(T _i -(T _{i-1})) ²) ^{0.5}	WP _{0.12}	WP _{0.06}
0	0	0.00490	0.000025	0.14036	0.14036	0.14036
0.14	0.005	0.00051	0.0001	0.04924	0.04924	0.04924
0.185	0.015	0.00051	0.0001	0.04924	0.04924	0.04924
0.23	0.025	0.00023	0.0001	0.03606	0.03606	0.03606
0.26	0.035	0.00016	0.0001	0.03202	0.03202	0.03202
0.285	0.045	0.00023	0.0001	0.03606	0.03606	0.03606
0.315	0.055	0.00040	0.0001	0.04472	0.04472	0.34297
0.355	0.065	0.00063	0.0001	0.05385	0.05385	
0.405	0.075	0.00040	0.0001	0.04472	0.04472	
0.445	0.085	0.00141	0.0001	0.07762	0.07762	
0.52	0.095	0.06760	0.009025	0.55362	0.55362	
					1.11751	

Table 9. Parameters related to the furrow profile (Kanber, 2010)

Çizelge 9. Karık profiline ilişkin parametreler

WP _{0.12}	WP _{0.06}	y _{end}	y _{initial}	Y ₂	Y ₁	C ₂	C ₁	A ₀
1.11751	0.34297	0.095	0.045	1.581	46.163	0.924	7.530	0.0119
r	f ₀	V _L	V _{0.5L}	b	σ _z	a		
0.631	0.00048	0.0196	0.0145	0.2770	0.83219	0.00822		

Table 10. Parameters calculated from the data obtained at the end of the test

Çizelge 10. Test sonunda elde edilen verilerden hesaplanan parametreler

A ₀	r	f ₀	V _L	V _{0.5L}	b	σ _z	a		
0.01194	0.63093	0.00048	0.01962	0.01447	0.27695	0.83219	0.00822		
a ₂	a ₁	s ₁	s ₂	WP _{0.12}	WP _{0.06}	Y ₂	Y ₁	C ₂	C ₁
0.80478	3.45705	1.9155	1.80478	1.11751	0.34297	1.58083	46.1627	0.9236	7.52952

Kostiakov-Lewis infiltration equation in the test was found as follows:

$$Z = 0.00822 \tau^{0.27695} + 0.00048 \tau \quad (18)$$

in equation; τ is the intake opportunity time, min and Z the cumulative infiltration per unit length of furrow, m³ m⁻¹.

By using this infiltration equation with the advanced and recession curves obtained by the tests, furrow, and border lengths could be calculated as follows in

Harran plain vertisol soils.

The soil moisture content in the test period is close to the moisture content before irrigations in Harran Plain. This season can be accepted as the most appropriate time for the infiltration test in terms of soil water content. Because, when the soil is very dry, the test results cannot be reflecting exactly the soil moisture conditions during the irrigation season. Therefore, the infiltration coefficients could be more different than expected.

To meet this objective the quarter-time rule says that the stream size should be large enough for the water to reach the end of the field (furrow irrigation) the contact time is the time needed to infiltrate the required amount of water (FAO 1989).

Considering the soil properties, it can be easily calculated that the available water is about 13.17 cm at a depth of 90 cm. For the 1.2 m effective root zone of cotton, the required water for each irrigation considering that irrigation is made when 60% of the available capacity for field crops is consumed, $diw=13.17 \times 1.2 / 0.9 \times 0.60 = 105$ mm as is calculated.

In this case, if it is made a graphical solution, from Figure 6, or the Kostikov-Lewis equation it is found that the infiltration time of 105 mm of water is 104 minutes. Clemmens et al. (1998) used criteria such as water advanced and infiltration furrow irrigation planning. Kanber et al. (1996), Walker, and Skogerboe (1987), Walker (1989), Renault and Wallender (1996). Temizel and Apan (2010), and FAO (1990) reported that; to achieve 90% water application efficiency, the water-front must reach the end of the furrow in 1/4 of the net infiltration time.

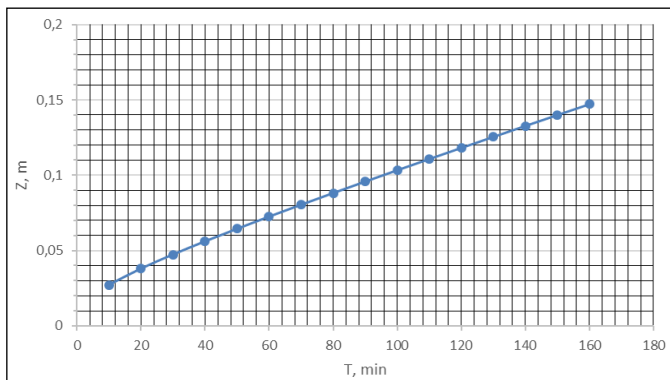


Figure 6. Cumulative infiltration and time relation
Şekil 6. Eklenik infiltrasyon ve zaman ilişkisi

Taking into account that here the advanced time is calculated as;

$$t_a = T_n / 4 = 150 / 4 = 37.5 \text{ minutes.}$$

In the advanced curve for the test area from Figure 7, the maximum length of the furrow may estimate to be approximately 85 m. Likewise, assuming that 80% of the irrigation efficiency is sufficient, it will be sufficient for the water front to reach the end of the furrow, in 40% of the net infiltration time. In this case, the advanced time will be 104 minutes \times 0.40 = 41.6 minutes.

From here, the irrigation length, i.e. furrow length, is found approximately 115 m, using the advanced curve of Figure 7. Of course, the furrow length also will change depending on the flow rate, and the rate of advance increases. Increasing the length of the

furrow reduces requirement efficiency (RE), requirement distribution efficiency (RDE), total distribution efficiency (TDE) values (Holzapfel et al. 2010).

CONCLUSIONS

The main objective of furrow irrigation is the appropriate selection of planning and managerial variables. These variables are the furrow length, flow rate to the furrow, and cutoff time. These variables are computed through optimization based on minimizing the total irrigation cost and maximizing the application efficiency of irrigation. As the water advanced rate rapidly decreases with increasing furrow length, systems can be designed to provide the opportunity time required to achieve the desired water application at less than the full length, for example, about 80 percent of the total length from the top end (USDA-NRCS, 2012).

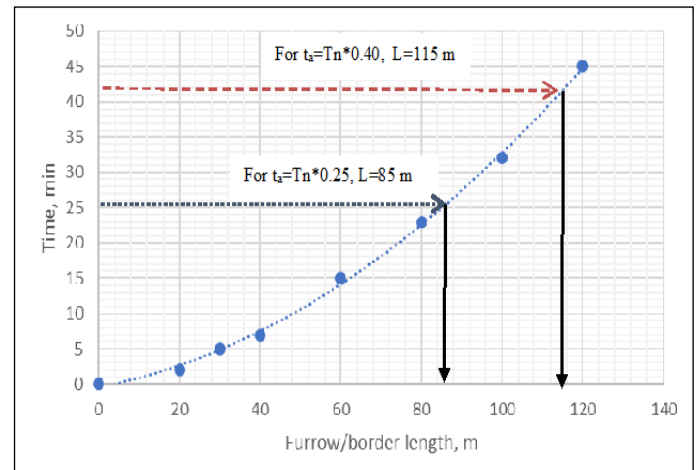


Figure 7. Estimating irrigation length using the water advanced curve

Şekil 7. İlerleme eğrisi kullanılarak sulama uzunluğunun kestirimi

Normally stream sizes up to 0.5 L s^{-1} will provide adequate irrigation provided the furrows are not too long. When larger stream sizes are available, water will move rapidly down the furrows and so generally furrows can be longer. The maximum stream size that will not cause erosion will depend on the furrow slope; in any case, it is advised not to use stream sizes larger than 3.0 l s^{-1} (FAO 1990). The flow stream size used in this study was 1.875 l s^{-1} and will not lead to erosion according to this soil structure.

ACKNOWLEDGEMENTS

The field trial of this study was carried out at the Talat Demirören experimental station of Şanhurfa Soil and Resource Research Institute in 2014. The author wishes to express sincere thanks to Prof. Dr. Rıza Kanber from Çukurova University, Agricultural

Structure and Irrigation Department, and the Soil and Resource Research Institute staff for their helpful contribution to the study and the establishment of the field test.

Contribution of the Authors as Summary

Author declares the contribution of the authors is 100%.

Statement of Conflict of Interest

Author has declared no conflict of interest.

REFERENCES

- Bautista E, Wallender WW 1993. Identification of furrow infiltration parameters from advance times and rates. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, ASCE, 119 (2): 295-311
- Clemmens AJ, Camacho E, Strelkoff TS 1998. Furrow irrigation design with simulation. p. 1135-1140. In *Int. Conf. on Water Resources Engineering Proceedings*, Memphis, TN. Aug. 3- 7, 1998.
- Çakmaklı M 2008. Harran Ovası Topraklarının Kökeni ve Oluşum Mekanizmaları (Jeoloji ve Toprak ilişkileri). Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı (Doktora Tezi), Şanlıurfa, 155 s
- Esfandiari M, Maheshwari BL 1996. Mathematical Modelling of Furrow Irrigation. Sixth International Conference on Computers in Agriculture, Cancun-Mexico, 1002-1012
- FAO 1989. Guidelines for designing and evaluating surface irrigation systems Water Resources, Development and Management Service, Land and Water Development Division
- FAO 1990. Irrigation Water Management: Irrigation Methods, training manuel no 5. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Via delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy.
- Güngör Y, Erözel Z, Yıldırım O 1996. Sulama. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Halkla İlişkiler ve Yayın Ünitesi, Ankara, 295 s.
- Hillel D 1998. Environmental Soil Physics Fundamentals, Applications, and Environmental Considerations. Academic Press, Waltham.
- Holzappel EA, Leiva C, Marino A, Paredes J, Arumi JL, Billib M 2010. Furrow Irrigation Management and Design Criteria Using Efficiency Parameters and Simulation Models. *Chilean J. Agric. Res.* [online]. 70(2): 278-296. ISSN 0718-5839. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-5839201000200012>.
- Hulugalle NR, Weaver TB, Finlay LA 2001. Physical and Chemical Properties of Soil Near Cracks in Irrigated Vertisols Sown with Cotton-Wheat Rotations. *Arid Land Research and Management*, 15:13-22
- Kanber R, Önder S, Ünlü M, Köksal H, Özekici B, Sezen SM, Yazar A, Koç K 1996. Optimization of surface irrigation methods for cotton and comparison with sprinkler irrigation. *Research Report no:18*
- Kanber R 1997. Sulama. Ç.Ü. Ziraat Fak. Yay, No, 174, Ders Kitapları Yay No, 52, Adana, 530 s.
- Kanber R 2010. Tarla Sulama Sistemleri. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No: 283, Ders kitapları Yayın No. A-89, Adana, 584 s.
- Ley TW 1978. Sensitivity of Furrow Irrigation Performance to Field and Operation Variables. M.S. Thesis. Dep. of Agric. And Chemical Engineering. Colorado State Univ. Fort Collins. Colo.
- Mitchell AR, van Genuchten M Th 1993. Flood irrigation of a cracked soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 57:490-497
- Probert ME, Fergus IF, Bridge BJ, Mcgarry D, Thompson CH, Russell JS 1987. The properties and management of Vertisols. CAB International, Wallingford, UK.
- Rawls WJ, Brakensiek DL, Miller N 1993. Green-Ampt Infiltration Parameters From Soils Data. *Journal of Hydraulic Engineering Volume* 109(1):50-62.
- Renault D, Wallender WW 1996. Initial-Inflow-Variation Impact on Furrow Irrigation Evaluation. *Journal of Irrigation and Drainage Engin.* 122(1):7-14.
- Skaggs RW, Khaleel R 1982. Infiltration. In: *Hydrological Modeling of Small Watersheds* ed. T. C. Haan, H. P. Johnson and D. L. Rakensiek, ASEA Monograph no. 5, Michigan, USA, 121-166.
- Temizel KE, Apan M 2010. Bafra ovası arazi koşullarında uygun kırık uzunluklarının belirlenmesi, *Anadolu Journal of Agricultural Science*, 25 (2):84-88.
- Turner ER 2006. Comparison of Infiltration Equations and Their Field Validation With Rainfall Simulation Thesis submitted to the Faculty of the Graduate School of the University of Maryland, College Park in partial fulfillment of the requirements for the degree of *Master of Science* p:202
- USDA-NRCS 2012. Surface Irrigation Chapter 4, *Irrigation National Engineering Handbook*, Part 623. <https://directives.sc.egov.usda.gov/39787.wba>
- USDA-SCS 1998. Keys to soil taxonomy. Eighth ed. USDA Nat. Res. Conservation Service. Washington DC.
- Walker WR, Skogerboe GV 1987. Surface Irrigation:

- Theory and Practice. Prentice-Hall, Inc., Englewood Clifss, New Jersey, 375 s.
- Walker WR 1989. Guidelines for Designing and Evaluation "Surface Irrigation Systems". FAO Irrigation and Drainage Paper, No:25, Rome, 167p.
- Waller PM, Wallender WW 1991. Infiltration in surface irrigated swelling soils. Irrigation and Drainage Systems. 5:249-266
- Zhang Y, Wu P, Zhao X, Li P 2012. Evaluation and modeling of furrow infiltration for un-cropped ridge-furrow tillage in Loess Plateau soils. Soil Res 50:360-370
- Zerihun D, Sanchez CA, Farrell-Poe KL 2004 Modified Two-Point Method for Closed-End Level-Bed Furrows World Water and Environmental Resources Congress.

Seralarda Bir Günlük Toplam Sıcaklığa Göre Yapılan Dinamik Kontrol Stratejisine Bağlı Enerji Tasarrufunun Belirlenmesi

Abdullah Nafi BAYTORUN¹, Sait ÜSTÜN^{2*}

¹Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü, Adana, ²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyosistem Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş

¹<https://orcid.org/0000-0002-5971-6893>, ²<https://orcid.org/0000-0002-9978-6140>

✉: saitustun@gmail.com

ÖZET

Seralarda enerji tasarrufu amacıyla son yıllarda uygulanan dinamik kontrol stratejilerinden bir tanesi, sıcaklık toplamına göre yapılan denetimdir. Bu yöntem, belirli bir üretim hedefine ulaşmak için sabit gece/gündüz sıcaklığı yerine belirli bir sıcaklık toplamının yeterli olduğu esasına dayanır. Serada gece saatlerinde sıcaklığın düşürülmesi önemli derecede ısı enerjisi tasarrufu sağlar. Belirtilen nedenle gece saatlerinde sıcaklığın alt kritik sınıra çekilmesi ve günlük toplam sıcaklıkta eksik kalan sıcaklığın gündüz saatlerinde havalandırma ayar sıcaklığının yükseltilerek telafi edilmesi, son yıllarda enerji tasarrufu amacıyla seralarda kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmada seracılığın yaygın olarak yapıldığı Antalya ve son yıllarda jeotermal seracılığın yaygınlaştığı Afyonkarahisar illerinin uzun yıllık iklim değerleri kullanılarak, sabit sıcaklık (statik strateji) ve bir günlük sıcaklık toplamına göre (dinamik strateji) yapılan sıcaklık denetiminde sağlanan ısı tasarrufu belirlenmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda ılıman iklime sahip Antalya koşullarında dinamik kontrol ile statik kontrol stratejisine göre serada istenen gece sıcaklığına bağlı olarak en fazla %30 ve karasal iklimin hakim olduğu Afyonkarahisar koşullarında %9 enerji tasarrufunun sağlanabileceği belirlenmiştir.

Biyosistem Mühendisliği

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 21.06.2021

Kabul Tarihi : 01.10.2021

Anahtar Kelimeler

Sera

Toplam sıcaklık

Dinamik kontrol stratejisi

Enerji tasarrufu

Determination of Energy Savings Based on a Dynamic Control Strategy Based on One-Day Total Temperature in Greenhouses

ABSTRACT

One of the dynamic control strategies implemented in the last years for energy saving in greenhouses is the control made according to the total temperature. This method is based on the principle that a certain sum of temperatures (rather than a constant temperature) is sufficient to reach a certain production target. Lowering the temperature at night provides significant heat energy savings. For this reason, reducing the temperature to the lower critical limit at night hours and compensating for the missing temperature in the daily total temperature by increasing the ventilation temperature during the day has been used in greenhouses for energy saving in recent years. In this study, the long year climate values of Antalya, where greenhouse cultivation is wide spread, and Afyonkarahisar, where geothermal greenhouse cultivation has become wide spread in recent years, was used to determine the heat savings achieved in the temperature control performed according to the constant temperature (static strategy) and the sum of one-day temperature (dynamic strategy). As a result of the calculations made depending on the desired night temperature in these greenhouses, it was determined that up to 30% energy savings can be achieved in Antalya conditions with mild climate, and 9% in Afyonkarahisar conditions where the continental climate prevails.

Biosystem Engineering

Research Article

Article History

Received : 21.06.2021

Accepted : 01.10.2021

Keywords

Greenhouse

Total temperature

Dynamic control strategy

Energy saving

Atıf Şekli:	Baytorun A.N, Üstün S 2022. Seralarda Bir Günlük Toplam Sıcaklığa Göre Yapılan Dinamik Kontrol Stratejisine Bağlı Enerji Tasarrufunun Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1119-1126. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.955275
To Cite :	Baytorun A.N, Üstün S 2022. Determination of Energy Savings Based on a Dynamic Control Strategy Based on One-Day Total Temperature in Greenhouses. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1119-1126. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.955275

GİRİŞ

Seralarda iklim kontrolü eksikliği, verim bileşenlerini ve girdi kullanım verimliliğini olumsuz yönde etkileyen yetersiz bir mikroklima ile sonuçlanır. Sera ortamının daha iyi kontrol edilmesi pazarlanabilir verimi ve kaliteyi artırdığı gibi büyüme mevsimini uzatabilir (Baille, 1999). Seralarda yapılan bitkisel üretimde en az enerji ve iş gücü ile gelişim etmenlerinin bitkilerin arzulanacağı konfor sınırları arasında tutulması gereklidir.

Yüksek teknolojiye sahip seralarda yapılan bitkisel üretimde ısıtma giderleri bölge iklimine bağlı olarak %20-40 arasında değişir (Baytorun ve ark., 2017). Seralarda ısıtma ayar sıcaklığının optimum değerler altında tutulması önemli miktarda ısı tasarrufu sağlar. Ancak ayar sıcaklığının optimum değerinin altında tutulması bitki gelişimini olumsuz yönde etkileyebileceği gibi, kuru madde oluşumu gibi diğer bitki özelliklerini de etkileyebilmektedir (Körner ve Challa, 2003a). Seralarda sıcaklığın düşürülerek enerji tasarrufu konusunda yapılan bir araştırmada, günlük ortalama sıcaklığın 18°C (19/17°C) ve 16°C'de (17/15°C) tutulduğu seralarda yapılan domates üretiminde 2 kg m⁻² verim farkı elde edilirken, birim alan için 1.5 € m⁻² fazla yakıt tüketilmiştir. Bu koşullarda sıcaklığın düşürülmesi konusunda karar vermede domatesin pazar fiyatları önemli rol oynamaktadır (Teichert, 2006).

Düzenli olarak ısıtılan seralarda ısı enerjisinin büyük kısmı gece saatlerinde tüketilmektedir (Baytorun, 2016; Baytorun ve ark., 2017). Tantau (1998) tek kat camla kaplı bir serada 15°C'lik ısıtma ayar sıcaklığı için, gece enerji tüketiminin toplam enerji tüketiminin yaklaşık %70'i olduğunu belirlemiştir. Belirtilen nedenle, gece ayar sıcaklığının 1-2°C daha düşük tutulması, farklı iklim bölgelerinde ısı enerjisi tüketimini %30'a kadar azaltabilmektedir (Elings ve ark., 2005; Gilli ve ark., 2017; Langton ve Hamer, 2003; Spanomitsios, 2001).

Seralarda kullanılan iklim kontrol stratejilerinin temel hedefleri, ısı tasarrufu, bitki büyümesinin optimizasyonu, bitki sağlığı ve kalitesinin teşviki ve korunmasıdır. Günümüzde seralarda kullanılan denetim stratejileri statik ve dinamik kontrol stratejileri olmak üzere iki ana grup altında toplanmaktadır.

Seralarda kullanılan statik iklim kontrolünün en büyük dezavantajı, yüksek rüzgar hızı veya düşük sıcaklıklar gibi olumsuz dış iklim koşullarında ortaya çıkan yüksek ısı enerjisi tüketimine engel

olamamasıdır (Tantau, 1998). Statik iklim kontrolünde, bitki gelişimini önemli düzeyde etkileyen düşük güneş ışınımı dikkate alınmaz (Maeritz, 2011). Buna karşın dinamik kontrol stratejilerinde bitkilerin büyüme potansiyeline bağlı olarak üretim maliyetinde önemli paya sahip olan ısı enerjisi dış iklim koşullarına göre düzenlenir. Dinamik kontrol stratejisinin karakteristik özelliği, sıcaklığın sabit tutulması değil, farklı zaman aralıklarında bitki büyüme parametrelerine ve dış iklim koşullarına bağlı olarak sıcaklıkların büyük ölçüde değişebilmesidir (Baytorun, 2022).

Serada sıcaklığın yüksek olduğu dönemlerde bitkilerin büyümelerini hızlandırarak daha düşük sıcaklık dönemlerini telafi ettikleri uzun bir süreden beri bilinmektedir. Bu potansiyelden en iyi şekilde faydalanmak amacıyla sıcaklığın yüksek olduğu dönemlerde bitkilerin büyümesine izin veren iklim kontrol stratejilerini geliştirmek önemli miktarda enerji tasarrufu sağlayabilmektedir. Ancak bu stratejide müsaade edilen düşük sıcaklıklar bitki kalitesine zarar vermemeli ve bitkilerin hastalıklara karşı değişen duyarlılıkları dikkate alınmalıdır. Seralarda yapılan iklim denetiminde bireysel stratejiler birbiriyle çatışabilir. Örneğin, maksimum enerji tasarrufu bitki büyümesini sınırlandırabileceği gibi, bitkilerin sağlığını da etkileyebilmektedir.

Seralarda enerji tasarrufu amacıyla son yıllarda uygulanan dinamik kontrol stratejilerinden biri sıcaklık toplamına göre yapılan denetimdir. Bu yöntem, sabit bir gece/gündüz sıcaklığı yerine kabul edilen toplam sıcaklığın kontrol için referans değişken olarak kullanılmasıdır. Seralarda gece saatlerinde ısıtma ayar sıcaklığının birkaç saat optimum değerinin birkaç derece altında ve gün içinde kalan sürenin optimum değerinin üzerinde tutulması ile yapılan sıcaklık düzenlemesi ısı enerjisi tasarrufu açısından önemlidir. Bu yöntem, sıcaklık dalgalanmalarına oldukça hassas olan bitkiler hariç, çoğu sera ürünü için enerji tasarrufu için iyi bir seçenektir. Bugüne kadar yapılan araştırmalar, bitki büyümesine sıcaklık etkisinin gün ışığı koşullarında daha yüksek olduğunu göstermiştir (Challa ve ark., 1995).

Yapılmış birçok çalışma, serada üretilen bitkilerin çoğunun sabit gündüz/gece sıcaklıklardan çok, uzun süreli sıcaklık ortalamasına tepki verdiğini göstermiştir (Langhans ve ark., 1985; Miller ve ark., 1985). Bu nedenle, uzun süreli dinamik sıcaklık denetimi, ortaya çıkan soğuk bir günü takip eden günlerden birinde telafi ederek seralarda daha

yüksek ısı enerjisi tasarrufu sağlayabilmektedir. Dinamik sıcaklık düzenlemesi, enerji tasarrufu potansiyelini optimum aralığın alt-kritik ve üst-kritik sıcaklıklar arasında analiz etmeye ve kullanıcı tarafından tanımlanan herhangi bir süre için istenen ortalama sıcaklığı sağlamaya çalışan denetim stratejisi olarak tanımlanmaktadır.

Yapılan bu çalışmada Türkiye’de seracılığın yaygın olarak yapıldığı Antalya ve Jeotermal seracılığın yaygınlaştığı Afyonkarahisar ilinin uzun yıllık saatlik iklim değerleri esas alınarak statik kontrol stratejisine göre bir günlük sıcaklık toplamı esas alınarak yapılan dinamik kontrol stratejisinin sağladığı ısı enerjisi tasarrufu belirlenmeye çalışılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Serada ısı gereksiniminin hesaplanması, DIN 4701’e göre yapılan alışlagelmiş ısı gereksinim hesaplamalarından farklı olarak, dış sıcaklık yerine belirli bir sıcaklığa kadar havalandırılmayan ve ısıtılmayan serada ortaya çıkan gerçek sıcaklık ve seranın özelliğine bağlı olarak ortaya çıkan sıcaklık yükselmesi dikkate alınarak Eşitlik 1 yardımıyla hesaplanmıştır (Rath,1992).

$$Q_{cs} = \sum_{n=1}^{8760} \left((\vartheta_{in} - \vartheta_{i,oh_n} - \Delta\vartheta_{sp_n}) * U_{cs} * A_H * (1 - EE_{ES}) * t \right) [1]$$

Eşitlikte;

Q_{cs} : Toplam ısı gereksinimi (kWh a⁻¹)

ϑ_{in} : Serada istenen sıcaklık (°C)

$\vartheta_{i,oh}$: ısıtılmayan seradaki gerçek sıcaklık (°C)

$\Delta\vartheta_{sp}$: Seranın özelliğine bağlı ortaya çıkan sıcaklık yükselmesi (°C)

U_{cs} : Isı gereksinim katsayısı (W m⁻²K⁻¹)

A_H : Örtü yüzey alanı (m²)

EE_{ES} : Isı perdesi ile sağlanan ısı tasarrufu (-)

t : Simülasyon zaman aralığı (1 h)

Isıtılmayan ve belirli bir sıcaklığa kadar havalandırılmayan seradaki sıcaklığın belirlenmesi için öncelikle güneşten kazanılan ve seradan kaybedilen ısı esas alınarak serada teorik olarak ortaya çıkan sıcaklık Eşitlik 2 ile hesaplanmıştır. Hesaplamalarda seraya ulaşan güneş ışınımının duyulur ısıya dönüşüm faktörü (η) 0.70 olarak alınmıştır (Tantau 1983, von Zabeltitz 1986).

$$\vartheta_{i,th} = \frac{q_{GS} * \tau * \eta * A_G}{U_{cs} * (1 - EE_{ES}) * A_H} + \vartheta_a$$

Eşitlikte;

q_{GS} : Seraya ulaşan güneş ışınımı şiddeti (W m⁻²)

A_G : Sera taban alanı (m²)

Isıtılmayan ve belirli bir sıcaklığa kadar havalandırılmayan serada ortaya çıkan sıcaklık ($\vartheta_{i,oh}$), hesaplanan teorik sıcaklık ($\vartheta_{i,th}$), havalandırma ayar sıcaklığı (ϑ_L) ve dış sıcaklık (ϑ_a) dikkate alınarak Eşitlik 3’te verilen mantıksal ilişkilerle belirlenmiştir (Rath, 1992).

$$\left. \begin{array}{l} \vartheta_{i,th} \geq \vartheta_L \text{ ve } \vartheta_L \geq \vartheta_a \quad \text{ise} \\ \vartheta_{i,th} < \vartheta_L \text{ ve } \vartheta_{i,th} > \vartheta_a \quad \text{ise} \\ \text{Değilse} \end{array} \right\} \vartheta_{i,oh} = \begin{cases} \vartheta_L \\ \vartheta_{i,th} \\ \vartheta_a \end{cases}$$

Eşitliklerde;

$\vartheta_{i,th}$: Belirli bir sıcaklığa kadar havalandırılmayan ve ısıtılmayan serada ortaya çıkan teorik sıcaklık (°C)

ϑ_L : Havalandırma ayar sıcaklığı (°C)

$\vartheta_{i,s}$: Serada istenen sıcaklık (°C)

Seralarda ısı kayıplarının önlenmesi için havalandırma ayar sıcaklığı ile ısıtma ayar sıcaklığı arasında en az 2°C fark olmalıdır. Yapılan çalışmada serada gece/gündüz sıcaklık değerleri 16/20°C olarak kabul edilmiştir. Verilen bu değerlere göre hesaplanan toplam sıcaklık dinamik kontrol için referans olarak alınmıştır. Daha sonra ısıtılmayan ve programa tanımlanan havalandırma sıcaklığına göre Eşitlik 3’teki mantıksal ifadelerle belirlenen gündüz saatlerindeki sıcaklık değerleri toplamı, bir günlük sıcaklık toplamından çıkarılarak elde edilen değer, gece uzunluğuna bölünerek takip eden gecenin saatlik sıcaklık değerleri olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmada gece saatlerindeki minimum sıcaklıklar 13-15°C arasında alınmıştır. Toplam sıcaklığa göre belirlenen gece sıcaklıkları 13°C’den küçük olduğunda, 13°C olarak alınmıştır.

Isı gereksiniminin Eşitlik 1’e göre hesaplanmasında kullanılan iç sıcaklık değeri (ϑ_i) serada istenilen sıcaklık ($\vartheta_{i,s}$) değerine bağlı olarak Eşitlik 4’te verilen mantıksal ilişkilerle belirlenmiştir.

$$\left. \begin{array}{l} \vartheta_{i,oh} \leq \vartheta_{i,s} \quad \text{ise} \\ \text{Değilse} \end{array} \right\} \vartheta_i = \begin{cases} \vartheta_{i,s} \\ \vartheta_{i,oh} \end{cases}$$

Günlük toplam sıcaklığa göre yapılan ısı gereksinimi hesaplamalarında, havalandırma sıcaklıkları 22-25°C arasında alınmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Seralarda yapılan üretimde bitkiler 17-27°C’ye adapte olup, bitkilerin gelişimlerini sağlıklı sürdürebilmeleri için gece-gündüz sıcaklık farkı 5-8°C olmalıdır (Nisen ve ark., 1988). Dinamik kontrol stratejisinde gece gündüz sıcaklık farkının 4 - 8 °C olması seralarda yapılan domates üretiminde kalite ve verim üzerinde olumsuz etkisinin olmadığı yapılan değişik araştırmalar sonucunda belirlenmiştir (Shamim ve ark., 2019). Seracılığın yaygın olarak yapıldığı Antalya ve jeotermal seracılığın yaygınlaşmaya başladığı Afyonkarahisar’da ısı perdeli seralarda sıcaklığın gece/gündüz minimum 16/20°C’de ve havalandırma sıcaklığının 22°C’de tutulmak istenmesi durumunda gereksinilen ısı enerjisi değerleri Çizelge 1’de verilmiştir. Antalya koşullarında üretim periyodu boyunca toplam ısı gereksinimi 82.7 kWh m⁻²a⁻¹ olurken, 69.9 kWh m⁻²a⁻¹’a gece, 12.8 kWh.m⁻²a⁻¹’a gündüz saatlerinde ihtiyaç duyulmaktadır. Afyonkarahisar iklim koşullarında bu değer 285.8 kWh m⁻²a⁻¹ olmaktadır. Antalya’da

düzenli olarak ısıtılan seralarda gündüz saatlerinde tüketilen ısı enerjisi toplam ısı enerjisinin %15.5'ini

oluştururken, Afyonkarahisar'da bu oran %31.7'dir.

Çizelge 1. Antalya ve Afyonkarahisar'da düzenli ısıtılan ısı perdeli seralarda sıcaklığın gece/gündüz 16/20 °C'de tutulması durumunda yılın aylarına bağlı ısı gereksinimi

Table 1. Heat requirement depending on the months of the year in case the temperature is kept at 16/20 °C day/night in greenhouses with energy screen, which are regularly heated in Antalya and Afyonkarahisar climate conditions.

Aylar Months	Isı Gereksinimi (kWh m ⁻² a ⁻¹) Heat Requirement (kWh m ⁻² a ⁻¹)					
	Antalya			Afyonkarahisar		
	Gündüz Day	Gece Night	Toplam Total	Gündüz Day	Gece Night	Toplam Total
Ocak	3.7	18.7	22.4	23.9	40.8	64.7
Şubat	3.0	15.0	18.0	16.8	31.4	48.2
Mart	2.0	10.5	12.5	8.3	26.5	34.8
Nisan	0.8	3.9	4.7	4.1	14.2	18.3
Mayıs	0.0	0.2	0.2	1.6	6.6	8.2
Haziran	0.0	0.0	0.0	1.2	1.6	2.8
Temmuz	0.0	0.0	0.0	0	0.2	0.2
Ağustos	0.0	0.0	0.0	0	0.3	0.3
Eylül	0.0	0.0	0.0	1.1	3.5	4.6
Ekim	0.0	0.3	0.3	3.8	11.4	15.2
Kasım	1.0	6.60	7.6	8.5	25.2	33.7
Aralık	2.3	14.7	17.0	21.2	33.6	54.8
Toplam	12.8	69.9	82.7	90.5	195.3	285.8

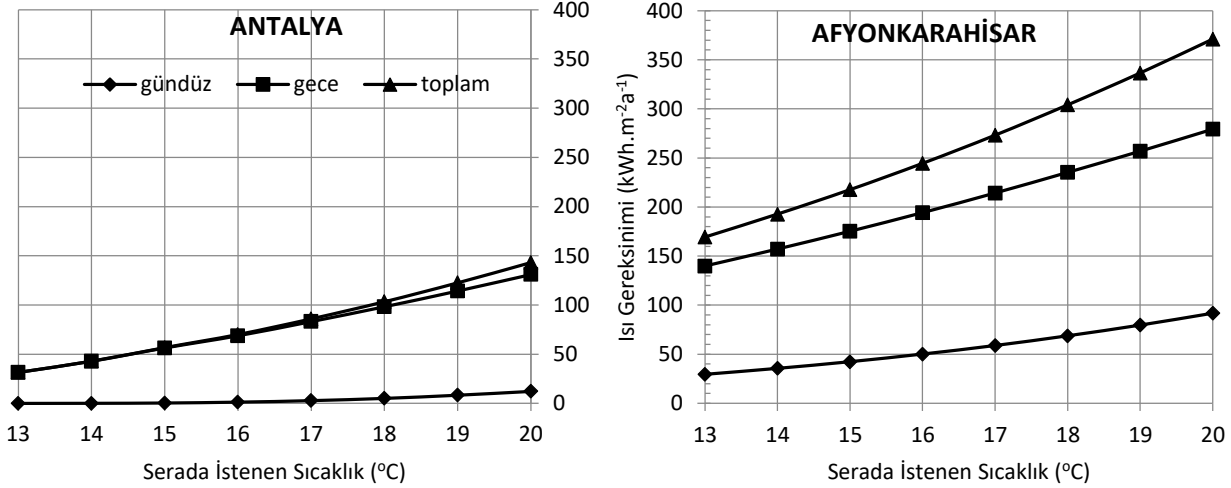
Seralarda ısı enerjisi gereksinimi sera donanımına, serada istenen sıcaklığa ve bölge iklimine bağlı değişmektedir. Şekil 1'de Antalya ve Afyonkarahisar iklim koşullarında serada istenen farklı sıcaklık değerlerine bağlı gece, gündüz ve toplam ısı enerjisi gereksinimi verilmiştir. Antalya koşullarında gündüz saatlerinde gereksinilen ısı enerjisi ihmal edilecek kadar küçüktür. Karasal iklimin hakim olduğu ve son yıllarda jeotermal seracılığın yaygınlaştığı Afyonkarahisar koşullarında gündüz saatlerinde ihtiyaç duyulan ısı enerjisi serada istenen sıcaklık değerlerine göre 30-92 kW h m⁻²a⁻¹ arasında değişmektedir.

Antalya ve Afyonkarahisar iklim koşullarında çatısı tek kat PE plastik, yan duvarları çift kat PC ile kaplı ısı perdeli seralarda farklı sıcaklık değerleri için gece ısı gereksiniminin toplam ısı gereksinimine oranları Şekil 2'de verilmiştir. Antalya'da serada sıcaklığın minimum 16°C'de tutulmak istenmesi durumunda ısı gereksiniminin %98.1'ine, Afyonkarahisar'da ise %79.5'ine gece saatlerinde ihtiyaç duyulmaktadır. Her iki iklim koşullarında da ısı enerjisinin büyük kısmına gece saatlerinde ihtiyaç duyulmaktadır. Belirtilen nedenle seralarda gece saatlerinde sıcaklığın kritik alt sınırdaki tutulması ve eksik kalan sıcaklığın gündüz saatlerinde havalandırma sıcaklığı yüksek tutularak telafi edilmesi önemli miktarda enerji tasarrufuna olanak sağlayacaktır.

Antalya iklim koşullarında serada sıcaklığın gece/gündüz 16/20°C'de ve havalandırma sıcaklığını 22°C'de tutulması durumunda statik denetim ve dinamik denetime göre farklı havalandırma ayar

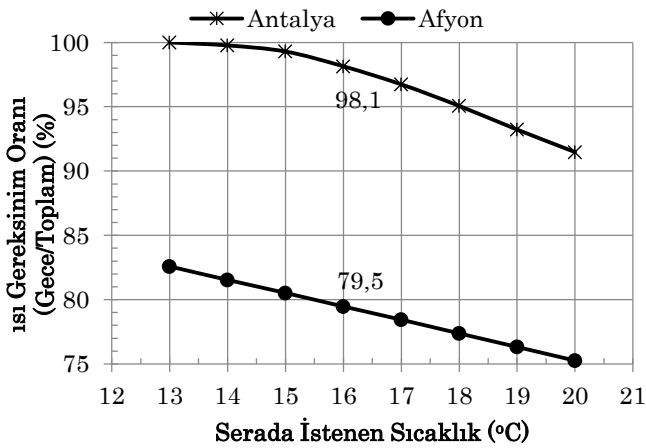
sıcaklıklarında üretim periyodu boyunca gereksinilen ısı enerjisi değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Antalya'da statik denetimin yapıldığı serada gece/gündüz sıcaklığın 16/20°C ve havalandırma ayar sıcaklığının 22°C'de tutulması durumunda üretim periyodu boyunca toplam ısı gereksinimi 82.72 kWhm⁻²a⁻¹ olurken, dinamik denetiminde gece sıcaklığın minimum 15°C'de tutulması durumunda gereksinilen toplam ısı %16 azalarak 69.49 kWh m⁻²a⁻¹ olmaktadır. Serada havalandırma ayar sıcaklığının 24°C'ye yükseltilmesi ve gece sıcaklığının minimum 14°C'de tutulmak istenmesi durumunda statik denetimine göre dinamik denetimi ile tasarruf edilen ısı enerjisi 30.8 kWh m⁻²a⁻¹ olmaktadır.

Bir günlük sıcaklık toplamına göre yapılan dinamik sıcaklık denetiminde tasarruf edilen ısı enerjisi, havalandırma, ısıtma ayar sıcaklıkları arasındaki farka ve gece saatlerinde seradaki minimum sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir. Antalya koşullarında statik denetim ve bir günlük sıcaklık toplamına göre yapılan dinamik denetimde, havalandırma, ısıtma ayar sıcaklıkları arasındaki farka bağlı olarak farklı gece sıcaklıklarında gereksinilen ısı enerjisi Şekil 3'te verilmiştir. Şekilden de görüleceği gibi statik denetim stratejisinde serada sıcaklığın gece/gündüz 16/20°C'de ve havalandırma, ısıtma ayar sıcaklıkları arasında 2°C'lik sıcaklık farkının olması durumunda gereksinilen ısı enerjisi 82.72 kWh m⁻²a⁻¹ olurken, havalandırma, ısıtma ayar sıcaklıkları arasındaki farkın 5°C'ye yükselmesi durumunda bu değer 80.91 kWh m⁻²a⁻¹ olmaktadır. Bu da %2.2 enerji tasarrufu anlamına gelmektedir.



Şekil 1. Antalya ve Afyonkarahisar'da serada istenen farklı sıcaklık değerlerinde gece, gündüz ve toplam ısı gereksinimleri

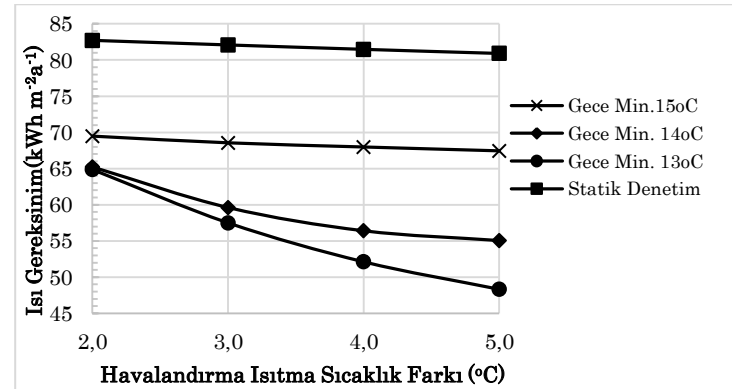
Figure 1. Night, day and total heat requirements at different temperature values desired in the greenhouse in Antalya and Afyonkarahisar



Şekil 2. Antalya ve Afyonkarahisar'da serada istenen sıcaklık değerlerinde gece ısı gereksiniminin toplam ısı gereksinimine oranları

Figure 2. Ratios of night heat requirement to total heat requirement at different temperature values desired in the greenhouse in Antalya and Afyonkarahisar

Antalya koşullarında bir günlük sıcaklık toplamına göre yapılan dinamik sıcaklık denetiminde, gece saatlerinde sıcaklığın minimum 15°C'de tutulmak istenmesi ve havalandırma, ısıtma ayar sıcaklığı arasındaki farkın 2°C olması durumunda gereksinilen ısı enerjisi 69.49 kWh m⁻²a⁻¹ olurken, havalandırma, ısıtma ayar sıcaklığı arasındaki farkın 5°C'ye yükselmesi durumunda bu değer 67.45 kWh m⁻²a⁻¹ olmaktadır. Bu durumda tasarruf edilen ısı enerjisi %2.9'dur. Antalya koşullarında dinamik sıcaklık denetiminde, gece saatlerinde serada sıcaklığın minimum 14°C'de tutulmak istenmesi durumunda



Şekil 3. Antalya koşullarında statik ve dinamik kontrol stratejisinde havalandırma sıcaklığına ve havalandırma ısıtma sıcaklık farkına bağlı olarak gereksinilen ısı enerjisi değerleri

Figure 3. The heat energy values required in the static and dynamic control strategy in Antalya climate conditions depending on the ventilation temperature and ventilation heating temperature difference

artan havalandırma, ısıtma ayar sıcaklığı farkına bağlı olarak tasarruf edilen ısı enerjisi %15.6'ya, gece sıcaklığının minimum 13°C'de tutulmak istenmesi durumunda bu değer %25.5'e yükselmektedir.

Serada bir günlük sıcaklık toplamına göre yapılan dinamik denetimde, tasarruf edilen ısı enerjisi, bölge iklimine bağlı olarak da değişmektedir. Çizelge 3'te karasal iklime sahip Afyonkarahisar iklim koşullarında yapılan statik ve dinamik sıcaklık kontrolünde serada sıcaklığın gece/gündüz 16/20°C'de tutulmak istenmesi durumunda farklı havalandırma set sıcaklıklarında gereksinilen ısı enerji değerleri

verilmiştir. Afyonkarahisar iklim koşullarında serada yapılan statik sıcaklık denetiminde havalandırma ve ısıtma set sıcaklıkları arasındaki farkın 2°C'den 5°C'ye yükseltilmesi durumunda gereksinilen ısı enerjisi değişmemektedir (Çizelge 3). Bir günlük sıcaklık toplamına göre yapılan dinamik sıcaklık denetiminde gece saatlerinde serada sıcaklığın minimum 15°C'de tutulmak istenmesi ve havalandırma, ısıtma set sıcaklığı arasındaki farkın 2°C olması durumunda gereksinilen ısı enerjisi 272.71 kWh m⁻²a⁻¹ olurken, havalandırma, ısıtma set

sıcaklığı arasındaki farkın 5°C'ye yükselmesi durumunda bu değer 271.75 kWh m⁻²a⁻¹ olmaktadır. Bu durumda tasarruf edilen ısı enerjisi %0.4 olmaktadır. Serada bir günlük sıcaklık toplamına göre yapılan dinamik denetiminde gece saatlerinde serada sıcaklığın minimum 14°C'de tutulmak istenmesi durumunda artan havalandırma, ısıtma set sıcaklığı farkına bağlı olarak tasarruf edilen ısı enerjisi %2.04'e, gece sıcaklığının minimum 13°C'de tutulmak istenmesi durumunda bu değer %4.4'e yükselmektedir.

Çizelge 2. Antalya iklim koşullarında serada sıcaklığın gece/gündüz 16/20°C ve havalandırma sıcaklığının 22°C'de tutulmak istenmesi durumunda statik ve bir günlük sıcaklık toplamına göre farklı havalandırma sıcaklıklarına göre yapılan dinamik denetimde gece ve gündüz gereksinilen ısı enerjisi

Table 2. In the case of keeping the temperature in the greenhouse at 16/20°C day/night and the ventilation temperature at 22°C in Antalya climatic conditions, the heat energy required day and night in dynamic control according to different ventilation temperatures according to the total of static and one-day temperature

Havalandırma Sıcaklığı Ventilation Temperature	Isı Enerjisi Gereksinimi (kWh m ⁻² a ⁻¹) Heat Energy Requirement (kWh m ⁻² a ⁻¹)											
	Statik Denetim (Static Control)						Dinamik Denetim (Dynamic Control)					
	Sabit Gece/Gündüz Fixed Day/Night			Gece En Düşük 15°C Night Minimum 15°C			Gece En Düşük 14°C Night Minimum 14°C			Gece En Düşük 13°C Gece Minimum 13°C		
	Gündüz Day	Gece Night	Toplam Total	Gündüz Day	Gece Night	Toplam Total	Gündüz Day	Gece Night	Toplam Total	Gündüz Day	Gece Night	Toplam Total
22°C	12.82	69.90	82.72	12.82	56.67	69.47	12.82	52.40	65.22	12.82	52.04	64.86
23°C	12.60	69.49	82.08	12.60	55.97	68.56	12.60	47.03	59.62	12.60	44.91	57.50
24°C	12.38	69.09	81.47	12.38	55.60	67.98	12.38	44.02	56.41	12.38	39.73	52.12
25°C	12.19	68.71	80.91	12.19	55.26	67.45	12.19	42.86	55.05	12.19	36.13	48.32

Çizelge 3. Afyonkarahisar iklim koşullarında serada sıcaklığın gece/gündüz 16/20°C ve havalandırma sıcaklığının 22°C'de tutulmak istenmesi durumunda statik ve bir günlük sıcaklık toplamına göre farklı havalandırma sıcaklıklarına göre yapılan dinamik denetimde gece ve gündüz gereksinilen ısı enerjisi

Table 3. In the case of keeping the temperature in the greenhouse at 16 / 20°C day/night and the ventilation temperature at 22°C in Afyonkarahisar climate conditions, the heat energy required day and night in dynamic control according to different ventilation temperatures according to the total of static and one-day temperature

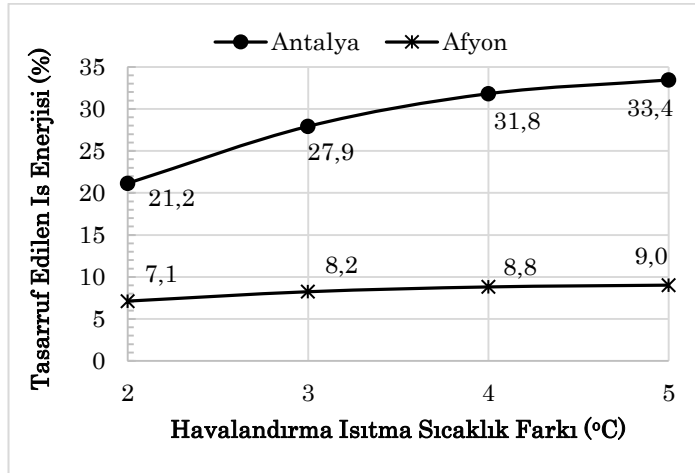
Havalandırma Sıcaklığı Ventilation Temperature	Isı Enerjisi Gereksinimi (kWh m ⁻² a ⁻¹) Heat Energy Requirement (kWh m ⁻² a ⁻¹)											
	Statik Denetim Static Control			Dinamik Denetim Dynamic Control								
	Sabit Gece/Gündüz Fixed Day/Night			Gece En Düşük 15°C Night Minimum 15°C			Gece En Düşük 14°C Night Minimum 14°C			Gece En Düşük 13°C Gece Minimum 13°C		
	Gündüz Day	Gece Night	Toplam Total	Gündüz Day	Gece Night	Toplam Total	Gündüz Day	Gece Night	Toplam Total	Gündüz Day	Gece Night	Toplam Total
22°C	90.79	195.37	286.17	90.79	181.92	272.71	90.79	174.99	265.78	90.79	172.98	263.77
23°C	91.09	195.01	286.10	91.09	180.85	271.94	91.09	171.50	262.59	91.09	166.32	257.41
24°C	91.42	194.65	286.07	91.42	180.31	271.74	91.42	169.53	260.96	91.42	162.78	254.20
25°C	91.78	194.31	286.09	91.78	179.97	271.75	91.78	168.57	260.35	91.78	160.50	252.28

Antalya ve Afyonkarahisar iklim koşullarında gece/gündüz 16/20°C sıcaklık toplamına göre yapılan dinamik kontrolde, serada gece sıcaklığının minimum 14°C'de ve havalandırma sıcaklığının 22°C-25°C arasında tutulması durumunda, statik sıcaklık kontrolüne göre (gece/gündüz 16/20°C, havalandırma

sıcaklığı 22°C) tasarruf edilen ısı enerjisi oranları Şekil 4'te verilmiştir.

Antalya iklim koşullarında serada sıcaklığın gece/gündüz 16/20°C, havalandırma sıcaklığının 22°C'de tutulduğu koşullarda dinamik kontrol

stratejisi ile %21.2 ısı enerjisi tasarrufu sağlanabilirken, havalandırma, ısıtma sıcaklık farkının 5°C'ye yükseltilmesi durumunda bu oran %33.4 olmaktadır. Afyonkarahisar iklim koşullarında ise havalandırma, ısıtma sıcaklık farkının 2°C olduğu koşullarda tasarruf edilen ısı enerjisi %7.1 olurken, havalandırma, ısıtma sıcaklık farkının 5°C olması durumunda bu oran %9.0'a yükselmektedir.



Şekil 4. Antalya ve Afyonkarahisar iklim koşullarında serada farklı havalandırma ısıtma set sıcaklıkları farkına göre yapılan dinamik kontrolle statik kontrole göre tasarruf edilen ısı enerjisi oranları

Figure 4. The rates of heat energy saved in the greenhouse in Antalya and Afyonkarahisar climatic conditions compared to static control by dynamic control based on the difference of different ventilation and heating set temperatures

SONUÇ ve ÖNERİLER

Türkiye'de son yıllarda kurulan ileri teknoloji seralarında düzenli ısıtma yapılmakta ve iç ortam sıcaklıkları statik denetime göre iklim bilgisayarları tarafından kontrol edilerek bitkiler için gerekli konfor ortamı sağlanmaktadır. Ancak seralarda yapılan üretimde artan yakıt giderleri nedeniyle gece saatlerindeki sıcaklıklar aşağı çekilerek ısı tasarrufu sağlanmaya çalışılmaktadır. Bu durumda gece saatlerinde belirli bir dereceye kadar düşürülen sıcaklıkların, gündüz saatlerinde havalandırma sıcaklığı yüksek tutularak üretimdeki kayıpların ortadan kaldırılması dinamik denetim stratejisi ile mümkün olabilmektedir.

Seralarda dinamik kontrol stratejisine göre yapılan sıcaklık denetiminde gece sıcaklığının 13°C'ye düşürülmesi durumunda ılıman iklim bölgelerinde tasarruf edilen ısı enerjisi %40'lara kadar yükselmektedir. Ancak serada gece saatlerinde sıcaklığın alt kritik sıcaklık olan 13°C'ye çekilmesi, yoğunlaşma tehlikesi yaratabilirken, gece gündüz

sıcaklık farkının 12°C'ye yükseltilmesi bitki büyümesinde olumsuzlukların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Goldmeyer, 2019). Belirtilen nedenle Antalya iklim koşullarında dinamik kontrol stratejisine göre serada gece sıcaklığının minimum 14°C'de havalandırma sıcaklığının 22°C'de tutulduğu koşullarda statik kontrol stratejisine göre tasarruf edilen ısı enerjisi %21.2 olmaktadır. Afyonkarahisar iklim koşullarında serada yapılan statik denetime göre dinamik kontrol stratejisiyle tasarruf edilen ısı enerjisi %7.1'dir. Bir günlük toplam sıcaklık stratejisine göre yapılan dinamik denetimde ısı enerjisi tasarrufu, ılıman iklim bölgelerinde daha etkili olmaktadır.

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

- Baille A 1999. Greenhouse structure and equipment for improving crop production in mild winter climates. *Acta Hort.*, 491: 37-47.
- Baytorun AN 2016. Seralar. Sera tipleri, donanımı ve iklimlendirmesi. Nobel yayınevi 415 syf.
- Baytorun AN, Akyüz A, Üstün S, Çaylı A 2017. Antalya İklim Koşullarında Farklı Donanımlara Sahip Seraların Isı Enerjisi Gereksiniminin Belirlenmesi. *Türk Tarım -Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5 (2):144-152
- Baytorun AN 2022. Seralarda iklimlendirme. Nobel yayın evi 490 sayfa.
- Challa H, Heuvelink E, Meeteren U 1995. Crop growth and development. In Spanomitsios (eds). *SEDstructure and environment: Temperature control and energy conservation in a plastic greenhouse*. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 80(3): 251-259.
- Elings A, Kempkes FLK, Kaarsemaker RC, Ruijs MNA, van de Braak NJ, Dueck TA 2005. The energy balance and energy saving measures in greenhouse tomato cultivation. *ISHS Acta Horticulturae*, 691: 67-74.
- Gilli C, Kempkes F, Munoz P, Montero JI, Giuffrida F, Baptista FJ, et al. 2017. Potential of different energy saving strategies in heated greenhouse. In III international symposium on organic greenhouse horticulture, 1164: 467-474.
- Goldmeyer T 2019. *Greenhouse Management. A guide to Operations and Technology*. 406 syf.
- Körner O, Challa H 2003a. Design for an improved temperature integration concept in greenhouse cultivation. *Computers and Electronics in*

- Agriculture, 39(1): 39-59.
- Langton FA, Hamer PJC 2003. Energy efficient production of high-quality ornamental species. Final Report to Defra, Project HH1330.
- Langhans RW, Wolfe M, Albright LD 1985. Use of average night temperatures for plant growth for potential energy savings. *Acta Horticulturae*, 115:31-36.
- Maeritz U 2011. Potential von Energieeinsparungen durch computergestützte Klimastrategien bei Fruchtgemüse unter Glas. Produktion und Kosten im Griff-Energie-Optimierung im Gartenbaubetrieb. Gemüseerzeugerring. Produktionstechnische Beratung.
- Miller WB, Albright LD, Langhans RW 1985. Plant growth under averaged day/night temperatures. In *Symposium greenhouse climate and its control*, 174:313-320.
- Nisen A, Grafiadellis M, Jiménez R, La Malfa G, Martinez-Garcia PF, Monteiro A, Verlodt H, Villele O, Zabeltitz Cv, Denis Jc, Baudoin W, Garnaud Jc 1988. *Cultures protegees en climat mediterranean*. FAO, Rome.
- Rath T 1992. Einsatz wissensbasierter Systeme zur Modellierung und Darstellung von Gartenbautechnischen Fachwissen am Beispiel des hybriden Expertensystems HORTEx. *Gartenbautechnische Informationen*, Heft 34, Institut für Technik im Gartenbau der Universität Hannover.
- Shamim A Md, Guo H, Tanino K 2019. Energy saving techniques for reducing the heating cost of conventional greenhouse. *Biosystems Engineering*, 178:9-33.
- Spanomitsios GK 2001. Temperature control and energy conservation in a plastic greenhouse. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 80(3): 251-259.
- Tantau HJ 1983. *Heizungsanlagen im Gartenbau*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- Tantau HJ 1998. Energy saving potential of greenhouse climate control. *Mathematics and Computers in Simulation*, 48(1): 93-101.
- Teichert A 2006. Zielsetzung Energieeinsparung. Möglichkeiten und technische Maßnahmen in Gewächshausanlagen. *Obst- und Gartenbau. Landinfo 3/2006*
- Zabeltitz Chr 1986. *Gewächshäuser*. Verlag Eugen-Ulmer 1986.

The Effect of Some Meteorological Parameters on Wireless Data Transmission

Celil Serhan TEZCAN^{1*}, Kemal Sulhi GÜNDOĞDU²

¹Bandırma University, Mechatronic Engineering Department, Bandırma, Türkiye, ²Bursa Uludağ University, Agricultural Faculty, Biosystems Engineering Department, Bursa, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-3423-9402>, ²<https://orcid.org/0000-0002-5591-4788>

*: cstezcan@gmail.com

ABSTRACT

It is essential to bring together the data measured in agricultural lands, greenhouses and animal shelters transmit to follow the data online. Wireless and wired systems have advantages and disadvantages. In wired systems, there is a cost of cabling, but data can be transmitted more securely. In wireless systems, system installation is cheap, but there are losses in data transmission. Wireless data transmission carried out in the outdoor environment takes place under surrounding climatic conditions. In this study, the effect of atmospheric meteorological factors on data loss in wireless data transmission system was tried to be determined. For this purpose, the losses that occur during the transfer of the data measured in the greenhouse in Bursa Uludağ University Faculty of Agriculture Research Farm to the office 150 m away are discussed. Temperature, humidity, precipitation, wind speed and atmospheric pressure were used as meteorological parameters, and 4 different frequencies from the civil use frequency range (2420, 2440, 2460 and 2480 Mhz) were used as data transmission frequency. The SPSS package was used for the correlation analysis with the data set. According to the results of the correlation analysis, relative humidity has a statistically significant effect on the data transmission losses at all data transmission frequencies ($p<0.01$). The temperature on the data transmission losses at 2420 and 2480 Mhz frequencies and atmospheric pressure at 2440 and 2480 Mhz frequencies have a statistically significant effect ($p<0.01$). The effect of wind speed on data transmission losses is statistically significant at data transmission frequencies other than 2460 Mhz frequency ($p<0.01$). The precipitation amount has no statistically significant effect on the data transmission losses at all data transmission frequencies.

Biosystems Engineering

Research Article

Article History

Received : 22.05.2021

Accepted : 14.10.2021

Keywords

Wireless data transmission

Meteorology parameters

Data losses

Wireless sensor networks

Greenhouse

Bazı Meteorolojik Parametrelerin Kablosuz Veri İletimi Üzerindeki Etkisi

ÖZET

Tarımsal arazilerde, seralarda ve hayvan barınaklarında ölçülen verilerin bir araya getirilmesi, verilerin online takip edilmesi için esastır. Kablosuz ve kablolu sistemlerin avantajları ve dezavantajları vardır. Kablolu sistemlerde kablolama maliyeti vardır ancak veriler daha güvenli bir şekilde iletilir. Kablosuz sistemlerde sistem kurulumu ucuzdur ancak veri iletiminde kayıplar vardır. Dış ortamda gerçekleştirilen kablosuz veri iletimi, çevre iklim koşullarında gerçekleşir. Bu çalışmada kablosuz veri iletim sisteminde atmosferik meteorolojik faktörlerin veri kaybına etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi araştırma çiftliğinde serada ölçülen verilerin 150 m uzaklıktaki ofise aktarılması sırasında meydana gelen kayıplar tartışılmıştır. Meteorolojik parametreler olarak sıcaklık, nem, yağış, rüzgar hızı ve atmosferik basınç, veri iletim frekansı olarak ise sivil kullanım frekans aralığından (2420, 2440, 2460 ve 2480 Mhz) 4 farklı frekans kullanılmıştır. Veri seti ile korelasyon analizi için

Biyosistem Mühendisliği

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 22.05.2021

Kabul Tarihi : 14.10.2021

Keywords

Kablosuz veri iletimi

Meteoroloji parametreleri

Veri kayıpları

Kablosuz sensör ağları

Sera

SPSS paketi kullanılmıştır. Korelasyon analizi sonuçlarına göre, bağıl nemin tüm veri aktarım frekanslarında veri aktarım kayıpları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p<0.01$). Sıcaklık 2420 ve 2480 Mhz veri iletim frekansında, atmosfer basıncı ise 2440 ve 2480 Mhz veri iletim frekanslarında veri aktarım kayıpları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahiptir ($p<0.01$). Rüzgar hızının veri iletim kayıplarına etkisi 2460 Mhz frekansı dışındaki veri iletim frekanslarında istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.01$). Yağış miktarının tüm veri aktarım frekanslarında veri aktarım kayıpları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı sonucu elde edilmiştir.

Atıf Şekli: Tezcan CS, Gündoğdu KS 2022. Bazı Meteorolojik Parametrelerin Kablosuz Veri İletimi Üzerindeki Etkisi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1127-1133. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.910496>
To Cite : Tezcan CS, Gündoğdu KS 2022. The Effect of Some Meteorological Parameters on Wireless Data Transmission. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1127-1133. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.910496>

INTRODUCTION

Wireless sensor networks can be used indoors as well as outdoors conditions. There are various factors that affect the data transmission of sensor networks. While metal-dense environment in closed environments affects wireless transmission, climate parameters under open-air conditions can influence the quality of data transmission (Bannister et al., 2008). Wireless sensors can be placed in different locations on the open field, anywhere without restrictions. Due to the advantage of wireless transmission, it is possible to transmit data over long distances. However, the variation of atmospheric conditions from location to location may also have an effect on data transmission. Wireless data transmission in outdoor conditions may have an impact on the quality and quantity of data. Significant decreases in system performance may occur (Luomala and Hakala, 2015). It is important to investigate the factors affecting the radio connection quality in order to reduce the effect of atmospheric conditions on wireless transmission and to adapt to changing conditions (Luomala and Hakala, 2015). Climate parameters that can be effective in wireless transmission are parameters such as humidity, temperature, fog, rain and snow. Various researchers have investigated these effects on this subject (Nadeem et al., 2010).

One of the key questions is "How does atmospheric conditions affect the ability of wireless sensor network (WSN) nodes to communicate?". Partial answers to this question can be found in the literature (Marfievici et al., 2013). In some studies, the applicability of knowledge-centered network architecture for wireless sensor devices, its advantages and current shortcomings have been examined by considering the studies in the literature (Eriş and Boluk, 2021).

As a result of researches, it is known that temperature changes affect the performance of wireless sensor networks deployed outside. However,

there are limited studies that reveal the common effect of other climate parameters besides the temperature parameter (Boano et al., 2010).

In this study, it was tried to determine the effects of parameters such as temperature, humidity, precipitation, wind speed and atmospheric pressure on wireless data transmission in open air conditions at 2420, 2440, 2460 and 2480 Mhz frequencies.

MATERIAL and METHODS

This study tried to determine the effect of temperature, humidity, precipitation, wind speed and atmospheric pressure, seasons, months, days and nights, and days of the week (working days and weekend) parameters on data transmission loss at different frequencies. Sensors measuring at different locations within the Uludag University Faculty of Agriculture greenhouse send the data to a collection station located within the greenhouse. Wireless data transmission takes place entirely under atmospheric conditions and the influence of meteorological factors. The hypothesis that meteorological factors may affect the number of data transmitted in wireless data transmission was investigated in the study. If there were no environmental or systemic impact, the hourly data numbers sent from the greenhouse and received by the receiver in the office would be equal. The difference between the number of hourly data transmitted and the number of data acquired will be zero. Many researchers have concluded that atmospheric meteorological conditions have an effect on wireless data transmission (Çaylı and Mercanlı, 2017; Luomala and Hakala, 2015; Wennerström, 2013; Boano et al., 2010).

At the collection station, the Raspberry Pi computer with a time sensor was used. The Raspberry Pi is a "real computer" the size of a credit card. It is used by everyone because of its capacity to do most things a computer can do, its small size and affordable price. The data was saved onto the SD card and sent to the Raspberry Pi computer in the office located 150 m

away with the communication module (nRF24L01). The communication module has a transceiver feature. It is a module with low power consumption that allows you to communicate wirelessly at 2.4GHz frequency. Operating Range (Km) is 1 km with antenna, 100 m without antenna. There was no structure between the greenhouse and the office, data transmission performed under completely open atmosphere conditions (Figure 1). The data received by the Raspberry Pi computer in the office were recorded on the SD card. The frequencies of 2420, 2440, 2460 and 2480 Mhz were used to determine whether different frequencies have an effect on the data transmission. The same data is transmitted at each of these frequencies (Figure 2). Meteorological data were measured at the Turkish State Meteorological Service station within the University and the Agricultural Monitoring and Information System station of the Ministry of Agriculture and Forestry in the University. Temperature, relative humidity, precipitation, wind speed, and atmospheric

pressure values were used as meteorological data. Each meteorological data were divided into class ranges for evaluation easiness (Table 1).

Data measurement and transmission from sensors took place every 5 minutes. To reduce the number of data to be evaluated, the number of data collected hourly was determined. The transmission data obtained from 10 different sensors in the greenhouse was transmitted via a wireless connection. Thus, the data used in the study could be matched with hourly meteorological data. Date and time information obtained from the time sensor used in the system was used in the pairing. The differences between the number of data recorded every hour in the greenhouse and the number of data recorded simultaneously in the office were calculated separately for each transmission frequency. Thus, losses in data transmission were determined on an hourly basis. The study was carried out to cover 12 months in 2016-2017. The SPSS package was used for the correlation analysis with the data set.



Figure 1. The Greenhouse and Office Locations Where the Study was Carried out at Bursa Uludağ University, Faculty of Agriculture

Şekil 1. Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesinde Çalışmanın Yürütüldüğü Sera ve Ofis Konumları

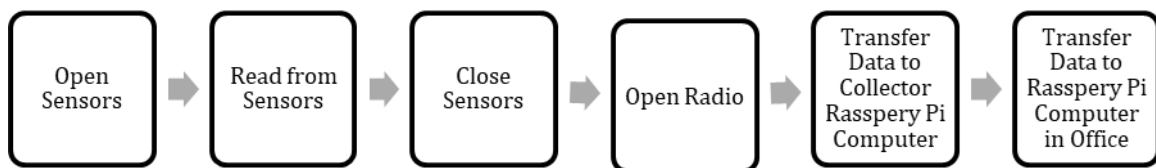


Figure 2. Flowchart for data collect and transfer of data

Şekil 2. Veri toplama ve veri aktarımı için akış şeması

Table 1. Class ranges used for meteorological parameters
Çizelge 1. Meteorolojik parametrelerin sınıflandırması

Classes	Temperature, °C	Atmospheric Pressure, mbar	Wind Velocity, m sn ⁻¹	Precipitation, mm	Relative humidity, %	Season
1	<16	<1012	<3	<1	<60	9.,10. and 11.month
2	16 - 19	1012 – 1013	3 - 6	1 - 3	60 - 70	12.,1. and 2. month
3	19 - 22	1013 – 1014	6 – 9	3 - 4	70 - 80	3.,4. and 5. month
4	22 - 25	>1014	>9	>4	>80	6.,7. and 8. month
5	>25					

RESULTS and DISCUSSION

It was observed that the data set were not homogeneous and incompatible with the normal distribution. Therefore, the spearman distribution option of the SPSS package was used for the correlation analysis with the data set. According to the results of the correlation analysis, relative humidity has a statistically significant effect on the data transmission losses at all data transmission frequencies (p<0.01). The temperature on the data transmission losses at 2420 and 2480 Mhz frequencies and atmospheric pressure at 2440 and 2480 Mhz frequencies have a statistically significant effect (p<0.01). The wind speed has statistically effect on the data transmission losses except at 2460 Mhz frequencies (p<0.01). The precipitation amount has no statistically significant effect on the data transmission losses at all data transmission frequencies.

When data transmission losses are analyzed monthly, data transmission losses differ according to months (p<0.01). This shows that the differences in

meteorological conditions between months are effective in data loss in wireless data transmission. When the losses in data transmission are analyzed on a seasonal basis, it is concluded that the differences in meteorological conditions between seasons have a significant effect on wireless data transmission at all data operating frequencies except the 2460 Mhz frequency (p<0.01). When wireless data loss was compared during the daytime (07:00-18:00) and nighttime (18:00-07:00), significant differences were obtained in all data transmission frequencies (p<0.01). There is statistically significant difference between wireless data transmission losses on working days and holidays except for the 2480 MHz wireless data transmission frequency (p<0.05). With the increase in human traffic in the area where this study is carried out, the wireless data signals of mobile phones, radios and vehicles may increase on working days. Increased wireless traffic may have an impact on wireless data transmission loss. However, no wireless data traffic measurement has been made to test this (Table 2).

Table 2. Correlation Coefficients for Data Transmission Loss between Different Frequency and Other Parameters

Çizelge 2. Farklı Veri İletim Frekansları ile Diğer Parametreler Arasındaki Korelasyon Katsayıları

	Data transmission loss for 2420 Mhz	Data transmission loss for 2440 Mhz	Data transmission loss for 2460 Mhz	Data transmission loss for 2480 Mhz
Months	-.184**	-.284**	-.078**	-.123**
Seasons	.148**	.207**	.006	.149**
Working days and weekend	-.025*	.025*	-.025*	-.002
Day and night	.070**	.084**	.071**	.047**
Temperature	.042**	.005	.001	.082**
Relative Humidity	-.085**	-.105**	-.090**	-.097**
Wind Velocity	.088**	.148**	.023	.085**
Precipitation	-.001	-.021	-.001	-.017
Atmospheric Pressure	-.010	-.045**	.019	-.051**
Temperature Classes	.016	.001	-.008	.056**
Relative Humidity Classes	-.092**	-.109**	-.087**	-.073**
Precipitation Classes	.016	-.005	.019	.001
Wind Velocity Classes	.067**	.148**	-.004	.063**
Atm.Pressure Classes	.011	-.027*	.024*	-.056**

Çaylı and Mercanlı (2017) determined the effect of greenhouse indoor environmental conditions on wireless data transmission performance. Their results showed that high relative humidity had a positive effect on the signal strength, while high temperature had a negative effect on the signal strength. In a study conducted in Sonoran Desert of the southwestern United States, the effect of temperature changes between 25-65 ° C on the Received Signal Strength (RSS) in wireless data transmission was investigated. It has been determined that there is a decrease in RSS with the increase in temperature (Bannister et al., 2008). In another study conducted to determine the effect of both ambient temperature and relative humidity values on the received signal strength, it was concluded that there was an inverse relationship between the temperature and the received signal strength. There was a correct relationship between the relative humidity and the received signal strength. When linear regression analysis was performed with the data power transmitted together with temperature and relative humidity values, it was concluded that the relationship is linear in the months when the temperature is high. There was no linear relationship in the months when the temperature is low (Luomala and Hakala, 2015). In another study, it has been tried to determine the effect of climatic factors on Packet Reception Ratio (PRR) in WSN. As a result of the correlation analysis, an inverse correlation was found between temperature, absolute humidity, sun time, and PRR, the correct correlation between relative humidity, rainfall, and PRR (Wennerström, 2013).

The temperature has been the main focus in past research, but there are discrepancies in the findings. According to the Holland et al. (2006), temperature has no impact on received signal strength indicator. Their view is also shared by Anastasi et al. (2004) do not observe a change in packet receptions over different distances during varying environmental

conditions. In contrast, other studies Bannister et al. (2008) and Boano et al. (2010) show how higher temperature can reduce the received signal strength on a sensor node.

There is no statistically significant relationship between rainfall and data loss in the data transmission in our study. The results obtained from other researchers' studies show (Anastasi et al., 2004) that rain and fog cause a decrease in packet reception ratios. Another research (Boano et al., 2010) shows that rainfall, fog, and snowfall had no severe impact on the received signal strength during non-extreme conditions.

Our study concluded that the effect of daytime and nighttime on data loss in data transmission is statistically significant ($p < 0.01$ level). At the same time, it was concluded that the time of day is statistically significant on data losses ($p < 0.01$ level). In another study (Sun and Cardell-Oliver, 2006) show how PRR fluctuates during daytime and nighttime. Other researchers have also noted that there can be a large variation in the received signal strength and radio link performance during daytime and nighttime (Thelen, 2004).

Wilcoxon Related Two-Sample Tests were conducted to determine whether the amount of data transmission loss in different wireless data transmission frequencies in the same atmospheric conditions is compatible with each other (Table 3). For this purpose, all frequencies were tested in pairs. It was concluded that the data loss amounts at all frequencies were statistically different from each other ($p < 0.01$). When the hourly averages of the data losses in the different frequencies are sorted from lowest to highest, the lowest data loss was obtained at the frequency of 2460 Mhz. The highest data loss was received at the frequency of 2440. Data losses from small to large were 2460, 2420, 2480, and 2440 Mhz, respectively.

Table 3. Wilcoxon 2 related samples test results
 Çizelge 3. Wilcoxon 2 ilişkili örnek test sonuçları

	Test Statistics					
	Loss2440 - Loss2420	Loss2460 - Loss2420	Loss2480 - Loss2420	Loss2460 - Loss2440	Loss2480 - Loss2440	Loss2480 - Loss2460
Z	-12.722 ^b	-3.079 ^c	-4.278 ^b	-20.637 ^c	-4.311 ^c	-10.835 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000	.002	.000	.000	.000	.000
a. Wilcoxon Signed Ranks Test						
b. Based on negative ranks.						
c. Based on positive ranks.						

When the data losses in the classes in Table 1 were evaluated based on the class average the difference

between classes was found to be insignificant statistically. Although the difference between classes

is insignificant, the amount of data loss within the class is given in Table 3 in order from smallest to largest. For example, at 2420 Mhz wireless data transmission frequency, the lowest data loss occurred in the 5th class range at temperature, the highest data loss occurred in the 3rd class range at temperature (Table 4).

The fact that a large number of sensor data has been examined in the study has shown statistically that there is an interaction between data transmission and meteorological parameters. However, the R^2 values of this relationship less than 0.5 may be evidence that

the relationship is not very strong. The results of other researchers' findings that are completely opposite from each other may explain this issue. If the data stack is too large, the result will be statistically more representative of the data mass. However, the large amount of data stack will bring the effects of data fluctuations closer to the average value. This situation will cause the effect of short-term variable data to not be observed. Therefore, a suitable solution would be to reduce the data in the data stack to the minimum size that will represent the stack.

Table 4. The sorted list of class from lowest to highest data loss

Çizelge 4. En düşükten en yüksek veri kaybına kadar sıralanmış sınıf listesi

Classes	2420 Mhz	2440 Mhz	2460 Mhz	2480 Mhz
Temperature	5<1< 4< 2< 3	4< 3< 2< 5< 1	5< 4< 3< 2< 1	2< 1< 4< 3< 5
Humidity	3< 4< 1< 2	3< 2< 4< 1	4< 2< 1< 3	4< 2< 3< 1
Precipitation	4< 1< 2< 3	4< 2< 1< 3	4< 2< 1< 3	4< 1< 2< 3
Wind Speed	4< 3< 1< 2	2< 1< 3< 4	4< 3< 2< 1	2< 1< 3< 4
Atmospheric Pressure	1< 3< 4< 2	1< 3< 4< 2	1< 3< 2< 4	2< 3< 4< 1

CONCLUSIONS

According to the study results, there is a positive relationship between temperature and wind speed values with data losses in the data transmission and a negative relationship between relative humidity values. According to the results of the study, relative humidity has a significant effect on data losses in wireless data transmission at 4 different frequencies (2420, 2440, 2460 and 2460 Mhz). Temperature has no effect on wireless data transmission losses at 2440 and 2460 MHz frequencies. When the temperature, humidity, precipitation, wind speed and pressure factors are evaluated together, 2460 Mhz wireless data transmission frequency can be preferred.

ACKNOWLEDGE

This study was carried out within the project's scope of BAP OUAP (Z) -2015/10, supported by the Scientific Research Projects Unit of Bursa Uludag University. The authors thank the Bursa Uludag University Scientific Research Projects Unit for its support.

Statement Contribution of The Authors

Authors declares the contribution of the authors is equal.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

Anastasi G, Falchi A, Passarella A, Conti M, Gregori

- E 2004. Performance measurements of motes sensor networks. ACM MSWiM 2004 - Proceedings of the Seventh ACM Symposium on Modeling, Analysis and Simulation of Wireless and Mobile Systems, pp. 174–181.
- Bannister K, Giorgetti G, Gupta SK 2008. Wireless sensor networking for hot applications: Effects of temperature on signal strength, data collection and localization. Proceedings of the 5th Workshop on Embedded Networked Sensors, pp 1-5.
- Boano CA, Brown J, He Z, Roedig U, Voigt, T 2010. Low-power radio communication in industrial outdoor deployments: The impact of weather conditions and atex-compliance, Sensor Applications, Experimentation and Logistics, 29: 159-176.
- Çaylı A, Mercanlı AS 2017. The Impact Of Greenhouse Environmental Conditions On The Signal Strength Of Wi-Fi Based Sensor Network, International Journal of Advanced Research, 5(6): 774-781
- Eriş Ç, Boluk P 2021. Nesnelerin İnternetinde Kullanılan Kablosuz Algılayıcı Cihazlar için Bilgi Merkezli Ağ Mimarisinin Uygulanabilirliği Araştırması. European Journal of Science and Technology, 21: 160–171
- Holland MM, Aures RG, Heinzelman WB 2006. Experimental investigation of radio performance in wireless sensor networks. 2nd IEEE Workshop on Wireless Mesh Networks, pp.140-150. <https://doi.org/10.1109/WIMESH.2006.288630>
- Luomala J, Hakala I 2015. Effects of temperature and humidity on radio signal strength in outdoor wireless sensor networks. Proceedings of the 2015

- Federated Conference on Computer Science and Information Systems, FedCSIS 2015. <https://doi.org/10.15439/2015F241>
- Marfievici R, Murphy AL, Picco GP, Ossi F, Cagnacci F 2013. How Environmental Factors Impact Outdoor Wireless Sensor Networks: A Case Study, 2013 IEEE 10th International Conference on Mobile Ad-Hoc and Sensor Systems, 2013, pp. 565-573, doi: <https://doi.org/10.1109/MASS.2013.13>
- Nadeem F, Chessa S, Leitgeb E, Zaman S 2010. The Effects of Weather on the Life Time of Wireless Sensor Networks Using FSO/RF Communication. *Radioengineering* 19(2): 262-270.
- Sun J, Cardell-Oliver R 2006. An experimental evaluation of temporal characteristics of communication links in outdoor sensor networks. *Proc of the ACM Workshop on Real-World Wireless Sensor Networks in Conjunction with ACM MobiSys, ACM REALWSN'06, N/A:73-77.*
- Thelen J 2004. Radio Wave Propagation in Potato Fields. In *Proceedings of the First Workshop on Wireless Network Measurements - WinMee 2005*, pp 1-5.
- Wennerström H 2013. Meteorological Impact and Transmission Errors in Outdoor Wireless Sensor Networks. Division of Computer Systems, Department of Information Technology, PhD Thesis, Uppsala University

Using Gene Expression Programming (GEP) for Modelling the Drying Characteristics of Onion Slices (*Allium Cepa*)

İsmail BOYAR^{1*}, Tuğba KOVACI², Erkan DIKMEN³, Arzu ŞENCAN ŞAHİN⁴

¹Akdeniz University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Machinery and Technologies Engineering, Antalya, Türkiye,

^{2,3,4}Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Technology, Department of Mechanical Engineering, Isparta, Türkiye.

¹<https://orcid.org/0000-0001-6703-6022>, ²<https://orcid.org/0000-0002-0974-1660>, ³<https://orcid.org/0000-0002-6804-8612>

⁴<https://orcid.org/0000-0001-8519-4788>

✉: ismailboyar@akdeniz.edu.tr

ABSTRACT

In this study, the drying properties of onion slices were experimentally investigated under the different drying temperatures of 45, 50, 55, and 60°C for different thicknesses of 2, 3, 4, and 5mm. The drying characteristics of the onion slices were significantly influenced by drying temperature. Thin slices with higher temperature dried in the shortest time while thick slices with low temperature took longer to dry. In modeling drying curves, the moisture ratio values of the onion slices were compared with five models commonly used in the literature. In addition, Gene Expression Programming (GEP) was used to model the drying characteristics of the onion slices, and mathematical formulas were derived to calculate moisture ratio values. The results indicated that the moisture ratio values predicted by all models agreed with the experimental moisture ratio values for onion slice samples at different temperatures. The scientific findings we obtained here showed that *the two model* provided a better simulation of onion slice drying kinetics than other models in different experimental temperature and thickness ranges. Also, the GEP model was able to usefully determine the moisture ratio of onion slices with appropriate accuracy in a shorter time without the need for complicated formulas.

Agricultural Mechanization

Research Article

Article History

Received : 02.06.2021

Accepted : 14.10.2021

Keywords

Onion
Hot air dryer
GEP model

Soğan Dilimlerinin Kuruma Özelliklerinin Modellenmesinde Gen İfade Programlamasının (GEP) Kullanımı (*Allium Cepa*)

ÖZET

Bu çalışmada soğan dilimlerinin kuruma özellikleri 45, 50, 55 ve 60°C farklı kurutma sıcaklıklarında ve 2, 3, 4 ve 5 mm kalınlıklarında deneysel olarak incelenmiştir. Soğan dilimlerinin kuruma özellikleri kurutma sıcaklığından önemli ölçüde etkilenmiştir. Yüksek sıcaklıktaki ince dilimler daha kısa sürede kururken, düşük sıcaklıktaki kalın dilimlerin kuruması daha uzun sürmüştür. Kurutma eğrilerinin modellenmesi için soğan dilimlerinin nem oranı değerleri, literatürde yaygın olarak kullanılan beş model ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca soğan dilimlerinin kurutma özelliklerinin modellenmesi için Gen İfade Programlama (Gene Expression Programming, GEP) kullanılmıştır. Nem oranı değerlerinin hesaplanması için matematiksel formüller çıkarılmıştır. Sonuçların, tüm modeller tarafından tahmin edilen nem oranı değerlerinin, farklı sıcaklıklarda soğan dilimi örnekleri için deneysel nem oranı değerleriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Burada elde ettiğimiz bilimsel bulgular, *two-term model*, farklı deneysel sıcaklık ve kalınlık değerleri aralığında soğan dilimlerinin kurutma kinetiğinin diğerlerine göre daha üstün simülasyonunu sağladığını belirlemiştir. Bununla birlikte, GEP modeli, soğan dilimlerinin nem oranı değerlerinin karmaşık formüllere ihtiyaç duymadan daha kısa sürede ve uygun doğrulukla belirlenmesinde kullanışlı olmuştur.

Tarımsal Mekanizasyon

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 02.06.2021

Kabul Tarihi : 14.10.2021

Anahtar Kelimeler

Soğan
Sıcak hava kurutucu
GEP modeli

Atıf Şekli: Boyar İ, Kovacı T, Dikmen E, Şencan Şahin A 2022. Using of Gene Expression Programming (GEP) for Modelling the Drying Characteristics of Onion Slices (*Allium Cepa*). KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1134-1145. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.946866>

To Cite : Boyar I, Kovacı T, Dikmen E, Sencan Sahin A 2022. Using of Gene Expression Programming (GEP) for Modelling the Drying Characteristics of Onion Slices (*Allium Cepa*). KSU J. Agric Nat 25 (5): 1134-1145. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.946866>

INTRODUCTION

The onion (*Allium cepa L.*) is originated in Central Asia. It belongs to the *Alliaceae* family and is an important commercial crop. The onion is a vegetable with economic and cultural importance in Turkey, where consumption is very common (Candar, 2013). It is used as a vegetable or flavoring (Muhammad et al., 2017). Onions are planted on over 60000 hectares in Turkey, and 2200000 tons are produced annually (TUIK, 2020). Especially when the demand for dehydrated onions is high, there is a need to develop effective and efficient techniques for drying. .

Due to their relatively high moisture content, spring onions have a short shelf life. Dried onion can be consumed in numerous ways such as directly, in drugs and medical treatments, as a spice, as a food additive, or in instant soups or salad dressings. However, it also needs to be noted that the physicochemical properties of the onion may be altered during the drying process (Talens et al., 2017). The drying process can improve the efficiency of packaging, storing, and transporting the product (Sharma et al., 2005 a). Drying is one of the most frequently used techniques for preservation as it can prevent the growth and reproduction of microorganisms (Wang et al., 2017).

Blanco-Cano et al. (2016) conducted the thermogravimetric analysis of the thin-layer drying kinetics of apples. The experimental drying curves obtained were fitted to the Wang-Singh equation, so that the moisture ratio of apples was predicted. Szadzinska et al. (2017) showed that hybrid drying methods considerably shortened drying time, reduced energy consumption, and positively influenced

product quality factors. Rabha et al. (2017) determined the drying characteristics of Ghost Chilli peppers and selected the drying model which best fitted the experimental moisture content data. For their study, the Page and Modified Page models for open sun drying and the Midilli and Kucuk model for the solar dryer drying were found to be suitable. On the other hand, Jafari et al. (2016) used nonlinear regression techniques, fuzzy logic, and artificial neural networks to estimate the dynamic drying behavior of onions.

In this study, a hot air dryer was designed and manufactured for drying onion slices of different thicknesses. Drying experiments were carried out at different thicknesses and temperatures. Drying behaviors were investigated using models commonly used in the literature. In addition, Gene Expression Programming was used to model the drying properties of onion slices. Mathematical formulas were obtained for calculating the moisture ratio values.

MATERIALS and METHODS

Experimental Setup

An experimental hot air dryer was designed and constructed to dry onion slices of different thicknesses at different drying temperatures. Temperature-humidity recording devices were installed in the air inlet and outlet sections of the drying system and also in the sections where the shelves were located. A schematic diagram and photograph of this system are shown in Figure 1. Fresh onions were employed for the tests.

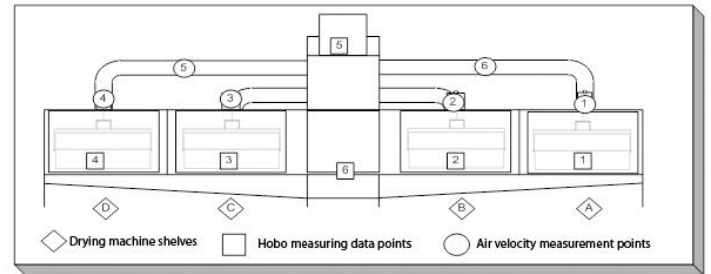


Figure 1. Schematic diagram and photograph of the experimental drying system
Şekil 1. Deneysel kurutma sisteminin şematik diyagramı ve görseli

The mean diameter of the onion rings used in the experiments was 65.55 ± 7.05 mm. The skin of the onions was removed, and they were washed and then cut into slices of 2, 3, 4, and 5mm thickness for the

tests. The sliced onions were placed on sample trays, each containing a weight of 50g (Figure 2). All products were evenly distributed on the shelves.

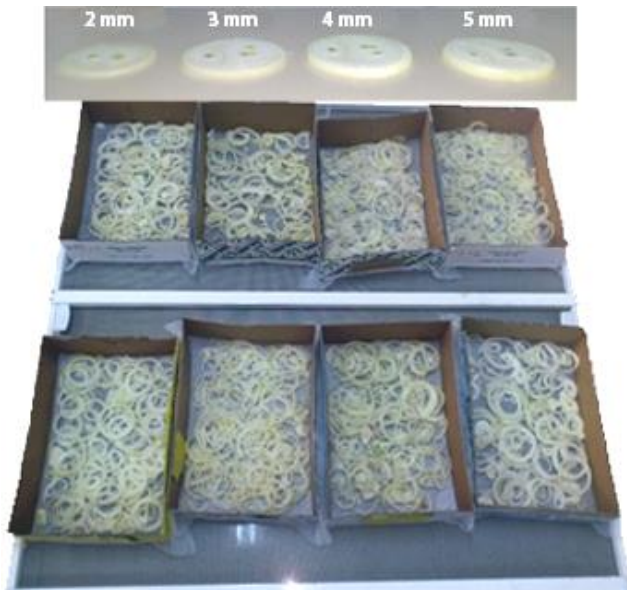


Figure 2. Sliced onions of different thicknesses and the location of samples on trays

Şekil 2. Farklı kalınlıklarda dilimlenmiş soğanlar ve tepsi içerisindeki numune yerleri

The drying experiments were performed at temperatures of 45, 50, 55, and 60°C. After specific trying, the sample trays were set to dry in a controlled manner for periods of 30, 60, 120, 240, and 360 minutes. After drying, the colors of the samples were measured in three reps with the Minolta CR-400 color measuring device. In addition, the color and

odor of the samples were sensorially controlled before and after drying.

Thin Layer Drying Equations

Drying is a complex process associated with the coupled mechanisms of heat and mass transfer. Therefore, it is beneficial to use mathematical equations for the drying characteristics of products. Loss of nutritional value of the dried products must be kept to a minimum. Therefore, modeling is a necessity (Saavedra et al., 2017).

The drying process is described by the moisture ratio (MR), which quantifies the reduction of the moisture content of the product with time. There are many mathematical expressions in the literature to predict the moisture ratio (Saavedra et al., 2017). The MR is defined as:

$$MR = \frac{M - M_e}{M_0 - M_e} \quad (1)$$

where M, M₀, and M_e are the instantaneous moisture content, initial moisture content, and equilibrium moisture content respectively.

It is important to model drying behavior, that is, to investigate the drying characteristics of onions. To determine the best drying model, the experimental moisture content data were compared with the outputs of five thin layer drying models in the literature. The five commonly used thin layer model equations in the literature are given in Table 1 (Dhanushkodi et al., 2017).

Table 1. Equations of thin layer models
 Çizelge 1. İnce tabaka model denklemleri

Model no <i>Model no</i>	Name <i>İsim</i>	Equation <i>Denklem</i>
1	Newton	$MR = \exp(-kt)$
2	Page	$MR = \exp(-kt^n)$
3	Henderson and Pabis	$MR = a \cdot \exp(-kt)$
4	Logarithmic	$MR = a \cdot \exp(-kt) + c$
5	Two-term model	$MR = a \cdot \exp(-k_0t) + b \cdot \exp(-k_1t)$

The appropriate models are qualified by root mean square error (RMSE), coefficient of determination (R²), and reduced chi-square. These parameters can be calculated as follows (Mitra et al., 2011; Avhad and Marchetti, 2016; Jiang et al., 2017):

$$R^2 = \frac{SSTotal - SSEError}{SSTotal} \quad (2)$$

Where

$$SSTotal = \sum_{i=1}^n (MR_{exp,i} - MR_{avg})^2 \quad (3)$$

$$SSEError = \sum_{i=1}^n (MR_{exp,i} - MR_{pred,i})^2 \quad (4)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (MR_{exp,i} - MR_{pred,i})^2}{N}} \quad (5)$$

$$chi - square = \frac{\sum_{i=1}^n (MR_{exp,i} - MR_{pred,i})^2}{N - z} \quad (6)$$

and MR_{exp} is the experimental moisture ratio, MR_{pred}

is the predicted moisture ratio, MR_{avg} is the average value of moisture ratio, N is the number of observations and z is the number of constants in the model.

GEP Model Application

Gene Expression Programming (GEP) is an evolutionary algorithm (EA). It can emulate biological evolution based on computer programming. GEP belongs to the wider class of genetic algorithms. The important difference between GEP and other EAs is the form of the solution provided. GEP has the ability to provide a reasonably succinct solution to a given situation. GEP, a computer software program, is encoded by one or more genes. GEP uses

characteristic linear chromosomes. The chromosomes consist of a random combination of terminals and functions (Ferreira, 2001; Ferreira, 2006). Figure 3 shows a brief flowchart of GEP.

In this study, the GEP algorithm was used to estimate the moisture ratio of onion slices of different thicknesses. Moisture ratio values depending on drying air temperature (T), drying time (t) and the thickness of the onion slices (s) were estimated. The optimal GEP parameters for estimating the moisture ratio of the onion slices are shown in Table 2.

RESULTS and DISCUSSION

The model which best describes the drying curve of a thin layer of onion slices was evaluated by comparing the predicted MR with the experimentally observed MR in the hot air dryer.

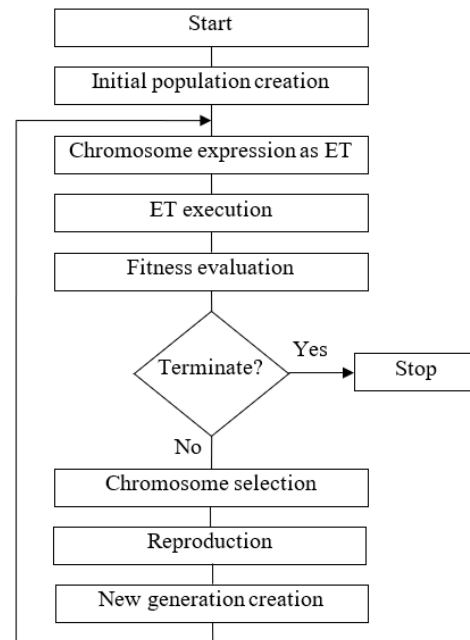


Figure 3. Flowchart of GEP algorithm (Das et al., 2019)

Şekil 3. GEP algoritmasının akış şeması (Das et al., 2019)

Table 2. Parameters used in the GEP model

Çizelge 2. GEP modelinde kullanılan parametreler

Parameters of the GEP model <i>GEP modeli parametreleri</i>	Moisture Ratio (MR) <i>Nem Oranı</i>
Number of generations	396364
Number of chromosomes	30
Number of genes	3
Head size	7
Linking function	Addition
Mutation rate	0.0020
Inversion rate	0.005
One-point combination rate	0.005
Two-point combination rate	0.005
Gene combination rate	0.002
Gene transposition rate	0.002
Function set	+ , - , * , / , power, √ , ln , log , sin , cos , tan , sinh , cosh , tanh , 10 ^x , e ^x , 1/x , (1-x)
R ²	0.9905

Experimental Approach – Drying Characteristics

In the experimental part of the study, the onions were dried in a drier with a shelf-type system. To minimize the loss of the aroma, taste, and odor of the onions, it was decided to keep the drying parameters at low temperatures. After the drying process, an average of 12-15% dry matter was obtained from the onion. Experimental results showed that the dried onions had a good color and odor.

The variation of the moisture ratio of the onion slices with time for the different thicknesses and drying temperatures are plotted in Figures 4-7. The general result showed that the moisture ratio decreased as the drying time increased.

The drying temperature has a considerable impact on

the drying properties of the onion slices. The results showed that the moisture content decreased by 90% in a drying time in the range of 240-360 min, after which the drying rate slowed down. Similar behaviors also have been observed in many foodstuffs such as Shiitake mushrooms and Jinda chilis (Artnaseaw et al., 2010), apples (Aktaş et al., 2009), and onion slices (Sarsavadia et al., 1999; Praveen Kumar et al., 2005; Sharma et al., 2005 a).

The thinner slice samples dried faster than the others, because of faster transfer from the surface. Similar results were reported for banana slices by Samadi et al. (2014).

Power Consumption

The variation in the total electricity consumption in the drying process according to the drying temperature is shown in Figure 8. As the drying temperature decreases, the drying time increases and the heat loss in the dryer increases. Accordingly, the energy consumption of the fan and heaters also

increases. It was found that the greatest power consumption occurred with a temperature of 45°C. It was determined that to make it more profitable in terms of cost, the system should be set to a drying temperature of 60°C, as long as this was appropriate for the ambient conditions and the machine.

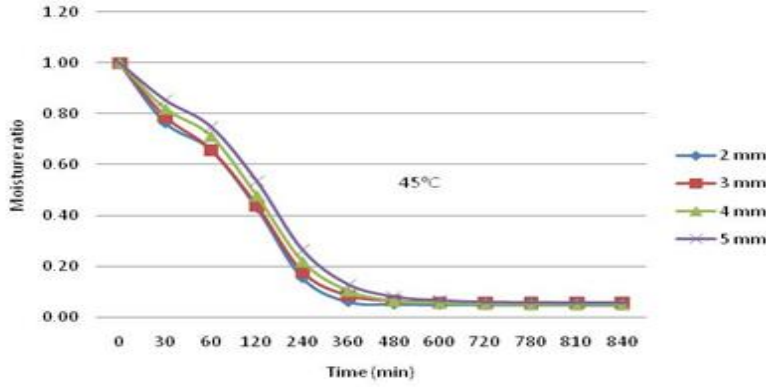


Figure 4. Effect of thickness on drying time for onion slices at 45°C drying temperature
Şekil 4. Soğan diliminin 45°C kuruma sıcaklığında kuruma süresine kalınlığının etkisi

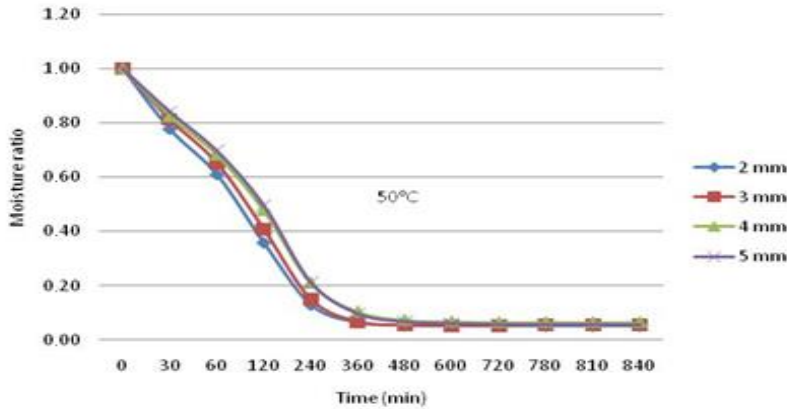


Figure 5. Effect of thickness on drying time for onion slices at 50°C drying temperature
Şekil 5. Soğan diliminin 50°C kuruma sıcaklığında kuruma süresine kalınlığının etkisi

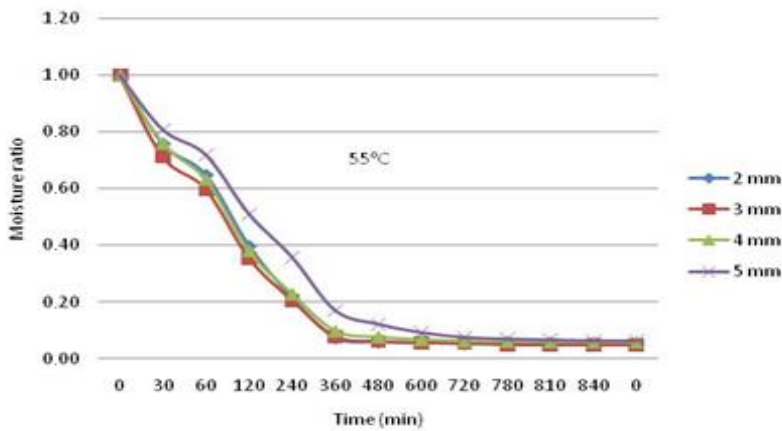


Figure 6. Effect of thickness on drying time for onion slices at 55°C drying temperature
Şekil 6. Soğan diliminin 55°C kuruma sıcaklığında kuruma süresine kalınlığının etkisi

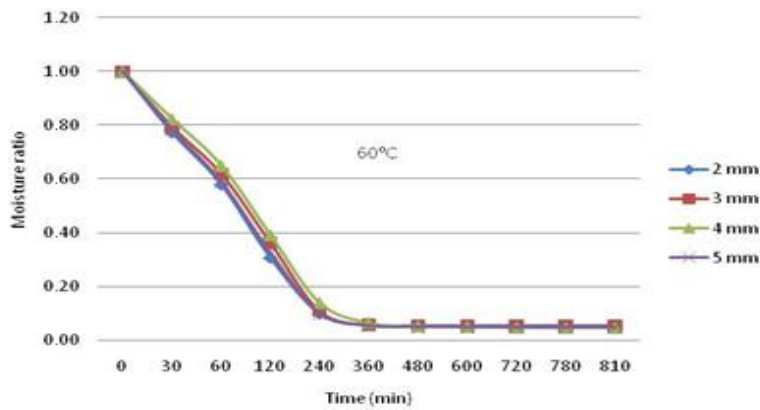


Figure 7. Effect of thickness on drying time for onion slices at 60°C drying temperature
 Şekil 7. Soğan diliminin 60°C kuruma sıcaklığında kuruma süresine kalınlığının etkisi

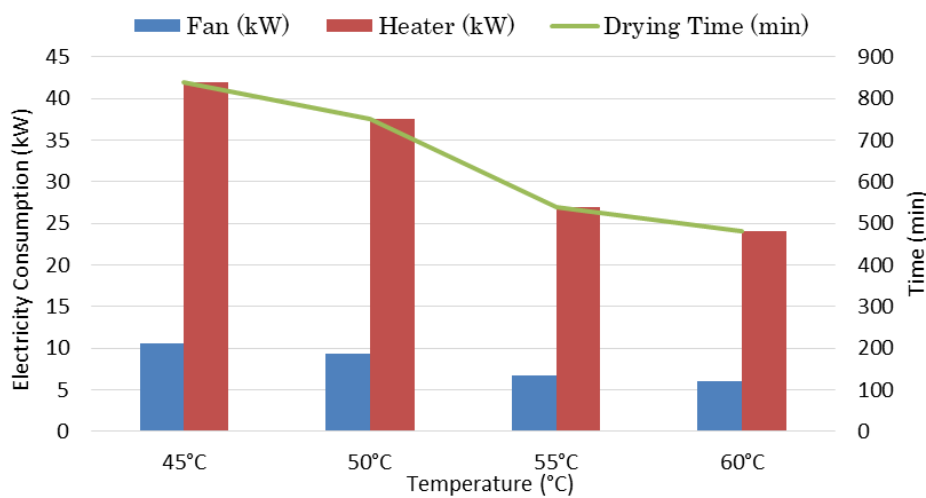


Figure 8. Total electricity consumption (kW)
 Şekil 8. Toplam elektrik tüketimi (kW)

Theoretical Approach – Modeling of Drying Curves

More accurate modeling of the drying conduct of onion slices is essential for the study of drying kinetics. Thin-layer drying models such as the Newton, Page, Henderson and Pabis, Logarithmic, and Two-term models are commonly used to describe the drying characteristics of foodstuff. Five different equations were used to simulate the curve fitting of the experimental data. The statistical results of the models tested are given in Tables 3-6.

In order to accurately define the drying treatment of onion slices, five mathematical models were compared according to their R^2 , RMSE and chi-square deviations. The resulting mathematical model provided values of R^2 varying from 0.97249 to 0.99685 for onion slice samples, and the RMSE values of onion slices ranged from 0.00810 to 0.00238 at different temperatures. chi-square values were found to vary from 0.00010 to 0.00001 for onion slice samples at different temperatures. The constants and coefficients of the two-term drying model with the highest R^2 and lowest RMSE gave better fits than the others

($R^2=0.99685$, RMSE=0.00238, chi-square=0.00001).

The predicted moisture ratio values were compared with the two-term version and the experimental moisture ratio values of onion slices at different drying temperatures. As seen in Figures 9, it was found that the predictions made by the two-term model were in good agreement with the experimental data. The points are located on a 45-degree slope line and deserve a very high correlation rate ($R^2 > 0.99$). Therefore, it can be concluded that the two-term model are suitable for predicting the moisture ratio of onions. Similar results were reported by Sharma et al. (2005 b).

GEP Model Approach

Thin layer drying models, the Newton, Page, Henderson and Pabis, Logarithmic, and Two-term models, were used to determine the drying behavior of onion slices. In addition, the GEP model was used. The mathematical formulations obtained from the GEP model for the moisture ratio values of onion slices were presented as follows:

$$MR = (0.8869^{0.5758t} + (2.7861 - s))^{0.25} + \tanh\left(\frac{1}{s}\left(\frac{-10.7767}{t} - (s + 5.7877)\right)\right) + \tanh(2.2443t) + \frac{10.4754}{T} + 0.1830 \quad (7)$$

The regression curve of the moisture ratio of onion slices for the test data set is shown in Figure 10. As seen in Fig. 10, the correlation coefficient obtained for the moisture ratio value of onion slices is 0.9905. The obtained results show that the GEP model exhibits a successful performance for predicting the moisture ratio values of onion slices.

The statistical results of the GEP model compared with thin layer drying models are given in Tables 3-6. GEP model can be an appropriate approach for predicting of the moisture ratio values of onion slices according to given results in Table 3-6. The formulas obtained from the GEP model are relatively short and simple. Also, no software is required for these formulas.

In recent years, evolutionary algorithms have received a great deal of attention for its wide applications. In particular, the gene expression programming (GEP) is acknowledged as a powerful and problem-independent algorithm for multivariate optimization. GEP outperform considerably existing adaptive algorithms. Therefore, GEP offers new possibilities for solving more complex technological and scientific problems.

However, GEP has also been shown to have certain disadvantages, such as slow convergence and low solution accuracy, particularly for problems with a high-dimensional and large space (Ferreira, 2001; Yang and Ma, 2016).

Table 3. Constants and performance evaluation obtained from drying models for different thicknesses of onion slices (for the drying temperature T=45°C)

Çizelge 3. Farklı soğan dilimleri kalınlıkları için kurutma modellerinden elde edilen sabitler ve performans değerlendirmesi (kurutma sıcaklığı T=45°C için)

Model	Thickness (mm)	Constant	R ²	RMSE	Chi-square
Model	Kalınlık (mm)	Sabit			
Newton	2	k=0.00725	0.97848	0.00886	0.000105
	3	k=0.00681	0.97425	0.00881	0.000124
	4	k=0.00595	0.98289	0.00737	7.77E-05
	5	k=0.00515	0.97377	0.00695	7.57E-05
Page	2	k=0.010992, n=0.913243	0.97521	0.008620	0.000103
	3	k=0.012859, n=0.868986	0.97070	0.008055	9.63E-05
	4	k=0.008315, n=0.933585	0.97888	0.006901	6.95E-05
	5	k=0.006395, n=0.958419	0.98804	0.007101	7.19E-05
Henderson and Pabis	2	k=0.007079, a=0.984538	0.97808	0.008757	0.000110
	3	k=0.006617, a=0.982114	0.97385	0.008548	0.000130
	4	k=0.005890, a=0.992823	0.98213	0.007323	8.42E-05
	5	k=0.005143, a=0.999507	0.98731	0.006928	8.56E-05
Logarithmic	2	a=0.958955, k=0.008018 c=0.039294	0.99094	0.004683	0.000036
	3	a=0.951537, k=0.007833 c=0.050083	0.99512	0.003082	0.000015
	4	a=0.968114, k=0.006765 c=0.040892	0.99645	0.003052	0.000016
	5	a=0.974155, k=0.005946 c=0.042336	0.99428	0.003476	0.000021
Two-term model	2	a=0.005247, k ₀ =-0.002763 b=0.987925, k ₁ = 0.007469	0.99430	0.003796	0.000025
	3	a=0.013547, k ₀ =-0.001784 b=0.983204, k ₁ = 0.007297	0.99737	0.002300	0.000009
	4	a=0.999274, k ₀ = 0.006290 b=0.004665, k ₁ =-0.002867	0.99810	0.002102	0.000009
	5	a=1.009025, k ₀ = 0.005481 b=0.002044, k ₁ =-0.003910	0.99615	0.002467	0.000011
GEP model	2		0.9956	0.017578	0.00038
	3		0.9963	0.015769	0.00030
	4		0.9935	0.021605	0.00056
	5		0.9860	0.330880	0.00130

Table 4. Constants and performance evaluation obtained from drying models for different thicknesses of onion slices (for the drying temperature T=50°C)

Çizelge 4. Farklı soğan dilimleri kalınlıkları için kurutma modellerinden elde edilen sabitler ve performans değerlendirmesi (kurutma sıcaklığı T=50°C için)

Model <i>Model</i>	Thickness (mm) <i>Kalınlık (mm)</i>	Constant <i>Sabit</i>	R ²	RMSE	Chi-square
Newton	2	k=0.008176	0.974755	0.00796	9.56E-05
	3	k=0.007174	0.976623	0.00791	9.51E-05
	4	k=0.006005	0.984741	0.00755	8.26E-05
	5	k=0.005902	0.982375	0.00602	5.51E-05
Page	2	k=0.013682, n=0.889044	0.984070	0.007779	7.50E-05
	3	k=0.009888, n=0.933129	0.983190	0.007870	8.03E-05
	4	k=0.009966, n=0.900884	0.990920	0.005659	4.80E-05
	5	k=0.007389, n=0.956211	0.991870	0.005500	4.43E-05
Henderson and Pabis	2	k=0.008071, a=0.991641	0.974283	0.007807	0.000103
	3	k=0.007159, a=0.998637	0.976552	0.007942	0.000104
	4	k=0.005872, a=0.984890	0.978333	0.007100	8.35E-05
	5	k=0.005880, a=0.997349	0.990629	0.005736	5.70E-05
Logarithmic	2	a=0.965689, k=0.009336 c=0.043305	0.997867	0.001941	0.000008
	3	a=0.974102, k=0.008311 c=0.042865	0.994613	0.003299	0.000019
	4	a=0.960567, k=0.007040 c=0.047217	0.995786	0.002460	0.000011
	5	a=0.977893, k=0.006703 c=0.035726	0.993131	0.003165	0.000018
Two-term model	2	a=0.994563, k ₀ = 0.008784 b=0.010529, k ₁ =-0.002348	0.999100	0.001292	0.000003
	3	a=1.008742, k ₀ = 0.007674 b=0.002900, k ₁ =-0.004380	0.997850	0.002008	0.000007
	4	a=0.998737, k ₀ = 0.006472 b=0.003716, k ₁ =-0.003969	0.998140	0.001385	0.000004
	5	a=0.000935, k ₀ =-0.005713 b=1.008215, k ₁ = 0.006252	0.998250	0.001892	0.000009
GEP model	2		0.9983	0.011005	0.00015
	3		0.9988	0.009962	0.00012
	4		0.9980	0.012880	0.00020
	5		0.9974	0.016340	0.00033

CONCLUSION

The results showed that the drying characteristics of the onion slices were significantly influenced by drying temperature. As the drying time increased, the moisture ratio decreased. The thinner slice samples dried faster than the others, because of faster transfer from the surface. It was found that the greatest power consumption occurred at a temperature of 45°C. For the models of drying curves, the moisture ratio values of the onion slices at the different drying temperatures were compared with five commonly used models. The results indicated that the predicted moisture ratio values in all models were in accord with the experimental moisture ratio values. In addition, the GEP model for predicting the moisture ratio values of onion slices was used. Mathematical formulas were derived for the calculation of moisture ratio values. It was proved that both traditional methods and GEP modeling methods could predict

the drying characteristics of onion slices. Generally, the scientific findings obtained here showed that the two-term model provided a simulation which was slightly superior to the other models for determining the drying characteristics of onion slices. However, the GEP model helped to determine the moisture ratio of the onion slices with acceptable accuracy in a shorter time, without the need for complicated formulas.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are grateful to the Scientific and Technical Research Council of Turkey for their funding of this work (TUBITAK 2209-2012/1).

Researchers' Contribution Rate Statement Summary

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

Table 5. Constants and performance evaluation obtained from drying models for different thicknesses of onion slices (for the drying temperature $T=55^{\circ}\text{C}$)

Çizelge 5. Farklı soğan dilimleri kalınlıkları için kurutma modellerinden elde edilen sabitler ve performans değerlendirmesi (kurutma sıcaklığı $T=55^{\circ}\text{C}$ için)

Model <i>Model</i>	Thickness (mm) <i>Kalınlık (mm)</i>	Constant <i>Sabit</i>	R^2	RMSE	Chi-square
Newton	2	k=0.007074	0.972680	0.009130	0.000107
	3	k=0.007976	0.958219	0.011460	0.000158
	4	k=0.006973	0.943355	0.012030	0.000166
	5	k=0.004789	0.985840	0.007580	0.000080
Page	2	k=0.015701, n=0.837859	0.987220	0.005464	4.47E-05
	3	k=0.025714, n=0.755256	0.993190	0.003859	2.23E-05
	4	k=0.020517, n=0.781481	0.991110	0.004810	3.39E-05
	5	k=0.010371, n=0.860207	0.996000	0.002651	1.23E-05
Henderson and Pabis	2	k=0.006692, a=0.965346	0.975704	0.007953	8.88E-05
	3	k=0.007242, a=0.945176	0.958034	0.009887	0.000128
	4	k=0.006416, a=0.951722	0.972546	0.009081	0.000116
	5	k=0.004513, a=0.955225	0.99061	0.005079	4.02E-05
Logarithmic	2	a=0.943625, k=0.007933 c=0.043310	0.997134	0.002749	0.000017
	3	a=0.921668, k=0.008969 c=0.051337	0.997608	0.002402	0.000019
	4	a=0.926298, k=0.008247 c=0.058586	0.995637	0.001986	0.000010
	5	a=0.934279, k=0.005177 c=0.036525	0.996887	0.002345	0.000016
Two-term model	2	a=0.021898, k ₀ =-0.001079 b=0.962831, k ₁ =0.007651	0.99758	0.002237	0.000021
	3	a=0.322836, k ₀ =0.003146 b=0.665809, k ₁ =0.012985	0.99450	0.003858	0.000030
	4	a=0.795203, k ₀ =0.009916 b=0.198116, k ₁ =0.001975	0.99534	0.002810	0.000020
	5	a=0.864451, k ₀ =0.004087 b=0.133904, k ₁ =0.030248	0.99424	0.003082	0.000025
GEP model	2		0.9975	0.021340	0.00059
	3		0.9971	0.015550	0.00031
	4		0.9962	0.020270	0.00053
	5		0.9916	0.037920	0.00185

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

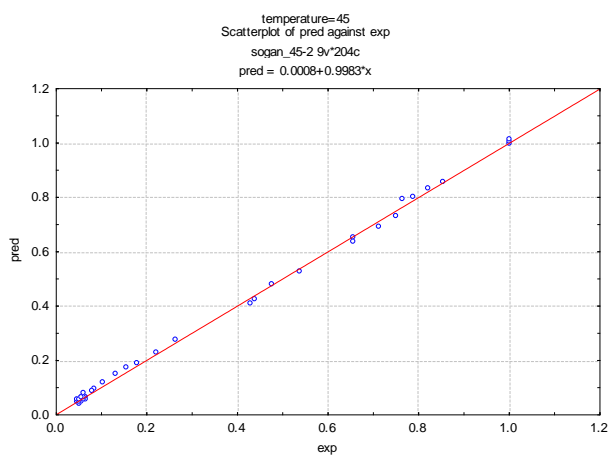
LITERATURE CITED

- Aktaş M, Ceylan İ, Yılmaz S 2009. Determination of Drying Characteristics of Apples in a Heat Pump and Solar Dryer. *Desalination* (239)1-3: 266-275.
- Artnaseaw A, Theerakulpisut S, Benjapiyaporn C 2010. Drying Characteristics of Shiitake Mushroom and Jinda Chili During Vacuum Heat Pump Drying. *Food and Bioproducts Processing* 88(2): 105-114.
- Avhad MR, Marchetti JM 2016. Mathematical Modelling of The Drying Kinetics of Hass Avocado Seeds. *Industrial Crops and Products* 91: 76-87.
- Blanco-Cano L, Soria-Verdugo A, Garcia-Gutierrez LM, Ruiz-Rivas U 2016. Modeling the Thin-Layer Drying Process of Granny Smith Apples: Application in an Indirect Solar Dryer. *Applied Thermal Engineering* 108: 1086-1094.
- Candar A 2013. Soğan (*Allium cepa* L.) tohumu üretiminde kullanılan baş soğanların farklı dikim sistemlerinin tohum verimine etkileri. Uludağ University Institute of Science Horticulture Department, Master's thesis, 38 p.
- Das BS, Devi K, Khatua KK 2019. Prediction of discharge in converging and diverging compound channel by gene expression programming. *ISH Journal of Hydraulic Engineering* 1-11.
- Dhanushkodi S, Wilson VH, Sudhakar K 2017. Mathematical Modeling of Drying Behavior of Cashew in a Solar Biomass Hybrid Dryer. *Resource-Efficient Technologies* 2017(3): 359-364.

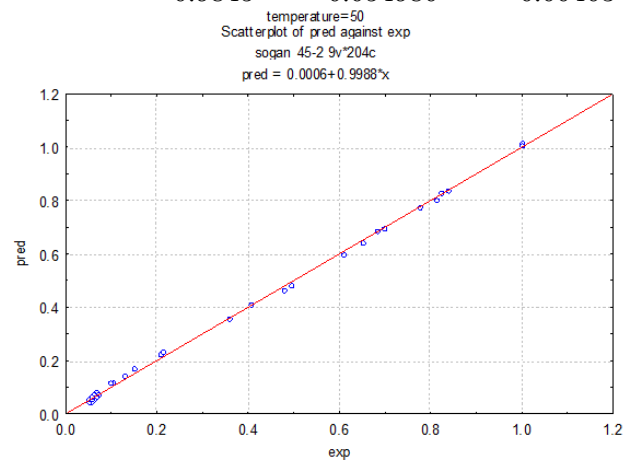
Table 6. Constants and performance evaluation obtained from drying models for different thicknesses of onion slices (for the drying temperature T=60°C)

Çizelge 6. Farklı soğan dilimleri kalınlıkları için kurutma modellerinden elde edilen sabitler ve performans değerlendirmesi (kurutma sıcaklığı T=60°C için)

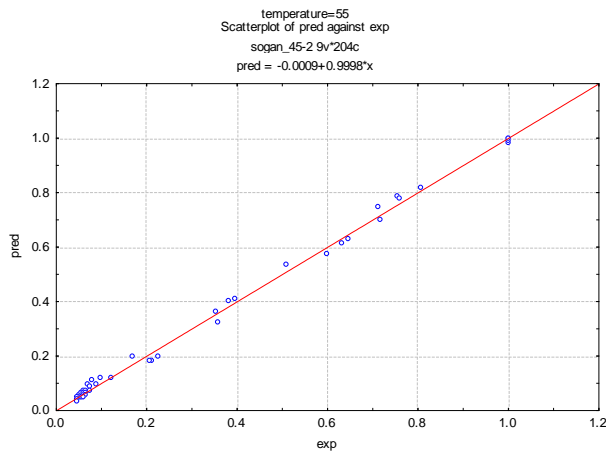
Model Model	Thickness (mm) Kalınlık (mm)	Constant Sabit	R ²	RMSE	Chi-square
Newton	2	k=0.009001	0.980040	0.008390	0.000100
	3	k=0.008064	0.981980	0.006760	0.000070
	4	k=0.007390	0.988580	0.005560	0.000040
	5	k=0.008766	0.986550	0.007220	0.000070
Page	2	k=0.013210, n=0.916019	0.984180	0.007860	8.23E-05
	3	k=0.009646, n=0.962240	0.981890	0.006859	6.49E-05
	4	k=0.007241, n=1.004152	0.995110	0.005128	3.64E-05
	5	k=0.010793, n=0.954911	0.987680	0.006974	6.57E-05
Henderson and Pabis	2	k=0.008974, a=0.998032	0.980134	0.008397	0.000112
	3	k=0.008077, a=1.001179	0.985761	0.006953	8.06E-05
	4	k=0.007484, a=1.009489	0.989239	0.005336	4.29E-05
	5	k=0.008795, a=1.002264	0.986519	0.007213	7.94E-05
Logarithmic	2	a=0.973737, k=0.010403 c=0.042509	0.997196	0.003092	0.000017
	3	a=0.982438, k=0.009118 c=0.033940	0.995270	0.003394	0.000024
	4	a=0.996008, k=0.008167 c=0.024475	0.996482	0.003202	0.000018
	5	a=0.982554, k=0.009904 c=0.034372	0.993543	0.003055	0.000017
Two-term model	2	a=1.007543, k ₀ =0.009720 b=0.004920, k ₁ =-0.004491	0.99894	0.002105	0.000009
	3	a=0.000982, k ₀ =-0.007267 b=1.011726, k ₁ =0.008561	0.99762	0.002277	0.000012
	4	a=1.017487, k ₀ =0.007799 b=0.000309, k ₁ =-0.008854	0.99771	0.002298	0.000011
	5	a=0.002310, k ₀ =-0.005595 b=1.011160, k ₁ =0.009331	0.99437	0.002220	0.000009
GEP model	2		0.9853	0.034380	0.00158
	3		0.9855	0.035180	0.00165
	4		0.9846	0.039840	0.00212
	5		0.9845	0.054980	0.00403



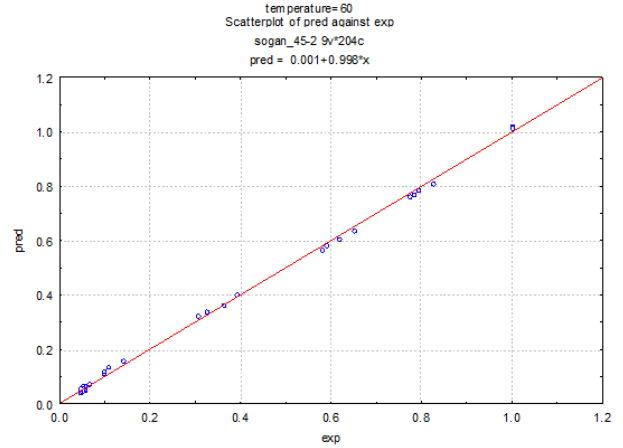
45°C drying temperature
 45°C kurutma sıcaklığı



50°C drying temperature
 50°C kurutma sıcaklığı



55°C drying temperature
55°C kurutma sıcaklığı



60°C drying temperature
60°C kurutma sıcaklığı

Figure 9. Comparison of experimental and predicted MR values of onion slices of different thicknesses for the two-term model

Şekil 9. Two-term model için farklı kalınlıktaki soğan dilimlerinin deneysel ve tahmini MR değerlerinin karşılaştırılması

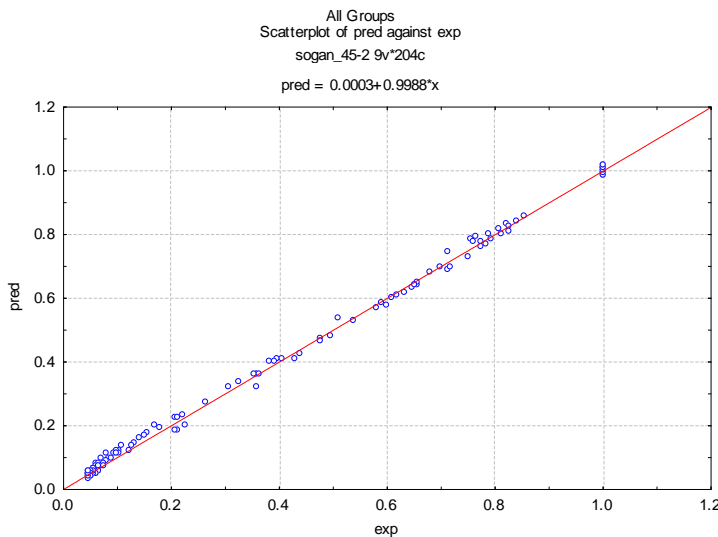


Figure 10. The regression curve of the moisture ratio of onion slices

Şekil 10. Soğan dilimlerinin nem oranının regresyon eğrisi

Ferreira C 2001. Gene Expression Programming: A New Adaptive Algorithm for Solving Problems, Complex Systems 13(2): 87-129.
Ferreira C 2006. Gene Expression Programming: Mathematical Modeling by an Artificial Intelligence. Springer, Switzerland, 59.
Jafari SM, Ganje M, Dehnad D, Ghanbari V 2016. Mathematical, Fuzzy Logic and Artificial Neural Network Modeling Techniques to Predict Drying Kinetics of Onion. Journal of Food Processing and Preservation 40(2): 329-339.
Jiang J, Dang L, Yuensin C, Tan H, Pan B, Wei H 2017. Simulation of Microwave Thin Layer Drying Process by a New Theoretical Model. Chemical

Engineering Science 162: 69-76.
Mitra J, Shrivastava SL, Rao PS 2011. Vacuum Dehydration Kinetics of Onion Slices. Food and bioproducts processing 89(1): 1-9.
Muhammad T, Amjad M, Ali M, Hanif M, Hussein MAM, Haseeb A, Noor A 2017. Seedling Age and Nitrogen Level Enhance Vegetative Growth and Yield of Onion (Allium Cepa). Int. J. Agri and Env. Res 3(2): 232-239.
Praveen Kumar DG, Umesh Hebbar H, Sukumar D, Ramesh MN 2005. Infrared and Hot-Air Drying of Onions. Journal of Food Processing and Preservation, 29(2): 132-150.
Rabha DK, Muthukumar P, Somayaji C 2017.

- Experimental Investigation of Thin Layer Drying Kinetics of Ghost Chilli Pepper (*Capsicum Chinense* Jacq.) Dried in a Forced Convection Solar Tunnel Dryer. *Renewable Energy* 105: 583-589.
- Saavedra J, Córdova A, Navarro R, Díaz-Calderón P, Fuentealba C, Astudillo-Castro C, Galvez L 2017. Industrial Avocado Waste: Functional Compounds Preservation by Convective Drying Process. *Journal of Food Engineering* 198: 81-90.
- Samadi SH, Ghobadian B, Najafi G, Motevali A 2014. Potential Saving in Energy Using Combined Heat and Power Technology for Drying Agricultural Products (Banana Slices). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 13(2): 174-182.
- Sarsavadia PN, Sawhney RL, Pangavhane DR, Singh SP 1999. Drying Behaviour of Brined Onion Slices. *Journal of Food Engineering* 40(3): 219-226.
- Sharma GP, Verma RC, Pathare PB 2005(a). Mathematical Modeling of Infrared Radiation Thin Layer Drying of Onion Slices. *Journal of food engineering* 71(3): 282-286.
- Sharma GP, Verma RC, Pathare PB 2005(b). Thin-Layer Infrared Radiation Drying of Onion Slices. *Journal of Food Engineering* 67(3): 361-366.
- Szadzińska J, Lechtańska J, Kowalski SJ, Stasiak M 2017. The Effect of High Power Airborne Ultrasound and Microwaves on Convective Drying Effectiveness and Quality of Green Pepper. *Ultrasonics sonochemistry* 34: 531-539.
- Talens C, Arbolea JC, Castro-Giraldez M, Fito PJ 2017. Effect of Microwave Power Coupled With Hot Air Drying on Process Efficiency and Physico-Chemical Properties of a New Dietary Fibre Ingredient Obtained From Orange Peel. *LWT-Food Science and Technology* 77: 110-118.
- TÜİK 2020. <http://www.tuik.gov.tr> (Available Date: 05.05.2021).
- Wang J, Fang XM, Mujumdar AS, Qian JY, Zhang Q, Yang XH, Xiao HW 2017. Effect of High-Humidity Hot Air Impingement Blanching (HHAIB) on Drying and Quality of Red Pepper (*Capsicum Annuum* L.). *Food chemistry* 220: 145-152.
- Yang J, Ma J 2016. A hybrid gene expression programming algorithm based on orthogonal design. *International Journal of Computational Intelligence Systems* 9(4): 778-787.

Kastamonu'da Yetiştirilen Ala Erik ile Ala Erikten Elde Edilen Üryani Eriğinin Toplam Antioksidan Aktivite, Toplam Fenolik Bileşik ve Toplam Flavonoid Madde İçeriklerinin Karşılaştırılması

Deren TAHMAS KAHYAOĞLU[✉]

Kastamonu Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Kastamonu
https://orcid.org/0000-0001-5863-1452
✉: dtkahyaoglu@kastamonu.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada Kastamonu ilinin Daday ilçesinin 6 farklı bölgesinden Ala erikler temin edilmiş, bu Ala eriklerin kabuklarının soyularak kurutulmasıyla da Üryani erikler elde edilmiştir. Erik örneklerinde nem, kurumadde, pH ve titrasyon asitliği değerleri belirlenmiş ve toplam antioksidan aktivite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde içerikleri karşılaştırılmıştır. Ala eriklerin nem, kurumadde, pH ve titrasyon asitliği ortalama değerleri sırasıyla %80.24±1,19; %19.76±1,20; 3.80±0,09; %0.61±0,08 olarak tespit edilmiştir. Ala eriklerin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı ortalama değerleri sırasıyla 3.26±0.63 mg askorbik asit eşdeğeri(AE) g⁻¹; 0.67±0.19 mg gallik asit eşdeğeri (GAE) g⁻¹; 0.80±0.15 mg quercetin eşdeğeri (QE) g⁻¹ olarak belirlenmiştir. Ala eriklerin kurumaddedeki toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı ortalama değerleri sırasıyla 16.26±2.30 mg AE g⁻¹; 3.32±0.79 mg GAE g⁻¹; 4.00±0.55 mg QE g⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Üryani eriklerinin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı ortalama değerleri sırasıyla 14.67±2.28 mg AE g⁻¹; 2.49±0.79 mg GAE g⁻¹; 2.71±0.55 mg QE g⁻¹ olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kurutma işlemi esnasında uygulanan ısı işlemi erik örneklerinin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarlarında azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir.

Gıda Bilimi

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 26.02.2021

Kabul Tarihi : 06.05.2021

Anahtar Kelimeler

Askorbik asit

Gallik asit

Quercetin

Biyoaktif bileşikler

Comparison of Total Antioxidant Activity, Total Phenolic Compound and Total Flavonoid Contents of Ala Plum Grown in Kastamonu and Üryani Plum Obtained from Ala Plum

ABSTRACT

In this study, Ala plums were obtained from 6 different regions of Daday district of Kastamonu province, and Üryani plums were obtained by peeling and drying these Ala plums. Moisture, dry matter, pH and titratable acidity values were determined in plum samples and total antioxidant activity, total phenolic compound and total flavonoid content were compared. Average values of moisture, dry matter, pH and titratable acidity of Ala plums were determined as 80.24±1,19%; 19.76±1,20%; 3.80±0,09; 0.61±0,08%, respectively. The mean values of total antioxidant capacity, total phenolic compound and total flavonoid contents of Ala plum were determined as 3.26±0.63 mg ascorbic acid equivalent (AE) g⁻¹; 0.67±0.19 mg gallic acid equivalent (GAE) g⁻¹; 0.80±0.15 mg quercetin equivalent (QE) g⁻¹, respectively. The mean values of total antioxidant capacity, total phenolic compound and total flavonoid content in dry matter of the Ala plums were determined as 16.26±2.30 mg AE g⁻¹; 3.32±0.79 mg GAE g⁻¹; 4.00±0.55 mg QE g⁻¹, respectively. The mean values of total antioxidant capacity, total phenolic compound and total flavonoid content of Üryani plums were determined as 14.67±2.28 mg AE g⁻¹; 2.49±0.79 mg GAE g⁻¹; 2.71±0.55 mg QE g⁻¹, respectively. According

Food Science

Research Article

Article History

Received : 26.02.2021

Accepted : 06.05.2021

Keywords

Ascorbic acid

Gallic acid

Quercetin

Bioactive compounds

to the results, it was determined that the heat treatment applied during the drying process caused a decrease in the total antioxidant capacity, total phenolic compound and total flavonoid substance values of plum samples.

- Atıf İçin:** Tahmas Kahyaoğlu D 2022. Kastamonu'da Yetiştirilen Ala Erik ile Ala Erikten Elde Edilen Üryani Eriğinin Toplam Antioksidan Aktivite, Toplam Fenolik Bileşik ve Toplam Flavonoid Madde İçeriklerinin Karşılaştırılması KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1146-1153. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.886998>.
- To Cite:** Tahmas Kahyaoğlu D 2022. Comparison of Total Antioxidant Activity, Total Phenolic Compound and Total Flavonoid Contents of Ala Plum Grown in Kastamonu and Üryani Plum Obtained from Ala Plum. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1146-1153. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.886998>.

GİRİŞ

Oksijen insanların yaşamlarını devam ettirebilmesi için gerekli bir moleküldür. Ancak oksijenin eksik indirgenmesiyle reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Hücrede fazla miktarda oluşan reaktif oksijen türleri oksidatif strese neden olmaktadır. Bu durum bütün hücre bileşenlerini olumsuz yönde etkilemektedir (Moldovan ve Moldovan, 2004). Canlı hücrelerde okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu durduran veya yavaşlatan maddelere antioksidan denir. Vücutta belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar belli bir seviyeye kadar oksidasyonu önleyebilirler (MatÉs ve ark., 1999). Ancak bazı durumlarda oksidanlar fazla miktarda oluşursa vücutta bulunan antioksidanlar yetersiz kalır ve dışarıdan engelleyici ve koruyucu özellikteki antioksidanların alınması gerekir (Valko ve ark., 2006). Gıdaların raf ömrünün arttırılması amacıyla gıda üretiminde yıllardan beri bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve tersiyer-bütillhidrokinon (TBHQ) gibi

sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2010). Ancak yapılan çalışmalarda (Botterweck ve ark., 2000) sentetik antioksidanların toksik ve karsinojen olabileceğinin ileri sürülmesiyle bazı ülkelerde bu antioksidanların gıdalarda kullanımlarına ilişkin bazı katı düzenlemeler uygulanmaya başlanmıştır (Dolatabadi ve Kashanian, 2010). Bu durum artan tüketici bilinciyle birlikte gıda işleme endüstrisinde kullanılmak üzere doğal biyoaktif madde kaynaklarına ihtiyaç duyulmasına neden olmuştur. Ala eriğın kabuğunun soyulup kurutulmasıyla elde edilen Kastamonu ve çevresinde yetiştirilen Üryani erik genellikle kuru erik veya erik pestili olarak tüketilen çok özel bir türdür. Meyveleri eylül başında olgunlaşır. Meyvesi normal siyah eriklere göre daha küçük, şekli yuvarlağa yakın, kabuğın rengi koyu mordur ve kabukları incedir. Meyvenin et kısmı yeşilimsi sarısı renge ve tatlıdır. Kurudukça ekşi tat daha baskın hale gelmektedir. Üryani eriğının genel özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Üryani eriğine ait genel özellikler (Anonim, 2017)

Table 1. General properties of Üryani plum

Bilimsel adı	<i>Prunus domestica</i> L.
Kullanım şekli	Kurutmalık
Ağaç habitüsü	Dik ve orta kuvvette
Verim	Yüksek
Meyve şekli	Oval (yuvarlağa yakın)
Meyve büyüklüğü	Küçük (23-27 g)
Meyvenin simetri durumu	Belirgin simetrik
Meyve kabuk rengi	Koyu mor
Meyve et rengi	Yeşilimsi sarı
Meyve eti dokusu	Yumuşak, lifli
Meyve tadı	Tatlı
Çekirdeğin meyve etine bağlılık durumu	Bağlı
Çekirdek şekli	Yassı-uzun

Üryani eriği ve ondan işlenen yiyecekler olası sağlık yararları nedeniyle Türkiye'de yaygın olarak tüketilmektedir. Ayrıca Üryani eriğinin çeşitli hastalıklara karşı doğal bir çare olduğuna inanılmaktadır. Ancak Üryani eriği üretimi ile ilgili istatistiksel bir veri yoktur. Taze hasat edilmiş eriklerin nem içeriği yaklaşık %78'dir ve uzun süreli depolama için kurutulur. Günümüzde Üryani

eriklerinde güneşte kurutma en sık kullanılan yöntemdir. Taze hasat edilmiş erikler %18 nem içeriğine ulaşana kadar güneş altında kurutulur (Sacilik ve ark., 2006). Bu durumda kurutma uzun zaman alır ve güneşte kurutma erikleri toz, kemirgenler, kuşlar ve mikroorganizmalar gibi çevresel kirlenmeye maruz bırakır. Bu nedenle kurutulmuş ürünlerin kalitesi önemli ölçüde

azalabilir. Açık güneş kurutma işlemine bir alternatif ve bu sorunların çözümüne bir katkı olması için sıcak hava kurutucularının kullanılması düşünülebilir. Sıcak havada kurutmanın kullanılması her yıl elde edilen meyveler ve sebzelerin muhafaza edilmesi ve meyve ve sebzelerin kurutulması için iklim faktörlerinin kurutma işlemini etkilememesi açısından uygun bir seçenektir (Tunde-Akintunde ve ark., 2005). Kuru erik in vitro olarak insan LDL'sinin oksidasyonunu inhibe ettiği tespit edilen önemli seviyelerde antioksidan fenolik bileşikler içerir. Kuru erik ekstraktları da insan LDL oksidasyonunun etkili inhibitörleridir (Meyer ve ark., 1998). Kuru erik az miktarda flavonoid içerir (özellikle de kuersetin) ve prostaglandinlerin sentezini azaltarak, histamin salımını inhibe ederek ve immün sistemi içeren çeşitli tiplerdeki hücrelerde hücre birikmesini veya yapışmasını azaltarak bağışıklık ve inflamasyon süreçlerinin oluşumunda rol alan enzim sisteminin işlevini etkiler (Middleton ve Kandaswami, 1992). Ayrıca flavonoidler singlet oksijenin söndürülmesinde ve okside edici (süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve peroksit radikali) bir çok radikalın süpürülmesinde etkilidir (Yıldız ve ark., 2019). Tek tek bileşiklerin antioksidan aktivitesinin ölçümü, çeşitli gıda bileşenlerinin sıklıkla gözlenen antagonistik veya sinerjik etkileşimleri nedeniyle yanıltıcı bir sonuca neden olabilir. Eriklerdeki çeşitli antioksidan bileşenler, toplam antioksidan aktiviteye birleştirici veya sinerjik katkılarda önemli roller oynayabilir (Kim ve ark., 2003a).

Bu çalışmada Kastamonu ilinin Daday ilçesinin 6 farklı bölgesinden temin edilen Ala eriklerin nem, kurumadde, pH ve titrasyon asitliği belirlenmiş, toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı ve kurumadde miktarları tespit edilmiştir. Bu Ala eriklerin kabuklarının soyularak kurutulmasıyla elde edilen Üryani eriklerinin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı belirlenmiş ve kurutma işleminin biyoaktif bileşenleri nasıl etkilediği tespit edilmiştir.

MATERYAL ve METOD

Çalışmada kullanılan Ala erikler Kastamonu ilinin Daday ilçesinin 6 farklı bölgesinden elde edilmiştir. Isıl işlemin etkisinin belirlenebilmesinde kabuklardan gelecek antioksidan etkiyi göz ardı edebilmek için Ala eriklerin de kabukları soyulup et kısmı incelenmiştir. Kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma Company'den temin edilmiştir.

Kimyasal Analizler

Nem, pH ve titrasyon asitliği analizleri AOAC Official Method'a göre yapılmıştır (AOAC, 2000).

Ala Erikten Üryani Eriğinin Elde Edilmesi

Üryani eriği Ala eriğın kabuklarının soyulup 60°C'de fırında (Protech PLF) kurutulmasıyla elde edilmiştir. Yüksek kuruma sıcaklığı ilk birkaç saatlik kuruma sırasında meyve asitlerini ve invertazı serbest bırakır ve hücre yapısını bozar (Wilford ve ark., 1997). Ayrıca şiddetli ısıl işlem uygulaması ile (yüksek sıcaklık-uzun süre) 5-hidroksimetilfurfural (HMF) oluşumu da artmaktadır (İçli, 2019). Üryani eriğinin kalite kaybını azaltmak için kurutma işlemi 60°C'de gerçekleştirilmiştir (Di Matteo ve ark., 2002).

Ekstraktların Hazırlanması

3 g örnek homojen hale getirilmiş ve 30 ml asidifiye edilmiş metanol (1 M HCl, %80 metanol içinde) içinde ultrasonik banyo (Elma-S 100H) yardımı ile 30 dakika ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar 8000 × g'de 15 dakika santrifüj (Hettich 320 Universal) edilmiştir. Bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Üst fazlar birleştirildikten sonra -20°C'de saklanmıştır (Meng ve ark., 2011).

Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

Toplam antioksidan aktivite Prieto ve ark. (1999) tarafından kullanılan yöntemle göre belirlenmiş ve toplam antioksidan aktivite askorbik asit eşdeğeri (mg AE g⁻¹) olarak verilmiştir.

Toplam Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi (Folin-Ciocalteu Yöntemi)

Toplam fenolik bileşik Slinkard ve Singleton (1977) tarafından kullanılan yöntemle göre belirlenmiş ve toplam fenolik bileşik içeriği gallik asit eşdeğeri (mg GAE g⁻¹) olarak verilmiştir.

Toplam Flavonoid Maddelerin Belirlenmesi

Toplam flavonoid madde Arvouet-Grand ve ark. (1994) tarafından kullanılan yöntemle göre belirlenmiş ve örneklerdeki toplam flavonoid madde içeriği quercetin eşdeğeri (mg QE g⁻¹) olarak verilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Ala eriklerin nem, kurumadde, pH ve titrasyon asitliği değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Ala eriklerin nem içeriği, kurumadde, pH ve titrasyon asitliği değerleri sırasıyla %79.02±0.23-%82.08±0.11; %17.91±0.11-20.98±0.23; 3.70±0.02-3.94±0.00; %0.48±0.00-0.69±0.01 arasında değişmektedir. Literatürde Ala erikle ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak bulunan değerler Avrupa grubu erikleriyle (*Prunus domestica*) yapılan diğer çalışmalarla uyumludur (Civil ve Haciseferoğulları, 2010; Milošević ve ark., 2012; Ionica ve ark., 2013; Abacı ve ark., 2014; Çelik ve Kuba, 2018; Çöçen ve ark., 2019).

Çizelge 2. Ala eriklerin bazı kimyasal özelliklerinin ortalama değerleri
 Table 2. Average values of some chemical properties of Ala plums

Örnek	Nem Moisture (%)	Toplam kurumadde Total dry matter (%)	pH pH	Titrasyon asitliği (% malik asit) Titratable acidity (malic acid %)
1	80.59±0.04	19.41±0.04	3.81±0.01	0.61±0.01
2	79.45±0.19	20.54±0.19	3.75±0.01	0.66±0.01
3	79.09±0.22	20.90±0.22	3.71±0.02	0.69±0.01
4	81.17±0.19	18.82±0.19	3.89±0.01	0.53±0.01
5	82.08±0.11	17.91±0.11	3.94±0.00	0.48±0.00
6	79.02±0.23	20.98±0.23	3.70±0.02	0.69±0.01
En düşük	79.02±0.23	17.91±0.11	3.70±0.02	0.48±0.00
En yüksek	82.08±0.11	20.98±0.23	3.94±0.00	0.69±0.01

Erikte bulunan flavonoller yaygın olarak kuersetin türevleridir (Kim ve ark., 2003a). Kuersetin, kanser ve kalp hastalıklarına karşı koruyucu etki gösteren yüksek antioksidan özelliğe sahip bir bileşendir. Epidemiyolojik araştırmalar sonucunda yüksek kuersetin miktarının göğüs ve kolon kanser hücrelerinin üremesini engellediği ve düşük kuersetin miktarının ise hücre üremesini arttırdığı belirlenmiştir (Van der Woude ve ark., 2003).

Ala eriklerin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı Çizelge 3'de verilmiştir. Ala eriklerin toplam antioksidan kapasitesi en düşük 2.38±0.03 mg AE g⁻¹, en yüksek 4.05±0.06 mg AE g⁻¹; toplam fenolik bileşik miktarı en düşük 0.43±0.03 mg GAE g⁻¹, en yüksek 0.92±0.02 mg GAE g⁻¹ ve toplam flavonoid madde miktarı en düşük 0.62±0.01 mg QE g⁻¹, en yüksek 0.99±0.03 mg QE g⁻¹ olarak tespit edilmiştir.

Üryani eriklerle ve diğer çalışmalardaki eriklerin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarları kuru ağırlık üzerinden hesaplandığından dolayı kıyaslama yapılabilmesi için Ala eriklerin kurumadde miktarları kullanılarak kurumaddede bulunan toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarları hesaplanmıştır. Ala eriklerin kurumaddede toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı Çizelge 4'te verilmiştir. Ala eriklerin toplam antioksidan kapasitesi en düşük 13.26±0.04 mg AE g⁻¹, en yüksek 19.30±0.06 mg AE g⁻¹; toplam fenolik bileşik miktarı en düşük 2.32±0.04 mg GAE g⁻¹, en yüksek 4.39±0.03 mg GAE g⁻¹ ve toplam flavonoid madde miktarı en düşük 3.16±0.02 mg QE g⁻¹, en yüksek 4.68±0.03 mg QE g⁻¹ olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3. Ala eriklerin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı ortalama değerleri
 Table 3. The average values of total antioxidant capacity, total phenolic compound and total flavonoid content of Ala plums

Örnek	Toplam Antioksidan Kapasite Total Antioxidant Capacity (mg AE g ⁻¹)	Toplam Fenolik Bileşik Total Phenolic Compound (mg GAE g ⁻¹)	Toplam Flavonoid Madde Total Flavonoid Content (mg QE g ⁻¹)
1	2.90±0.05	0.55±0.01	0.62±0.01
2	3.78±0.04	0.87±0.03	0.94±0.02
3	3.67±0.05	0.73±0.02	0.88±0.03
4	2.77±0.04	0.55±0.03	0.73±0.02
5	2.38±0.03	0.43±0.03	0.67±0.03
6	4.05±0.06	0.92±0.02	0.99±0.03
En düşük	2.38±0.03	0.43±0.03	0.62±0.01
En yüksek	4.05±0.06	0.92±0.02	0.99±0.03

Vasantha Rupasinghe ve ark. (2006) Avrupa erik cinslerini toplam fenolik içerikleri ve toplam antioksidan kapasiteleri açısından değerlendirdikleri çalışmada toplam fenolik içerikleri 86-413 mg GAE 100 g⁻¹, toplam antioksidan kapasiteleri 105-524 mg AAE 100g⁻¹ arasında belirlemişlerdir. Üç farklı çeşit eriğin kimyasal kompozisyonu ve antioksidan kapasitesinin belirlendiği başka bir çalışmada taze eriklerin toplam fenolik içeriği 157.70-344.10 mg GAE

100 g⁻¹ arasında, toplam antioksidan kapasitesi 3.10-3.17 mmol kg⁻¹ arasında tespit edilmiştir (Voća ve ark., 2009). Ardahan'da yetişen bazı erik genotipleriyle yapılan bir çalışmada toplam fenolik madde içeriği yabancı eriklerde (280.7 mg 100 g⁻¹) en yüksek, su eriğinde (226 mg 100 g⁻¹) ise en düşük olarak tespit edilmiştir (Abacı ve ark., 2014). Taze eriklerde polifenoliklerin miktarı ve antioksidan kapasiteleri hakkında yapılan bir çalışmada toplam

fenolik bileşik miktarının 125.0-372.6 mg GAE 100 g⁻¹ arasında değiştiği belirtilmiştir. Toplam flavonoid madde miktarı 64.8-257.5 mg CE 100 g⁻¹ olarak, antioksidan kapasiteleri 204.9-567.0 mg (VCEAC) 100 g⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Kim ve ark., 2003a). Başka bir çalışmada 6 farklı erik çeşidinin antioksidan kapasiteleri belirlenmiş ve toplam fenolik bileşik içeriklerinin 174-375 mg GAE 100 g⁻¹; toplam flavonoid madde miktarının 118-237 mg CE 100 g⁻¹, antioksidan kapasiteleri 266-559 mg (VCEAC) 100 g⁻¹ olduğu belirtilmiştir (Kim ve ark., 2003b). Diğer bir çalışmada kırmızı erik çeşitlerinin toplam fenolik içeriği 320 mg GAE 100 g⁻¹ olarak belirtilmiştir (Proteggente ve ark., 2002). Elde edilen sonuçlar yapılan çalışmalarda bulunan sonuçlarla benzerdir. Farklı meyvelerin antioksidan kapasite, fenolik madde, karotenoid ve C vitamini içeriğinin belirlendiği bir çalışmada eriklerin toplam fenolik ve toplam askorbik asit içeriği sırasıyla et kısmında 220-769 mg kg⁻¹; 20-90 mg kg⁻¹, kabuk kısmında ise 1631-

3323 mg kg⁻¹; 51-169 mg kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Gil ve ark., 2002). Yapılan çalışmada tespit edilen değerler Gil ve ark., (2002) tarafından bulunan değerlerden yüksektir. Çeşitli toplam fenolik seviyeleri muhtemelen çeşitlerden, coğrafi kökenlerden, büyüme mevsimlerinden, diğer tarımsal uygulamalardan ve analitik yöntemlerdeki farklılıklardan kaynaklanabilir (Kim ve ark., 2003a). Ala eriklerin kabuklarının soyularak kurutulmasıyla elde edilen Üryani Eriklerinin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarları Çizelge 5'te verilmiştir. Üryani eriklerin toplam antioksidan kapasitesi en düşük 11.68±0.04 mg AE g⁻¹, en yüksek 17.68±0.06 mg AE g⁻¹; toplam fenolik bileşik miktarı en düşük 1.48±0.04 mg GAE g⁻¹, en yüksek 3.56±0.02 mg GAE g⁻¹ ve toplam flavonoid madde miktarı en düşük 1.88±0.02 mg QE g⁻¹, en yüksek 3.38±0.03 mg QE g⁻¹ olarak tespit edilmiştir..

Çizelge 4. Ala eriklerin kurumadedeki toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı ortalama değerleri

Table 4. Average values of total antioxidant capacity, total phenolic compound and total flavonoid content in dry matter of Ala plums

Örnek	Toplam Antioksidan Kapasite <i>Total Antioxidant Capacity</i> (mg AE g ⁻¹)	Toplam Fenolik Bileşik <i>Total Phenolic Compound</i> (mg GAE g ⁻¹)	Toplam Flavonoid Madde <i>Total Flavonoid Content</i> (mg QE g ⁻¹)
1	14.80±0.06	2.80±0.02	3.16±0.02
2	18.40±0.05	4.18±0.03	4.58±0.03
3	17.31±0.05	3.43±0.02	4.10±0.04
4	14.49±0.06	2.81±0.04	3.82±0.03
5	13.26±0.04	2.32±0.04	3.66±0.04
6	19.30±0.06	4.39±0.03	4.68±0.03
En düşük	13.26±0.04	2.32±0.04	3.16±0.02
En yüksek	19.30±0.06	4.39±0.03	4.68±0.03

Çizelge 5. Ala eriklerden elde edilen Üryani eriklerin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı ortalama değerleri

Table 5. The average values of total antioxidant capacity, total phenolic compound and total flavonoid content of Üryani plums obtained from Ala plums

Örnek	Toplam Antioksidan Kapasite <i>Total Antioxidant Capacity</i> (mg AE g ⁻¹)	Toplam Fenolik Bileşik <i>Total Phenolic Compound</i> (mg GAE g ⁻¹)	Toplam Flavonoid Madde <i>Total Flavonoid Content</i> (mg QE g ⁻¹)
1	13.30±0.09	1.99±0.02	1.88±0.02
2	16.78±0.05	3.34±0.02	3.31±0.03
3	15.72±0.05	2.59±0.01	2.82±0.04
4	12.85±0.05	1.99±0.03	2.53±0.03
5	11.68±0.04	1.48±0.04	2.37±0.03
6	17.68±0.06	3.56±0.02	3.38±0.03
En düşük	11.68±0.04	1.48±0.04	1.88±0.02
En yüksek	17.68±0.06	3.56±0.02	3.38±0.03

Literatürde Üryani eriğiyle ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Kurutma tekniğinin eriklerin (*Prunus domestica* L.) fitokimyasalları üzerindeki etkisinin belirlendiği bir çalışmada Folin-Ciocalteu indeksi fırında kurutulan geleneksel ve

organik üretilen eriklerde sırasıyla Jubileum çeşidinde 8670-6414 mg GAE kg⁻¹ kuru ağırlık; Reeves çeşidinde 4244-5573 mg GAE kg⁻¹ kuru ağırlık; Victoria çeşidinde 8116- 8632 mg GAE kg⁻¹ kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada

toplam askorbik asit içeriği fırında kurutulan geleneksel ve organik üretilen eriklerde sırasıyla Jubileum çeşidinde 1.3-1.3 mg kg⁻¹ kuru ağırlık; Reeves çeşidinde 0.4-0.3 mg kg⁻¹ kuru ağırlık; Victoria çeşidinde 1.0-0.5 mg kg⁻¹ kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir (Vangdal ve ark., 2017). Altmışiki farklı meyvenin antioksidan kapasite ve fenolik içeriğine bakılan bir çalışmada fenolik içerik taze eriklerde 88.28 mg GAE 100 g⁻¹, kuru eriklerde 65.06 mg GAE 100 g⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Fu ve ark., 2011). Kuru eriklerde kurutma şartlarının ve depolama periyodunun polifenolik içerik, antioksidan kapasite ve askorbik asit üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada 60°C'de kurutulan eriklerde askorbik asit 6.34 mg g⁻¹, fenolik içerik 41.54 mg RE kg⁻¹ olarak tespit edilmiş ve depolama boyunca miktar azalmıştır. Polifenol miktarındaki azalmanın Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşumundan kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir (Del Caro ve ark., 2004). Başka bir çalışmada taze kara eriklerin toplam fenollerinin 1435 mg CE kg⁻¹; kurutulmuş kara eriklerin toplam fenollerinin 3679 mg CE kg⁻¹ olduğu bildirilmiştir. Toplam antioksidan kapasite taze kara erikler de 2.67 mM, kurutulmuş kara eriklerde 8.08 mM olarak tespit edilmiştir (Karakaya ve ark., 2001). Kurutulmuş eriklerle yapılan bir çalışmada toplam fenolikler 1107 mg kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Donovan ve ark., 1998). Çalışmada

bulunan sonuçlar diğer çalışma sonuçlarından yüksektir. Ticari gıda işleminde eriklerin (veya kuru eriklerin) kullanılması, çeşitli aroma ve istenmeyen yan ürünlerin oluşmasıyla sonuçlanan lipid oksidasyonunu etkili bir şekilde önleyebilir ve böylece yiyeceklerin raf ömrünü artırabilir. Ayrıca propil gallat ve bütillenmiş hidroksitoluen gibi sentetik antioksidanların kullanımı gıda işleminde erikler ile azaltılabilir veya ikame edilebilir (Kim ve ark., 2003a).

Üryani eriklerde ve Ala eriklerin kurumaddede tespit edilen toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarları karşılaştırıldığında Ala eriklerin kurumaddede tespit edilen bütün değerleri Üryani eriklerden daha yüksektir (Çizelge 6). Ala erikteki kurumaddede toplam antioksidan kapasite ortalama olarak 16.26±2.30 mg AE g⁻¹ iken bu değer Üryani eriğinde 14.67±2.28 mg AE g⁻¹'dir. Ala erikteki kurumaddede toplam fenolik bileşik ortalama 3.32±0.79 mg GAE g⁻¹ iken bu değer Üryani eriğinde 2.49±0.79 mg GAE g⁻¹'dir. Aynı şekilde Ala erikteki kurumaddede toplam flavonoid madde ortalama olarak 4.00±0.55 mg QE g⁻¹ iken bu değer Üryani eriğinde 2.71±0.55 mg QE g⁻¹'dir. Bu sonuç kurutma işlemi esnasında uygulanan ısı işlemin erik örneklerinin biyoaktif bileşenlerinde azalmaya sebep olduğunu göstermektedir..

Çizelge 6. Ala erik, Ala eriklerin kurumaddesinde ve Üryani eriklerin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde miktarı Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Table 6. Duncan multiple comparison test results of the total antioxidant capacity, total phenolic compound and total flavonoid content of the Ala plums, in dry matter of Ala plums and the Üryani plums

Örnek	Toplam Antioksidan Kapasite <i>Total Antioxidant Capacity</i> (mg AE g ⁻¹)	Toplam Fenolik Bileşik <i>Total Phenolic Compound</i> (mg GAE g ⁻¹)	Toplam Flavonoid Madde <i>Total Flavonoid Content</i> (mg QE g ⁻¹)
A	3.26±0.63 ^a	0.67±0.19 ^a	0.80±0.15 ^a
B	16.26±2.30 ^c	3.32±0.79 ^c	4.00±0.55 ^c
C	14.67±2.28 ^b	2.49±0.79 ^b	2.71±0.55 ^b

A: Ala erikte tespit edilen değerler B: Ala eriğin kurumaddesinde tespit edilen değerler C: Üryani erikte tespit edilen değerler. Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0.05)

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmanın sonuçları rutin beslenme düzeninde bulunan eriklerden sağlanacak polifenolik fitokimyasalların tüketiciler için sağlığı teşvik edici etkiler bulundurabilecek iyi bir antioksidan kaynağı olabileceğini düşündürmektedir. Yüksek miktarda fitokimyasal içeren meyve ve sebzelerin tüketilmesinin kronik hastalıkları inhibe edebileceği, engelleyebileceği veya geciktirebileceği öne sürüldüğü için ve elde edilen bulgular sonucunda Ala eriklerin Üryani eriklerden daha fazla antioksidan aktivite göstermesinden dolayı bu meyvenin mümkün olduğunca taze tüketilmesi gerektiği söylenebilir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarı herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Abacı ZT, Sevindik E, Selvi S 2014. Determining Total Phenolics, Anthocyanin Content and Ascorbic Acid Content in Some Plum (*Prunus x domestica* L.) Genotypes Grown in Ardahan. Journal of Tekirdag Agricultural Faculty 11(3): 27-32.
- Anonim 2017. Üryani Erik - Kastamonu İl Tarım ve Orman Müdürlüğü. <https://kastamonu.Tarimorman.gov.tr/Belgeler/%C3%9CRYAN% C4%B0%20L%C4%B0FLET.pptx>. (Alınma Tarihi: 25.02.2021)

- AOAC 2000. Association of Official Analytical Chemistry-AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. 17. ed., Washington, USA.
- Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P 1994. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *Journal de pharmacie de Belgique* 49(6): 462-468.
- Botterweck AAM, Verhagen H, Goldbohm RA, Kleinjans J, Van Den Brandt PA 2000. Intake of Butylated Hydroxyanisole and Butylated Hydroxytoluene and Stomach Cancer Risk: Results from Analyses in The Netherlands Cohort Study. *Food and Chemical Toxicology* 38(7): 599-605.
- Civil C, Haciseferoğulları H 2010. Determination of Mechanic Harvesting Parameters of Some Cultivated Plum Varieties in Region Eğirdir. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi* 24(3): 21-29.
- Çelik F, Kuba G 2018. Agro Morphological Properties of Plums (*Prunus domestica* L.) Genotypes Grown in Van Region. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences* 28(4): 403-411.
- Çöçen E, Canbay A, Yavuz Ç, Sarıtepe Y, Özelçi M, Altun OT 2019. The Performance of Some European Group (*Prunus domestica*) Plum Cultivars in Malatya Ecology. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences* 6(4): 678-684.
- Del Caro A, Piga A, Pinna I, Fenu PM, Agabbio M 2004. Effect of Drying Conditions and Storage Period on Polyphenolic Content, Antioxidant Capacity, and Ascorbic Acid of Prunes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(15): 4780-4784.
- Di Matteo M, Cinquanta L, Galiero G, Crescitelli S 2002. Physical Pre-treatment of Plums (*Prunus domestica*). Part 1. Modelling The Kinetics of Drying. *Food Chemistry* 79(2): 227-232.
- Dolatabadi JEN, Kashanian S 2010. A Review on DNA Interaction with Synthetic Phenolic Food Additives. *Food Research International* 43(5): 1223-1230.
- Donovan JL, Meyer AS, Waterhouse AL 1998. Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Prunes and Prune Juice (*Prunus domestica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(4): 1247-1252.
- Fu L, Xu BT, Xu XR, Gan RY, Zhang Y, Xia EQ, Li HB 2011. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of 62 Fruits. *Food Chemistry* 129(2): 345-350.
- Gil MI, Tomás-Barberán FA, Hess-Pierce B, Kader AA 2002. Antioxidant Capacities, Phenolic Compounds, Carotenoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum Cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(17): 4976-4982.
- İçli N 2019. Occurrence of Patulin and 5-Hydroxymethylfurfural in Apple Sour, Which is A Traditional Product of Kastamonu, Turkey. *Food Additives & Contaminants: Part A* 36(6): 952-963.
- Ionica ME, Nour V, Trandafir I, Cosmulescu S, Botu M 2013. Physical and Chemical Properties of Some European Plum Cultivars (*Prunus domestica* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 41(2): 499-503.
- Karakaya S, El SN, Taş AA 2001. Antioxidant Activity of Some Foods Containing Phenolic Compounds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 52(6): 501-508.
- Kim D, Chun OK, Kim YJ, Moon H, Lee CY 2003a. Quantification of Polyphenolics and Their Antioxidant Capacity in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(22): 6509-6515.
- Kim D, Jeong SW, Lee CY 2003b. Antioxidant Capacity of Phenolic Phytochemicals from Various Cultivars of Plums. *Food Chemistry* 81(3): 321-326.
- Matés JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN 1999. Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry* 32(8): 595-603.
- Meng J, Fang Y, Zhang A, Chen S, Xu T, Ren Z, Han G, Liu J, Li H, Zhang Z, Wang H 2011. Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Chinese Raisins Produced in Xinjiang Province. *Food Research International* 44(9): 2830-2836.
- Meyer A, Donovan JL, Pearson DA, Waterhouse AL, Frankel EN 1998. Fruit Hydroxycinnamic Acids Inhibit Human Low-Density Lipoprotein Oxidation in Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(5): 1783-1787.
- Middleton E, Kandaswami C 1992. Effects of Flavonoids on Immune and Inflammatory Cell Functions. *Biochemical Pharmacology* 43(6): 1167-1179.
- Milošević N, Mratinić E, Glišić IS, Milošević T 2012. Precocity, Yield and Postharvest Physical and Chemical Properties of Plums Resistant to Sharka Grown in Serbian Conditions. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 11(6): 23-33.
- Moldovan L, Moldovan NI 2004. Oxygen Free Radicals and Redox Biology of Organelles. *Histochemistry and Cell Biology* 122(4): 395-412.
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M 1999. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity Through The Formation of A Phosphor Molybdenum Complex: Specific Application to The Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269(2): 337-341.
- Proteggente AR, Pannala AS, Paganga G, Van Buren L, Wagner E, Wiseman S, Van De Put F, Dacombe C, Rice-Evans CA 2002. The Antioxidant Activity of Regularly Consumed Fruit and Vegetables Reflects Their Phenolic and Vitamin C

- Composition. Free Radical Research 36(2): 217-233.
- Sacilik A, Elicin AK, Unal G 2006. Drying Kinetics of Üryani Plum in A Convective Hot-Air Dryer. Journal of Food Engineering 76(3): 362-368.
- Slinkard K, Singleton VL 1977. Total Phenol Analyses: Automation and Comparison with Manual Methods. American Journal of Enology and Viticulture 28: 49-55.
- Tunde-Akintunde TY, Afolabi TJ, Akintunde BO 2005. Influence of Drying Methods on Drying of Bell-Pepper (*Capsicum annuum*). Journal of Food Engineering 68(4): 439-442.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M 2006. Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer. Chemico-Biological Interactions 160(1): 1-40.
- Van der Woude H, Gliszczynska-Swiglo A, Struijs K, Smeets A, Alink GM, Reijnders IMCM 2003. Biphasic Modulation of Cell Proliferation by Kuersetin at Concentrations Physiologically Relevant in Humans. Cancer Letters 200(1): 41-47.
- Vangdal E, Picchi V, Fibiani M, Lo Scalzo R 2017. Effects of The Drying Technique on The Retention of Phytochemicals in Conventional and Organic Plums (*Prunus domestica* L.). LWT-Food Science and Technology 85(B): 506-509.
- Vasanth Rupasinghe HP, Jayasankar S, Lay W 2006. Variation in Total Phenolics and Antioxidant Capacity Among European Plum Genotypes. Scientia Horticulturae 108(3): 243-246.
- Voća S, Galić A, Šindrak Z, Dobričević N, Plietić S, Družić J 2009. Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Three Plum Cultivars. Agriculturae Conspectus Scientificus 74(3): 273-276.
- Wilford LG, Sabarez H, Price WE 1997. Kinetics of Carbohydrate Change During Dehydration of D'agen Prunes. Food Chemistry 59(1): 149-155.
- Yıldız G, Aktürk C, Özerkan M, Yılmaz Ö 2019. *Linum arboreum* L. (Linaceae) Türünün Antioksidan İçeriği ve Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi. KSU Tarım ve Doğa Dergisi 22 (Ek Sayı 1): 16-23.
- Zhang Y, Yang L, Zu Y, Chen X, Wang F, Liu F 2010. Oxidative Stability of Sunflower Oil Supplemented with Carnosic Acid Compared with Synthetic Antioxidants During Accelerated Storage. Food Chemistry 118(3): 656-662.

Effect of Ultrasound Pre-treatment on the Physical Characteristics of Corn During Drying

Zana KARABOĞA^{1*}, Ali YILDIRIM²

^{1,2}Harran University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, 63050 Haliliye, Şanlıurfa, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-1836-588X>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7226-1902>

✉: zana_krb@hotmail.com

ABSTRACT

In this study, the effect of some pre-treatments (conventional and 40 kHz 200 W ultrasound soaking) on corn drying was studied. One-hour pre-treated corn samples were dried at 80, 90 and 100 °C in the laboratory type convective air dryer for 240 min time. The moisture contents and physical characteristics such as length, width, thickness, equivalent diameter, equivalent volume, sphericity, thousand kernel weight and hectoliter weight of pre-treated corn samples at each temperature were analyzed for every 60 min during 240 min drying. When the conventional and ultrasound soaking pre-treatments were compared in the temperature range of 80-100 °C during 240 minutes drying of corn, the changes in the reduction rates in moisture content, thousand-kernel weight, hectoliter weight, equivalent diameter and equivalent volume values were 77-86% and 87-90%, 24-27% and 26-29%, 10-13% and 19-20%, 3-10% and 4-9%, 9-25% and 11-25%, respectively. When the results of the research were analyzed, the effect of ultrasound pre-treatment, drying temperature and drying time on moisture content, dimensions (length, width, thickness), equivalent diameter, equivalent volume, sphericity, thousand kernel weight and hectoliter weight of corn grains were found to be significant ($P \leq 0.05$).

Food Science

Research Article

Article History

Received : 13.07.2021

Accepted : 22.10.2021

Keywords

Corn
Ultrasound Pre-treatment
Drying
Physical Characteristics
Temperature

Ultrasen Ön İşleminin Mısırın Kurutma Sırasındaki Fiziksel Özelliklerine Etkisi

ÖZET

Bu çalışmada, bazı ön işlemlerin (geleneksel ve 40 kHz 200 W ultrasen ıslatma) mısırın kurutma sırasındaki etkisi incelenmiştir. Bir saat ön işlem görmüş mısır numuneleri, laboratuvar tipi konveksiyon hava kurutucusunda 80, 90 ve 100 °C'de 240 dakika süreyle kurutulmuştur. 240 dakikalık kurutma süresince her 60 dakikada bir ön işlem görmüş mısır numunelerinin uzunluk, genişlik, kalınlık, eşdeğer çap, eşdeğer hacim, küresellik, bin tane ağırlığı ve hektolitreye ağırlığı gibi fiziksel özellikleri ve nem miktarları analiz edilmiştir. Mısırların 240 dakikalık kurutma sırasında 80-100 °C'lik sıcaklık aralığı için geleneksel ve ultrasen ıslatma ön işlemleri kıyaslandığında, nem, bin tane ağırlığı, hektolitreye ağırlığı, eşdeğer çap ve eşdeğer hacim değerlerindeki azalma oranlarının değişimleri sırasıyla %77-86 ve %87-90, %24-27 ve %26-29, %10-13 ve %19-20, %3-10 ve %4-9, %9-25 ve %11-25 şeklinde olmuştur. Araştırmanın sonuçları analiz edildiğinde, ultrasonik ön işleminin, kurutma sıcaklığının ve kurutma süresinin mısır tanelerinin nem içeriğine, boyutlara (uzunluk, genişlik, kalınlık), eşdeğer çap, eşdeğer hacim, küresellik, bin tane ağırlığına ve hektolitreye ağırlığına etkisi önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

Gıda Bilimi

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 13.07.2021

Kabul Tarihi : 22.10.2021

Anahtar Kelimeler

Mısır
Ultrasen Ön işlemi
Kurutma
Fiziksel Karakteristikler
Sıcaklık

To Cite : Karaboğa Z, Yıldırım A 2022. Effect of Ultrasound Pre-treatment on the Physical Characteristics of Corn During Drying. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1154-1162. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.970780>.

Atf İçin: Karaboğa Z, Yıldırım A 2022. Ultrasen Ön İşleminin Mısırın Kurutma Sırasındaki Fiziksel Özelliklerine Etkisi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1154-1162. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.970780>.

INTRODUCTION

Corn is one of the most important plants in the world

that is widely used in the food, chemical, pharmaceutical and agricultural industries due to its

high starch content (Miano et al., 2017). Its homeland is America, and it is known that it spread all over the world from here. It came to Turkey from Egypt through Syria in 1600.

The ripening of the corn is understood from the part where the grain is attached to the cob. If there is a black spot at this tip, it is an indication that the ripening of the grain has been completed. Average corn moisture is around 30% and it is suitable for harvesting (Babaoglu, 2005). The drying process is very important, as corn is a product that can be susceptible to mold and deterioration if not properly dried after harvest. When the ideal corn moisture is 20-28%, it is harvested and dried under suitable conditions and the ideal moisture content is reduced to 12-14%.

Open air drying and hot air-drying methods are frequently used in corn drying in Turkey. While open air drying is preferred in rural areas, hot air drying is the most common technique used for drying corn in industrial applications. The hot air-drying method has some disadvantages such as low thermal conductivity, long drying time and quality deterioration in terms of nutritional values. For this reason, new techniques are being developed that increase drying rates and improve product quality (Tuncel et al., 2010).

Ultrasonics are a pressure wave with a frequency in the range of 20 kHz-100 kHz above the hearing limit of the human ear. Sound waves are used in the food industry for pasteurization, sterilization, formation of chemical reactions, acceleration of oxidation, acceleration of fermentation, inhibition of enzyme activity, formation of emulsions, extraction, crystallization, drying, hydration, filtration and gas removal (Yıldırım et al., 2009; Ulusoy and Karakaya, 2011).

Some researchers have studied ultrasound application on food such as; potatoes (De la Fuente-Blanco et al., 2006), rice (Jafari and Zare, 2017), banana (Fernandes and Rodrigues, 2007), melon (Fernandes et al., 2008), soybean (Karki, 2009), pineapple (Fernandes et al., 2009), strawberry (Garcia-Noguera et al., 2010), apple (Nowacka et al., 2012), red bell pepper (Schossler et al., 2012), green pepper (Szadzińska et al., 2017) and carrot (Chen et al., 2016). The results of some of the aforementioned studies have shown that ultrasound application significantly reduces the drying time (Carcel et al., 2007; Garcia-Perez et al., 2007; Rodriguez et al., 2014). Tüfekçi and Özkal (2015) reported that in the drying of foods, ultrasound pre-treatment applied on drying is effective on the drying performance of the product. Ultrasound pre-treatment has been used in drying of some foods before, but limited research has been done in drying of maize. In this context, the aim of this study was to determine the effect of pre-

treatment (conventional and ultrasound soaking), temperature and time on moisture content, hectoliter weight, thousand kernel weight, dimensions (thickness, length, width), equivalent diameter, sphericity and equivalent volume of corn during drying.

MATERIAL and METHODS

Material

The PR32T83 variety of corn used in this research was obtained from the Dora Village, Mecburi Hamlet, Kızıltepe, Mardin in 2017. The corn used in the study was harvested manually to avoid foreign materials such as broken and garbage. Corn in the form of cob collected from the field was hand-picked from the cob. Afterwards, the products were stored in vacuum packages in a deep freezer (-18 °C) to prevent moisture loss.

Determination of Moisture Content of Raw Corns

Moisture content of raw corns was analyzed according to method of AOAC 15.950.01 (AOAC, 1990).

Determination of Physical Properties of Corns

One hundred corn kernels were randomly chosen to determine the physical properties. The selected kernels were weighed using an electronic balance (AS 220/C/2, Radwag-Wagi, Poland) with 0.001 g accuracy. The average dimensions (L: length, W: width and T: thickness in mm) of wheat kernels were measured with digital caliper (Mutitoyo No. 505-633, Japan) with an accuracy of 0.002 mm. The thousand kernel weight of corn samples were determined by the methods of Youssef (1978), Williams et al. (1983), Adebowale et al. (2005) and Singh et al. (2005). Hectoliter weights of corn samples were determined by the method of AACC International Method 55-10.01 (AACC, 1999). The equivalent diameter (D_e), sphericity (ϕ), equivalent volume (V_e) of samples were calculated by Eqs. (1-3) (Mohsenin, 1986).

$$D_e = (L * W * T)^{1/3} \quad (1)$$

$$\phi = \frac{D_e}{L} \quad (2)$$

$$V_e = \frac{\pi * (D_e)^3}{6} \quad (3)$$

Pre-treatments

Before drying, the corn was soaked for 1 hour without ultrasound (conventional soaking) and with ultrasound pre-treatment (40 kHz 200 W, 100% amplitude, acoustic energy density (EAD) of 0.029 W cm⁻³) at 25 °C. Approximately 100 g of corn kernels were immersed in 7 liter of deionized water that performed in ultrasonic (US) bath (Model WUC-D10H, DAIHAN Scientific Co., Ltd., Gangwon-do, 220-821, KOREA) for both conventional and ultrasonic soaking. In order to prevent the

temperature increase, the temperature was kept constant with ice water. After the soaking process (1 hour), the samples were removed from the soaking solution, drained for 2 min, blotted with tissue paper, and weighed, analyzed for physical characteristics, and immediately subjected to drying processes. After 1hour soaking process, moisture content of samples in dry basis was calculated by the Eq. 4:

$$M_t = \left[\frac{(M_o+1)*W_t}{W_o} - 1 \right] * 100 \quad (4)$$

where W_o is initial weight (g), W_t is weight of sample (g) at any process time (t). M_o and M_t are the moisture contents of samples in dry basis initially and at different processing time, respectively.

Drying Process

Pre-treated samples were dried in the laboratory type convective air dryer (1.2 m s⁻¹ air velocity, Heraeus brand UT-12, Germany) at 80, 90, 100 °C for 4 hours. During drying, samples were taken out of the dryer in certain periods (60 min), and moisture, hectoliter weight, thousand kernel weight, length, width, thickness, equivalent diameter, sphericity and equivalent volume were examined. One hundred grams of pre-treated corn samples was uniformly spread in one layer over drying pan of dryer. The moisture content of the pre-treated corn during drying was determined every 60 min, by taking the dryer sample pan and rapidly weighing the sample with an electronic balance (AS 220/C/2, Radwag-Wagi, Poland). The moisture content of samples (%) at any drying time was calculated by Eq (4).

Statistical Analysis The data obtained as a result of the analyzes were statistically evaluated using the SPSS package program (SPSS 22.0 software for Windows, SPSS Inc., USA) and analysis of variance (ANOVA). Comparisons between parameters were made according to the confidence limit of 0.05 by Duncan comparison test. All analyzes were done in triplicate (Efe et al., 2000; Kaygısız and Tümer, 2009).

RESULTS and DISCUSSION

Moisture and Physical Characteristics of Raw and Pre-Treated Corns

Average moisture content, thousand kernel weight, hectoliter weight, length, width, thickness, equivalent diameter, sphericity and equivalent volume of raw corns were found to be 28.14 (% wet-basis) or 39.16 (% dry basis), 350.03 g, 71.60 kg hl⁻¹, 11.22 mm, 9.11 mm, 4.98 mm, 7.98 mm, 0.70 and 266.17 mm³, respectively (Table 1). Peplinski et al. (1992) found the hectoliter weight of seven different yellow whole-grain corn varieties as to be 73.2-76.2 kg hl⁻¹. Pan et al. (1996) reported that the hectoliter weight of three different corn varieties was between 69.7-74.6 kg hl⁻¹.

In another study, the thousand-kernel weight of corn variety samples was found to be 359.16-384.22 g (Altinel, 2002). Vartanlı and Emeklier (2007) reported that moisture contents of 12 hybrid corn varieties in Ankara conditions were in the range of 21.15-28.60 (% w.b.) and hectoliter weights were 65.43-73.53 kg hl⁻¹. Saygı and Toklu (2016), found a thousand kernel weight of 311.5 g and a hectoliter weight of 69.70 kg hl⁻¹ of P32T83 corn variety. The values determined in this study are consistent with the values in the literature. In a study for dent corn variety grown in Turkey, the length, width, thickness, moisture content and thousand kernel weights were found to be 11.63±0.64 mm, 8.52±1.00 mm, 4.55±0.53 mm, 25-30% and 388.40±9.24 g, respectively. Length, width, thickness, moisture content and thousand kernel weight of flint corn variety were also determined to be 11.31±0.62 mm, 8.89±0.89 mm, 4.99±0.79 mm, 37% and 441.84±10.40 g, respectively. When they analyzed the size of the sweet corns in the same study, they found that the length, width and thickness were 12.07±0.95 mm, 7.37±0.89 mm and 3.38±0.70 mm (Özler et al., 2006). In a study conducted on Helen, Shemal and P32W86 corn varieties, moisture content, length, width, thickness, sphericity and equivalent volume values were found to be 11.80, 11.60, 12.10%; 13.35, 12.64, 11.54 mm; 7.30, 7.88, 8.30 mm; 4.36, 3.76, 4.13 mm; 0.586, 0.570, 0.635 and 254.29, 195.25, 207.11 mm³, respectively (Polatçı et al., 2020). It can be concluded that the results of present study are compatible with the corn dimensions found in previous studies.

Before drying, harvested corn kernels were soaked in water without and with ultrasound treatment for 1 hour at 25 °C temperature. The average moisture content of the raw corn samples was 39.16 (% d.b.) or 28.14 (% w.b.) and it increased to 41.81 (% d.b.) and 45.17 (% d.b.), respectively, after conventional and ultrasound pre-treated soaking, (Table 1). It was observed that the moisture content of the corn samples increased with the ultrasound pre-treated soaking. This increase was statistically significant (P<0.05). Miano et al. (2017), found that ultrasound treatment increased the water absorption of maize grains. Yıldırım and Öner (2005) reported that the water absorption rate of chickpeas increased with the increase of ultrasound.

Depending on the soaking pre-treatments, due to the water absorption of the corn kernels, swelling and weight gain were observed in the grain. While the increase in thousand kernel weight and equivalent volume of corn samples with pre-treatment application was statistically significant (P<0.05), the increase in length, width, thickness, equivalent diameter and sphericity were not significant (P>0.05). The hectoliter weights of corns decreased during conventional and ultrasound pre-treatment soaking

processes, and also this decrease was not statistically significant ($P>0.05$) (Table 1).

Bart-Plange and Baryeh (2003) reported that when the moisture content of cocoa beans on wet basis increased from 7.56 to 19.00%, the thousand grain weight increased from 1125.02 to 1247.19 g. It has been reported that the mass of 1000 grains increase linearly with the increase in moisture content of spinach seeds (Kilickan et al., 2010) and red pepper seeds (Üçer et al., 2010), which is consistent with the results found in this study. In another study, it was reported that the water absorption rate of the wheat grain increased with the ultrasound application and

the wheat grain swelled as it absorbs water (Yüksel and Elgün, 2013). In the study of soaking cowpeas, it was reported that the size of cowpea increased with the absorption of water (Yıldırım and Atasoy, 2017). It has been reported that the size of the samples increased as the time and temperature increased during the soaking of soybean (Bayram et. al., 2004) and three different corn samples (Polatçı et al., 2020). It was seen that the size of the samples increased depending on time and temperature of soaking. This study was found to be consistent with the pre-treatment soaking studies in the literature.

Table 1. Change in moisture and physical characteristics of raw, soaking without US and soaking with US corns. *Çizelge 1. Hammadde, ultrasonuz ıslatılmış ve ultrasonlu ıslatılmış mısırların nem ve fiziksel özelliklerindeki değişim.*

Analyzes	Raw corn	Soaking Without US*	Soaking With US**
Moisture content (% , d.b.)	39.16±0.03 ^b	41.81±0.84 ^{ab}	45.17±0.64 ^a
1000-kernel weight (g)	350.03±0.69 ^b	370.25±0.68 ^{ab}	372.46±0.72 ^a
Hectoliter weight (kg hl ⁻¹)	71.60±0.79 ^a	70.59±0.01 ^a	68.76±0.42 ^a
Length (mm)	11.22±0.30 ^a	11.89±0.43 ^a	12.21±0.46 ^a
Width (mm)	9.11±0.16 ^a	9.89±0.18 ^a	10.36±0.52 ^a
Thickness (mm)	4.98±0.29 ^a	5.08±0.32 ^a	5.43±0.13 ^a
Equivalent diameter (mm)	7.98±0.19 ^a	8.42±0.12 ^a	8.82±0.34 ^a
Sphericity	0.70±0.01 ^a	0.71±0.01 ^a	0.72±0.00 ^a
Equivalent volume (mm ³)	266.17±10.90 ^b	312.62±2.06 ^{ab}	360.14±40.22 ^a

*Soaking Without US: Soaking without ultrasound, **Soaking With US: Soaking with 100% amplitude ultrasound. Differences between values shown in the same column in the Table with different letters (a-c, pre-treatment) are significant according to the 0.05 confidence limit.

Moisture Content Change During Drying

Table 2 indicated the effect of drying temperature and pre-treatments on moisture content of the corn samples. It was observed that the moisture content of conventional-soaked corn samples during 240 minutes of drying decreased from 41.81 to 9.62% at 80 °C and from 41.81 to 5.44% at 100 °C. The moisture content of ultrasound soaking pre-treated corn samples decreased from 45.17 to 6.32% during 240 minutes of drying at 80 °C and from 45.17 to 4.52% at 100 °C. As the temperature of drying increased, drying rate increased and moisture content decreased for the entire period of drying ($P\leq 0.05$). Higher initial rate of drying and higher moisture content decrease was observed for the first one hour of drying, which confirmed the earlier result (Özdemir and Devres, 1999) for hazel nuts. The effect of the ultrasonic pre-treatment was mainly observed during the hot air-drying where a significant decrease in moisture content was observed ($P\leq 0.05$) (Table 2). Yılmaz (2010) dried the corn in a convection drying system with hot air and stated that the drying time shortened as the drying temperature increased. This study is consistent with the present study.

The ultrasonic pre-treatment had a positive effect on drying because the decrease in the moisture content resulted in shorter hot air-drying time when compared with conventional pre-treated (Table 2). In

the drying of foods, time and ultrasound application increase the drying performance depending on the appropriate methods performed different conditions (Tüfekci and Ozkal, 2015). Ultrasonic waves can cause a sponge effect, which means that continuous contractions and expansions occur (Gallego-Juarez et al., 2007), so moisture can be easily removed by the microscopic channels created.

Thousand Kernel Weight Change During Drying

The thousand kernel weight of cereal grains is a useful index for milling efficiency in measuring the amount of foreign material and the amount of shriveled or immature grains in a given grain (Varnamkhasti et al., 2008). It is extensively used as quality criteria in cereal industry.

Table 2 shows the moisture content (% , d.b.), thousand kernel weight (g) and hectoliter weight (kg hl⁻¹) changes of corn with pre-treatment, temperature and time during drying. When the temperature increased from 80 to 100 °C, the thousand grain weight of the conventional and ultrasound-soaked corn samples decreased from 370.25 to 272.86 g and from 372.46 to 263.54 g, respectively. The decrease in thousand kernel weights with time, temperature and pre-treatments (conventional and ultrasound soaking) was found to be statistically significant ($P\leq 0.05$). It is thought that as the moisture content is removed from

the corn samples during drying, the weight of the corn samples decreases proportionally to the thousand kernel weight. A significant decrease was

observed in thousand kernel weights of corn samples dried in hot air dryer depending on the time ($P \leq 0.05$).

Table 2. Moisture content (% , d.b.), thousand kernel weight (g) and hectoliter weight (kg hl^{-1}) change of corn with pre-treatment, temperature and time during drying.

Çizelge 2. Kurutma sırasındaki ön işlem, sıcaklık ve süre ile mısırın nem içeriği (% , d.b.), bin tane ağırlığı (g) ve hektolitreye ağırlığı (kg hl^{-1}) değişimi.

Pre-treatment	Time (min)	Moisture content (%)			1000-kernel weight (g)			Hectoliter weight (kg hl^{-1})		
		Temperature								
		80°C	90°C	100°C	80°C	90°C	100°C	80°C	90°C	100°C
*Without US	0	41.81±0.11 ^{ax2}	41.81±0.12 ^{ax2}	41.81±0.09 ^{ax2}	370.25±0.68 ^{ex1}	370.25±0.68 ^{ex1}	370.25±0.68 ^{ex1}	70.59±0.01 ^{ex1}	70.59±0.01 ^{ex1}	70.59±0.01 ^{ex1}
	60	22.58±0.09 ^{bx1}	19.65±0.14 ^{by1}	17.56±0.04 ^{bz1}	312.88±0.11 ^{dx2}	310.80±0.65 ^{dy2}	303.09±0.25 ^{dz2}	66.87±0.00 ^{dx2}	64.09±0.01 ^{dy2}	63.04±0.01 ^{dz2}
	120	15.47±0.10 ^{cx1}	12.96±0.19 ^{cy1}	10.87±0.08 ^{cz1}	287.31±0.05 ^{ex2}	285.92±0.40 ^{ey2}	278.35±0.40 ^{ez2}	65.14±0.00 ^{cx2}	61.88±0.00 ^{cy2}	59.16±0.01 ^{cz2}
	180	11.71±0.05 ^{dx1}	9.20±0.16 ^{dy1}	7.11±0.14 ^{dz1}	282.12±0.11 ^{bz2}	280.20±0.90 ^{by2}	274.04±0.30 ^{bx2}	64.10±0.01 ^{bz2}	60.80±0.01 ^{by2}	58.17±0.00 ^{bx2}
	240	9.62±0.04 ^{ex1}	6.27±0.14 ^{ey1}	5.44±0.12 ^{ez1}	279.78±0.08 ^{az2}	277.75±0.13 ^{ay2}	272.86±0.23 ^{ax2}	63.45±0.01 ^{az2}	59.13±0.01 ^{ay2}	57.28±0.00 ^{ax2}
**With US	0	45.17±0.09 ^{ax1}	45.17±0.12 ^{ax1}	45.17±0.13 ^{ax1}	372.46±0.72 ^{ex2}	372.46±0.72 ^{ex2}	372.46±0.72 ^{ex2}	68.76±0.61 ^{ex1}	68.76±0.61 ^{ex1}	68.76±0.61 ^{ex1}
	60	19.42±0.12 ^{bx2}	16.71±0.13 ^{by2}	14.91±0.05 ^{bz2}	300.10±1.00 ^{dx1}	290.96±0.91 ^{cy1}	284.56±0.83 ^{cx1}	64.69±0.00 ^{dx1}	62.79±0.00 ^{cy1}	61.97±0.00 ^{cx1}
	120	11.74±0.06 ^{cx2}	9.49±0.12 ^{cy2}	7.68±0.04 ^{cz2}	276.71±0.17 ^{ex1}	271.07±0.81 ^{by1}	269.87±0.42 ^{bx1}	62.15±0.00 ^{cx1}	59.92±0.01 ^{by1}	57.84±0.01 ^{bx1}
	180	8.58±0.04 ^{dx2}	7.68±0.14 ^{dy2}	6.32±0.12 ^{dz2}	272.42±0.13 ^{bz1}	266.36±0.28 ^{by1}	264.36±0.06 ^{bx1}	61.07±0.00 ^{bz1}	58.19±0.01 ^{by1}	56.21±0.00 ^{bx1}
	240	6.32±0.06 ^{ex2}	5.42±0.10 ^{ey2}	4.52±0.14 ^{ez2}	270.67±0.04 ^{az1}	265.44±0.04 ^{ay1}	263.54±0.32 ^{ax1}	60.02±0.00 ^{az1}	57.62±0.00 ^{ay1}	55.56±0.01 ^{ax1}

*Without US: Soaking without ultrasound, **With US: Soaking with 100% amplitude ultrasound. Differences between values shown in the same column in the Table with different numbers (1-2, ultrasound) and letters (a-e, time) and with different letters in the same line (x-z, temperature) are significant according to the 0.05 confidence limit.

It was observed that as the temperature increased and ultrasound soaking applied, the drying time was shortened and the thousand kernel weight decreased. Ampah (2011) reported that as the moisture of the cowpea sample decreased from 19.00 to 9.58% during drying, the thousand kernel weight of the cowpea sample also decreased from 132.85 to 120.13 g. In a study by Alibaş (2012), the artichoke slices were dried at 50 °C for 300 minutes, at 75 °C for 210 minutes and at 100 °C for 130 minutes. He reported that the drying time was shortened with the increase in temperature, and the weight of the artichoke slices decreased depending on the temperature. The studies are consistent with this study.

Hectoliter Weight Change During Drying

It has been reported that the hectoliter weight is an important and used attribute in the transportation and storage processes of corn grain (Yuan and Flores, 1996). Factors affecting hectoliter weight are grain size, shape, shell structure, moisture content, foreign material ratio, broken grains and specific weight. While corns with full and hard endosperm have a high hectoliter weight, immature corns have a low hectoliter weight (Rooney and Suhendro, 2000). Table 2 shows the hectoliter weight change of the pre-treated corn at different drying conditions and temperatures during 240 min drying. Hectoliter weights of conventional soaked corn samples during drying at 80, 90 and 100 °C decreased from 70.59 to 63.45 kg hl^{-1} from 70.59 to 59.13 kg hl^{-1} from 70.59 to 57.28 kg hl^{-1} , respectively. It was observed that the hectoliter weights of ultrasound-soaked corn samples during drying at 80, 90 and 100 °C decreased from 68.76 to 60.02 kg hl^{-1} from 68.76 to 57.62 kg hl^{-1} from 68.76 to 55.56 kg hl^{-1} , respectively. When comparing the conventional and ultrasound-soaked corn samples during drying at 80 °C, the hectoliter weight values decreased from 70.59 to 63.45 kg hl^{-1} and from 68.76

to 60.02 kg hl^{-1} . Similar decreases in hectoliter weights were obtained for 90 and 100 °C drying. Changes in temperature, pre-treatment and time showed statistically significant decrease in hectoliter weight of corn samples during drying ($P \leq 0.05$).

As the temperature increased and ultrasound pre-treatment applied, it was observed that the hectoliter weight decreased due to increase of drying rate and mass loss of corn kernel. In a study, it was determined that the hectoliter weight of corn grains dried at 25-100 °C decreased as the temperature increased (Peplinski et al., 1994). The research is consistent with this study.

Dimensional (Length, Width and Thickness), Equivalent Diameter, Sphericity and Equivalent Volume Change During Drying

The measurement of dimensions of grains is used in the design of grain measuring devices, separating sieves, pneumatic conveying systems and fields connected to combines. The sorting systems in grain processing also depend on the size and shape dimensions (Stroshine and Hamann, 1995). The major diameter, length is the longest dimension of the longest projected area. Small diameter, thickness is the shortest dimension of the shortest projected area. Intermediate diameter, width, is the minimum diameter over the maximum projected area (Stroshine and Hamann, 1995). The dimensions of the corn grains are used in the selection of sieves for separators and energy determinations during the milling process. It is also used to determine for the surface area and volume of kernels, which is important during grain drying, aeration, heating and cooling modeling. Dimensional changes are important in the design of drying, storage and seed coat threshers (Varnamkhasti et al., 2007; Karimi et al., 2009).

The change in size of corn during drying was given in Table 3. As the time increased, the lengths of the corn samples decreased with pre-treatment and temperature during drying due to water removal and decrease in kernel size. The decrease in the lengths of corn samples between 0-120 min at 80, 90 and 100 °C during drying with conventional soaking was statistically significant ($P \leq 0.05$), while decrease in that of between 120-240 min at the same temperatures was not statistically significant

($P > 0.05$). The decrease in the lengths of the corn samples between 0 and 60 minutes at 80, 90 and 100 °C drying with ultrasound-soaked was statistically significant ($P \leq 0.05$), while the decrease in the lengths of the corn samples was not statistically significant ($P > 0.05$) after 60 min drying. As the drying time increased, the widths of the conventional soaked samples decreased with the temperature and this decrease was found to be statistically significant at all drying times ($P \leq 0.05$).

Table 3. Length (L, mm), width (W, mm) and thickness (T, mm) change of corn with pre-treatment, temperature and time during drying.
 Çizelge 3. Kurutma sırasındaki ön işlem, sıcaklık ve süre ile mısırın uzunluk (L, mm), genişlik (W, mm) ve kalınlık (T, mm) değişimi.

Pre-treatment	Time (min)	Length (mm)			Width (mm)			Thickness (mm)		
					Temperature					
		80°C	90°C	100°C	80°C	90°C	100°C	80°C	90°C	100°C
*Without US	0	11.89±0.13 ^{bx1}	11.89±0.06 ^{bx1}	11.89±0.43 ^{bx1}	9.89±0.06 ^{dx1}	9.89±0.02 ^{dx1}	9.89±0.03 ^{ex1}	5.08±0.02 ^{ax1}	5.08±0.06 ^{ax1}	5.08±0.09 ^{ax1}
	60	11.54±0.05 ^{bx1}	11.52±0.16 ^{bx1}	11.48±0.38 ^{bx1}	9.72±0.12 ^{cy1}	9.61±0.14 ^{cx1}	9.67±0.13 ^{byx1}	5.05±0.11 ^{ax1}	5.02±0.17 ^{ax1}	4.99±0.09 ^{ax1}
	120	11.48±0.32 ^{ax1}	11.46±0.26 ^{ax1}	11.41±0.28 ^{ax1}	9.66±0.24 ^{bx1}	9.55±0.22 ^{cbx1}	9.60±0.13 ^{bayx1}	5.04±0.11 ^{ax1}	5.01±0.21 ^{ax1}	4.98±0.02 ^{ax1}
	180	11.39±0.21 ^{ax1}	11.36±0.15 ^{ax1}	11.29±0.13 ^{ax1}	9.65±0.21 ^{by1}	9.52±0.13 ^{bx1}	9.57±0.31 ^{bayx1}	5.03±0.10 ^{ax1}	5.00±0.16 ^{ax1}	4.95±0.10 ^{ax1}
	240	11.35±0.08 ^{ax1}	11.32±0.12 ^{ax1}	11.26±0.15 ^{ax1}	9.57±0.22 ^{ay1}	9.43±0.34 ^{ax1}	9.54±0.32 ^{ay1}	4.99±0.13 ^{ax1}	4.96±0.11 ^{ax1}	4.94±0.07 ^{ax1}
**With US	0	12.21±0.46 ^{bx1}	12.21±0.42 ^{bx1}	12.21±0.32 ^{bx1}	10.36±0.52 ^{bx1}	10.36±0.32 ^{bx1}	10.36±0.34 ^{bx1}	5.43±0.12 ^{bx2}	5.43±0.11 ^{bx2}	5.43±0.02 ^{bx2}
	60	11.35±0.53 ^{ax1}	11.32±0.32 ^{ax1}	11.34±0.31 ^{ax1}	9.60±0.13 ^{ax1}	9.60±0.05 ^{ax1}	9.54±0.07 ^{ax1}	4.96±0.37 ^{ax1}	4.92±0.12 ^{ax1}	4.91±0.16 ^{ax1}
	120	11.26±0.50 ^{ax1}	11.24±0.30 ^{ax1}	11.19±0.35 ^{ax1}	9.48±0.15 ^{ax1}	9.49±0.04 ^{ax1}	9.41±0.05 ^{ax1}	4.94±0.38 ^{ax1}	4.90±0.13 ^{ax1}	4.88±0.12 ^{ax1}
	180	11.20±0.30 ^{ax1}	11.14±0.32 ^{ax1}	11.12±0.38 ^{ax1}	9.46±0.14 ^{ax1}	9.46±0.01 ^{ax1}	9.38±0.04 ^{ax1}	4.92±0.34 ^{ax1}	4.88±0.18 ^{ax1}	4.85±0.13 ^{ax1}
	240	11.17±0.33 ^{ax1}	11.12±0.35 ^{ax1}	11.08±0.31 ^{ax1}	9.45±0.13 ^{ax1}	9.45±0.02 ^{ax1}	9.36±0.07 ^{ax1}	4.90±0.33 ^{ax1}	4.86±0.19 ^{ax1}	4.83±0.15 ^{ax1}

*Without US: Soaking without ultrasound, **With US: Soaking with 100% amplitude ultrasound. Differences between values shown in the same column in the Table with different numbers (1-2, ultrasound) and letters (a-e, time) and with different letters in the same line (x-z, temperature) are significant according to the 0.05 confidence limit.

Although the decrease in width of ultrasound pre-treated and dried corn samples at 80, 90 and 100 °C was found to be statistically significant in the first hour ($P \leq 0.05$), the decrease after one hour was not statistically significant ($P > 0.05$).

With the increase of the time, the thickness of the conventional soaked corn samples dried in the hot air dryer at 80, 90 and 100 °C decreased from 5.08 to 4.99 mm, from 5.08 to 4.96 mm, from 5.08 to 4.94 mm, respectively, but this decrease was not statistically significant ($P > 0.05$). While the thickness reduction of ultrasound pre-treated corn samples during drying at 80, 90 and 100 °C was statistically significant in the first 60 min ($P \leq 0.05$), the decrease was not statistically significant in the following times ($P > 0.05$).

Table 4 shows the dimensional analysis of corns dried in hot air dryer during 240 minutes under different conditions. Equivalent diameters of conventional soaked corn samples during drying at 80, 90 and 100 °C decreased from 8.42 to 8.16 mm, from 8.42 to 8.09 mm and from 8.42 to 8.10 mm, respectively. This decrease was statistically significant during drying ($P \leq 0.05$). Equivalent diameters of ultrasound-soaked corn samples during drying at 80, 90 and 100 °C decreased from 8.82 to 7.95 mm, from 8.82 to 8.01 mm and from 8.82 to 8.03 mm, respectively. It was found to be statistically significant in the first 60 min, but not statistically significant for drying times greater than 60 min ($P > 0.05$). As the time increased, the sphericity values of conventional and 100% amplitude ultrasound-soaked corn samples dried at 80, 90 and

100 °C did not statistically different ($P > 0.05$). When the temperature increased from 80 to 100 °C, the equivalent volumes of conventional-soaked and ultrasound-treated corn samples decreased from 312.62 to 284.00 mm³ and from 360.14 to 271.55 mm³, respectively. This decrease was statistically significant in the first 60 min, but not statistically significant for drying times greater than 60 min ($P > 0.05$). Equivalent diameter (D_e) and equivalent volume of the samples dried in hot air dryer for all conditions and times decreased. This decrease is thought to be due to the removal of water from the grain.

When the temperature changed between 80-100 °C, the equivalent diameter, sphericity and an equivalent volume of the examined corn samples decreased, but this decrease was not statistically significant ($P > 0.05$) (Table 4). It is thought that the reason for this is that the corn was dried at high temperatures and the temperatures were close to each other. The effect of different pre-treatments on the equivalent diameters, sphericity, and equivalent volume of the corn samples during drying was not found significantly ($P > 0.05$).

The size of corn decreased rapidly in 0-60 minutes of drying ($P \leq 0.05$). This is because the corn begins to heat up with the warm air around it, and it is thought that the corn quickly decreases in size as the moisture on its surface dries out first. As the drying time increased, the decrease in the size of the corn slowed down. It is thought that the reason for this is that the moisture in the corn dries later and this drying takes

more time. Lilhare and Bawane (2012) stated that the size of the paddy sample decreased with increasing

time and temperature during drying. Reported studies show consistent with this study.

Table 4. Equivalent diameter (D_e , mm), sphericity (Φ) and equivalent volume (V_e , mm^3) change of corn with pre-treatment, temperature and time during drying. Çizelge 4. Kurutma sırasındaki ön işlem, sıcaklık ve süre ile eşdeğer çap (D_e , mm), küresellik (Φ) ve eşdeğer hacim (V_e , mm^3) değişimi.

Pre-treatment	Time (min)	Equivalent diameter (mm)			Sphericity		Equivalent volume (mm^3)		
					Temperature				
		80°C	90°C	100°C	80°C	100°C	80°C	90°C	100°C
*Without US	0	8.42±0.02 ^{bx1}	8.42±0.05 ^{cx1}	8.42±0.01 ^{bx1}	0.71±0.01 ^{ax1}	0.71±0.01 ^{ax1}	312.62±2.06 ^{bx1}	312.62±2.06 ^{cx1}	312.62±2.06 ^{bx1}
	60	8.28±0.06 ^{bx1}	8.22±0.15 ^{bx1}	8.21±0.17 ^{bx1}	0.72±0.02 ^{ax1}	0.71±0.01 ^{ax1}	296.72±6.84 ^{ax1}	290.83±4.50 ^{bx1}	289.84±11.99 ^{abx1}
	120	8.24±0.13 ^{ax1}	8.18±0.21 ^{ax1}	8.17±0.13 ^{ax1}	0.72±0.01 ^{ax1}	0.71±0.02 ^{ax1}	292.44±6.78 ^{ax1}	286.60±4.45 ^{abx1}	285.09±11.11 ^{ax1}
	180	8.21±0.03 ^{ax1}	8.15±0.14 ^{bx1}	8.12±0.10 ^{ax1}	0.72±0.01 ^{ax1}	0.72±0.01 ^{ax1}	289.25±6.73 ^{ax1}	282.94±5.16 ^{abx1}	279.88±10.97 ^{ax1}
	240	8.16±0.05 ^{ax1}	8.09±0.01 ^{ax1}	8.10±0.12 ^{ax1}	0.72±0.00 ^{ax1}	0.71±0.01 ^{ax1}	284.00±6.65 ^{ax1}	277.25±4.36 ^{ax1}	277.82±10.90 ^{ax1}
**With US	0	8.82±0.32 ^{bx1}	8.82±0.35 ^{bx1}	8.82±0.22 ^{bx1}	0.72±0.01 ^{ax1}	0.72±0.01 ^{ax1}	360.14±40.22 ^{bx1}	360.14±40.22 ^{bx1}	360.14±40.22 ^{bx1}
	60	8.05±0.30 ^{ax1}	8.16±0.16 ^{ax1}	8.10±0.11 ^{ax1}	0.72±0.02 ^{ax1}	0.72±0.02 ^{ax1}	273.70±30.24 ^{ax1}	284.14±16.99 ^{ax1}	278.26±1.46 ^{ax1}
	120	7.99±0.28 ^{ax1}	8.08±0.17 ^{ax1}	8.00±0.21 ^{ax1}	0.72±0.01 ^{ax1}	0.72±0.03 ^{ax1}	267.64±29.79 ^{ax1}	276.39±17.41 ^{ax1}	267.58±0.71 ^{ax1}
	180	7.97±0.26 ^{ax1}	8.03±0.12 ^{ax1}	8.06±0.16 ^{ax1}	0.72±0.02 ^{ax1}	0.72±0.02 ^{ax1}	265.63±29.64 ^{ax1}	271.44±16.65 ^{ax1}	274.32±15.87 ^{ax1}
	240	7.95±0.29 ^{ax1}	8.01±0.13 ^{ax1}	8.03±0.18 ^{ax1}	0.72±0.01 ^{ax1}	0.72±0.00 ^{ax1}	263.64±29.49 ^{ax1}	268.76±16.37 ^{ax1}	271.55±16.13 ^{ax1}

*Without US: Soaking without ultrasound, **With US: Soaking with 100% amplitude ultrasound. Differences between values shown in the same column in the Table with different numbers (1-2, ultrasound) and letters (a-e, time) and with different letters in the same line (x-z, temperature) are significant according to the 0.05 confidence limit.

CONCLUSION

In this study, the chemical and technological analysis of corn grains grown widely in the Mardin region were examined, and ultrasound (40 kHz 200 W, 100% amplitude) pre-treatment was applied and they were dried in a laboratory type hot air dryer at 80, 90 and 100 °C, and the results during drying analyzes (size (length, width, thickness), equivalent diameter, sphericity, equivalent volume, thousand grain weight and hectoliter weight) were examined. It was observed that the moisture content of corn increased with ultrasound pre-treatment during soaking and decreased during drying at all drying temperatures due to sponge and cavitation effect. The effect of ultrasound pre-treatment on the size of the corn kernels during drying was not significant ($P>0.05$), while the effect on the thousand kernel weight and hectoliter weight values was significant ($P\leq 0.05$). As the drying time increased, the decrease in the size of the corn kernels, thousand kernel weight and hectoliter weight were significant ($P\leq 0.05$). While the drying temperature increased, the reduction in the size of the corn kernels was not significant ($P>0.05$), the reduction in thousand kernel weight and hectoliter weight was significant ($P\leq 0.05$). It is thought that the use of ultrasound in direct drying instead of ultrasound pre-treatment for corn may affect drying more effectively. At the same time, comparisons can be made in terms of energy consumption in drying with ultrasound pre-treatment.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by HÜBAP. Project No: 18173.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Author Contributions

Ali Yıldırım: Contributed as the thesis supervisor. The

Master's thesis student Zana Karaboğa carried out the preparation of samples, analyses, reporting, and writing and correction of literature sources. Both of authors were responsible for interpretation and discussion of the results. Both of authors approved the submitted version.

REFERENCES

- Adebowale KO, Olu-Owolabi BI, Olawumi EK, Lawal OS 2005. Functional Properties of Native, Physically and Chemically Modified Breadfruit (*Artocarpus Artilis*) Starch. *Industrial Crops and Products*, 21: 343-351.
- Alibaş İ 2012. Sıcak Havayla Kurutulan Enginar (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus*) Dilimlerinin Kuruma Eğrilerinin Tanımlanmasında Yeni Bir Modelin Geliştirilmesi ve Mevcut Modellerle Kıyaslanması. *Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(1): 49-61.
- Altinel B 2002. Sanayide Kullanılan Mısır ile Kuru Öğütme ve Ürünlerinin Bazı Özellikleri. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, 91s.
- Ampah 2011. Effect of Rewetting and Drying on Selected Physical Properties of Asontem Cowpea Variety. *Master of Science in Food and Postharvest Engineering. Department of Agricultural Engineering. Kwame Nkrumah University*, 128p.
- Anonymous 1999. *American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of the AACC Method* 55-10.01.
- Association of Official Analytical Chemists International (AOAC) 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th edn (edited by K. Helrich). Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists Inc. Pp: 1028-1039.
- Babaoğlu M 2005. *Mısır ve Tarımı. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Edirne*.

- Bart-Plange A, Baryeh EA 2003. The Physical Properties of Category B Cocoa Beans. *Journal of Food Engineering* 60: 219-227.
- Bayram M, Öner MD, Kaya A 2004. Influence of Soaking on the Dimensions and Colour of Soybean for Bulgur Production. *Journal of Food Engineering*, 61: 331-339.
- Carcel JA, Garcia-Perez JV, Riera E, Mulet A 2007. Influence of High-Intensity Ultrasound on Drying Kinetics of Persimmon. *Drying Technol.*, 25(1): 185-193.
- Chen Z, Guo X, Wu T 2016. A Novel Dehydration Technique for Carrot Slices Implementing Ultrasound and Vacuum Drying Methods. *Ultrasonics Sonochemistry*, 30: 28-34.
- De La Fuente-Blanco S, De Sarabia ERF, Acosta-Aparicio VM, Blanco-Blanco A, Gallego-Juarez JA 2006. Food Drying Process by Power Ultrasound. *Ultrasonics*, 44: 523-527.
- Efe E, Bek Y, Şahin M 2000. SPSS'te Çözümleri ile İstatistik Yöntemleri II. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörlüğü, Kahramanmaraş, Yayın:10, 200s.
- Fernandes FA, Gallao MI, Rodrigues S 2008. Effect of Osmotic Dehydration and Ultrasound Pretreatment on Cell Structure: Melon Dehydration. *LWT-Food Sci. Technol.*, 41(4): 604-610.
- Fernandes FA, Gallao MI, Rodrigues S 2009. Effect of Osmosis and Ultrasound on Pineapple Cell Tissue Structure During Dehydration. *Journal of Food Engineering*, 90(2): 186-190.
- Fernandes FA, Rodrigues S 2007. Ultrasound as Pretreatment for Drying of Fruits: Dehydration of Banana. *Journal of Food Engineering*, 82(2): 261-267.
- Gallego-Juarez JA, Riera E, De La Fuente Blanco S, Rodriguez-Corral G, Acosta-Aparicio VM Blanco A 2007. Application of High-Power Ultrasound for Dehydration of Vegetables: Processes and Devices. *Drying Technol.*, 25(11): 1893-1901.
- Garcia-Noguera J, Oliveira FI, Gallao MI, Weller CL, Rodrigues S, Fernandes FA 2010. Ultrasound-Assisted Osmotic Dehydration of Strawberries: Effect of Pretreatment Time and Ultrasonic Frequency. *Drying Technol.*, 28(2): 294-303.
- Garcia-Perez JV, Carcel JA, Benedito J, Mulet A 2007. Power Ultrasound Mass Transfer Enhancement in Food Drying. *Food Bioprod. Process.*, 85(3): 247-254.
- Jafari A, Zare D 2017. Ultrasound-Assisted Fluidized Bed Drying of Paddy: Energy Consumption and Rice Quality Aspects. *Drying Technol.*, 35(7): 893-902.
- Karimi M, Kheiralipour K, Tabatabaefar A, Khoubakht GM, Naderi M, Heidarbeigi K 2009. The Effect of Moisture Content on Physical Properties of Wheat. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(1): 90-95.
- Karki B 2009. Use of High-Power Ultrasound During Soy Protein Production and Study of its Effect on Functional Properties of Soy Protein Isolate. Unpublished Ph.D. Dissertation, Iowa State University: Ames, United States America, 97p.
- Kaygısız A, Tümer R 2009. Kahramanmaraş İli Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Yapısal Özellikleri: 3. Hayvan Besleme Alışkanlıkları. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 12(1): 48-52.
- Lilhare SF, Bawane NG 2012. Drying Rate Analysis of Different Size Paddy Processed Under Various Drying Conditions in L.S.U Dryer. *International Journal of Engineering Research and Technology (IJERT)*, 1(7): 2278-0181.
- Miano AC, Ibarz A, Augusto PED 2017. Ultrasound Technology Enhances the Hydration of Corn Kernels Without Affecting Their Starch Properties. *Journal of Food Engineering*, 197: 34-43.
- Mohsenin N 1986. *Physical Properties of Plants and Animal Materials*. Gordon and Breach Science Publishers, Pp. 278-286.
- Nowacka M, Wiktor A, Sledz M, Jurek N, Witrowa-Rajchert D 2012. Drying of Ultrasound Pretreated Apple and its Selected Physical Properties. *Journal of Food Engineering*, 113(3): 427-433.
- Özdemir M, Devres YO 1999. The Thin Layer Drying Characteristics of Hazelnuts during Roasting. *Journal of Food Engineering*, 42(4): 225-233.
- Özler S, Ergüneş G, Tarhan S 2006. Mısırdaki Farklı Ön İşlemlerin Kuruma Hızına Etkisi. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(2): 160-166.
- Pan Z, Eckhoff SR, Paulsen MR, Litchfield JB 1996. Physical Properties and Dry-Milling Characteristics of Six Selected High-Oil Maize Hybrids. *Cereal Chemistry*, 73(5): 517-520.
- Peplinski AJ, Paulis JW, Bietz JA, Pratt RC 1994. Drying of High-Moisture Corn: Changes in Properties and Physical Quality. *Cereal Chemistry*, 71(2): 129-133.
- Peplinski AJ, Paulsen MR, Bouzaher A 1992. Physical, Chemical, and Dry-Milling Properties of Corn of Varying Density and Breakage Susceptibility. *Cereal Chemistry*, 69(4): 397-400.
- Polatçı H, Altuntas E, Tarhan S 2020. Water Absorption and Physical Characteristics of Maize (*Zea mays* L.) Varieties. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*, 37(3): 123-129.
- Rodriguez O, Santacatalina JV, Simal S, Garcia-Perez JV, Femenia A, Rossello C 2014. Influence of Power Ultrasound Application on Drying Kinetics of Apple and its Antioxidant and Microstructural Properties. *Journal of Food Engineering*, 129: 21-29.
- Rooney LW, Suhendro EL 2000. Food Quality of Corn. Texas A&M University, Texas, 1-38 (unpublished).
- Saygı M, Toklu F 2016. Çukurova Koşullarında Yetiştirilen Bazı Atıdışı Mısır (*Zea mays indentata*

- Sturt.) Çeşitlerinin Önemli Bitkisel Karakterler, Verim Komponentleri ve Dane Verimi Yönünden Değerlendirilmesi. Ç.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 34: 3-163.
- Schossler K, Jager H, Knorr D 2012. Novel Contact Ultrasound System for the Accelerated Freeze-Drying of Vegetables. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 16: 113-120.
- Singh B, Pandey S, Pal AK, Singh J, Rai M 2005. Correlation and Path Coefficient Analysis in Asiatic Carrot. *Veg. Sci.*, 32(2): 136-139.
- Stroshine R, Hamann D 1995. *Physical Properties of Agricultural Materials and Food Products. Course Manual*, Purdue University, Indiana.
- Tüfekçi S, Özkal SG 2015. Gıdaların Kurutulmasında Ultrases Kullanımı. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimi Dergisi, 21(9): 408-413.
- Tuncel NB, Yılmaz N, Kocabıyık H, Öztürk N, Tuncel M 2010. The Effects of Infrared and Hot Air Drying on Some Properties of Corn (*Zea Mays*). *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8(1): 63-68.
- Üçer N, Kılıçkan A, Yalçın B 2010. Effects of Moisture Content on Some Physical Properties of Red Pepper (*Capsicum Annuum L.*) Seed. *African Journal of Biotechnology*, 9(24): 3555-3562.
- Ulusoy K, Karakaya M 2011. Gıda Endüstrisinde Ultrasonik Ses Dalgalarının Kullanımı. *Gıda*, 36(2): 113-120.
- Varnamkhasti M, Mobli H, Jafari A, Keyhani AR, Soltanabadi MH, Rafiee S, Kheiralipour K 2008. Some Physical Properties of Rough Rice (*Oryza Sativa*) Grain. *Journal of Cereal Science*, 47: 496-501.
- Varnamkhasti MG, Mobli H, Jafari A, Rafiee S, Soltanabadi MH, Kheiralipour K 2007. Some Engineering Properties of Paddy (var. sazandegi). *International Journal of Agriculture and Biology*, 9: 763-766.
- Vartanlı S, Emeklier HY 2007. Ankara Koşullarında Hibrit Mısır Çeşitlerinin Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 13(3): 195-202.
- Williams PC, Nakoul H, Singh KB 1983. Relation Ship Between Cooking Time and Some Physical Characteristics in Chick Peas (*Cicer Arietinum L.*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 492-496.
- Yıldırım A, Atasoy AF 2017. Change in Weight and Dimensions of Cowpea (*Vigna unguiculata L. walp.*) During Soaking. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri*, 21(4): 420-430.
- Yıldırım A, Bayram M, Öner MD 2009. Nohuttaki (*Cicer Arietinum L.*) Su Difüzyon Katsayılarına Sıcaklık ve Ultrasonik Ses Dalgalarının Etkisi. 6.Gıda Mühendisliği Kongresi, 06-08 Kasım, ANTALYA.
- Yıldırım A, Öner MD 2005. Electrical Conductivity, Water Absorption, Leaching, and Color Change of Chickpea (*Cicer arietinum L.*) During Soaking with Ultrasound Treatment. *International Journal of Food Properties*, 18: 1359-1372.
- Yılmaz S 2010. Mısırın Dinlendirmeli Kurutma Davranışının İncelenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Makine Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 93s.
- Youssef MM 1978. A Study of Factors Affecting the Cook Ability of Faba Beans (*Vicia Faba L.*). Ph. D. Thesis, College of Agricultural University of Alexandria, Alexandria, EGYPT.
- Yuan J, Flores RA 1996. Laboratory Dry-Milling Performance of White Corn: Effect of Physical and Chemical Corn Characteristics. *Cereal Chemistry*, 73(5): 574-578.
- Yüksel Y, Elgün A 2013. Buğdayın Islatılması Sırasında Ultrason İşlemi Uygulamanın Tanenin Su Absorbsiyonu Üzerine Etkisi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 15(2): 1-14.
- Zhang Y, Darlington H, Jones HD, Halford NG, Napier JA, Davey MR, Lazzeri PA, Shewry PR 2003. Expression of the Gamma-Zein Protein of Maize in Seeds of Transgenic Barley: Effects on Grain Composition and Properties. *Theor. Appl. Genet.*, 106: 1139-1146.

Pestisit Kullanımının Bal Verimi Üzerine Etkisi: Panel Veri Analizi

Güngör-KARAKAŞ¹

¹Hitit Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, Uluslararası Ticaret ve Lojistik Yönetimi Bölümü, Akkent Kampüsü, Çorum

¹<https://orcid.org/0000-0001-5236-2407>

✉: gungorkarakas@hitit.edu.tr

ÖZET

Dünyada tarımsal üretimde zararlılarla mücadele etmek için kullanılan pestisitler ekosistemde bazı negatif dışsallıklara yol açmaktadır. Pestisit kullanımı bal arıları üzerinde ciddi problemler oluşturmaktadır. Bu araştırmanın amacı pestisit kullanımı ve bal verimi arasındaki ilişkiyi 1992-2017 periyodunda panel veri analizi yöntemi ile test etmektir. Bu amaca yönelik olarak Dünya bal üretiminin %43'ünü temsil eden ülkelerden Çin, Türkiye, İran ve Hindistan örnek olarak seçilmiştir. Bal verimi ve toplam pestisit kullanımı arasındaki ilişki Panel Pedroni eş bütünleşme testi ile incelendikten sonra bal verimi üzerinde pestisit kullanımının etkisi sağlam bir şekilde ölçmek için Panel Dinamik En Küçük Kareler (DOLS) yöntemi ve Gecikmesi Dağıtılmış Otoregresif (ARDL) yöntemi kullanılmıştır. DOLS analizi sonucunda, pestisit kullanımında %1'lik bir artış olması durumunda bal veriminde %0.37'lik bir azalma olduğu tespit edilmiştir. ARDL sonuçlarına göre kısa dönemde pestisit kullanımında %1 artışın olması durumunda bal veriminde %0.18 artış görünmesine rağmen uzun dönemde bal veriminde %0.24 azalış olduğu hesaplanmıştır. Yapılan her iki analiz yöntemine göre de pestisit bal verimini düşürdüğü görülmüştür. Sonuç olarak, arıların yaşam yerlerinden uzak yerlerde ve daha az pestisit kullanımının arıların yaşam kalitesini ve bal verimini artıracığı söylenebilir.

Tarım Ekonomisi

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 22.05.2021

Kabul Tarihi : 01.10.2021

Anahtar Kelimeler

Pestisit

Bal Arısı

Bal Verimi

Panel Veri

The Effect of Pesticide Uses on Honey Yield: Panel Data Analysis

ABSTRACT

Pesticides used to combat pests in agricultural production in the world cause some negative externalities in the ecosystem. Pesticide use creates serious problems on honey bees. The purpose of this study is to test the relationship between pesticide use and honey yield with panel data analysis method in the period of 1992-2017. For this purpose, China, Turkey, Iran and India were chosen as examples since these countries represent 43% of world honey production. After analyzing the relationship between honey yield and total pesticide use with the Panel Pedroni cointegration test, Panel Dynamic Least Squares (DOLS) method and Autoregressive Distributed Lag (ARDL) method were used to measure the effect of pesticide use on honey yield. As a result of the DOLS analysis, it was determined that there was a 0.37% decrease in honey yield in case of a 1% increase in pesticide use. In addition, in the ARDL analysis, it was calculated that although there was an increase of 0.18% in honey yield in the case of a 1% increase in pesticide use in the short term, there was a 0.24% decrease in honey yield in the long term. According to both analysis methods, it was observed that the pesticide decreased the honey yield. As a result, it can be said that the use of less pesticides in places far from the bees' habitat will increase the quality of life and honey yield of bees.

Agricultural Economy

Research Article

Article History

Received : 22.05.2021

Accepted : 01.10.2021

Keywords

Pesticide

Honey Bee

Honey Yield

Panel Data

To Cite : Karakas G 2022. The Effect of Pesticide Uses on Honey Yield; Panel Data Analysis. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1163-1167. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.849861>

GİRİŞ

Doğa ve insanlığa pek çok faydası bulunan arıların sürdürülebilir tarımsal üretimde önemli bir yeri vardır (Aizen ve ark., 2008; Lawton, 1998). Tarımsal ürün veriminde yaklaşık %10 artış sağlayan bal arıları ve diğer tozlayıcıların (Gallai ve ark., 2009) son yıllarda dünyanın çeşitli bölgelerinde ölümlerinde artış ve tarımsal üretimde verim düşüklüğü rapor edilmektedir (Biesmeijer ve ark., 2006; Dave Goulson ve Darvill, 2008). Bal arısı sağlığını parazitler ve zararlılar, patojenler, zayıf beslenme ve böcek ilacı tehdit etmektedir (Dave Goulson ve ark., 2015). Yapılan pek çok çalışmada bal arılarının pestisit maruz kalması sonucu koloni kayıpları olduğu bildirilmiştir (Botías ve ark., 2017; Harriet ve ark., 2017). Patojenler, pestisitler ve bunların etkileşimleri, iklim değişikliği, tarımsal yoğunlaşma ve yerli olmayan türler (González-Varo ve ark., 2013) bal arısı kolonilerini tehlikeye atmıştır (Kluser ve ark., 2011; Le Conte ve ark., 2011; Martin ve ark., 2012). Ayrıca kitlesel koloni kayıplarının hastalık veya bölgesel zehirlenme ile ilgili olduğu (Pistorius ve ark., 2009) ve pestisit kullanımının büyük koloni ölümlerine neden olduğu da iddia edilmiştir (Nguyen ve ark., 2010; Potts ve ark., 2010; vanEngelsdorp ve Meixner, 2010). Tüm dünyada artan pestisit kullanımı ile verim arasındaki ilişki bu çalışmanın temel konusudur.

1990'lı yıllardan itibaren pestisit kullanımı tüm dünyada artmaya başlamıştır. Tarımsal ürünlerin artışı sağlayan pestisitlerin aşırı miktarda kullanılması sonucunda neredeyse pestisit kullanmadan tarımsal ürün yetiştirmek imkânsız hale gelmiştir. Beklenmedik bir şekilde Avrupa'da ve Amerika'da yüksek koloni kayıplarının ilk rapor edildiği 2006 yılından beri arıların ölümü ve koloni kayıplarının nedenleri ile ilgili bilimsel makaleler yayınlanmıştır (Fairbrother ve ark., 2014). Küresel bal arısı ölümlerinin önemli nedenlerinden biri olan pestisitler arıları üzerinde fiziksel ve gelişim anomalileri oluşturmakla kalmamış aynı zamanda onların kavrayış yeteneğinin hasar görmesine neden olmuştur (Chakrabarti ve ark., 2019). Hem tarla hem de laboratuvar koşullarında pestisite maruz kalan arı popülasyonları ile yapılan bilimsel deney sonuçlarına göre, arılardaki iki görsel proteinde (maviye duyarlı Opsin ve Rodopsin) önemli bir azalma olduğunu belirlenmiştir (Chakrabarti ve ark., 2019). Bu proteinlerin azalması arıların kovanlarını bulamamasına neden olmaktadır. Bal arılarının farklı insektisitlere (Mullin ve ark., 2010; Sanchez-Bayo ve Goka, 2014) ve fungusitlere de (Johnson ve ark., 2010) maruz kaldığı ve bunun sonucunda bal verim düşüklüğü olduğu rapor edilmiştir.

Pestisitler zararlılarla mücadele etmek ve daha fazla verim artışı sağlamak için tarımsal üretimde istenmeyen mikroorganizmaları imha etmek amacıyla kullanılan her türlü ilaç ve preparatları kapsamaktadır (Altıkat ve ark., 2009). Ancak bir ürünü veya canlı türünü geliştirmek için diğer ürün ve canlı türlerinin yaşamlarını tehlikeye atmak ekolojik ve rasyonel bir karar olmaktan uzaktır. Literatürde pestisit kullanımının bal verimini ne kadar etkilediğine dair bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmanın amacı pestisit kullanımı ve bal verimi arasındaki kısa dönemli ve uzun dönemli ilişkiyi 1992-2017 periyodunda panel veri analizi yöntemi ile test etmektir.

MATERYAL ve METOD

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nden (FAO) elde edilen son verilere göre 2017 yılında Dünya'da toplam bal üretimi 1 860 712 ton olarak hesaplanmıştır. 2017 yılında dünya bal üretiminin %30'unu Çin, %6'sını Türkiye, %4'ünü İran ve %3'ünü Hindistan'ın oluşturması nedeniyle toplam bal üretiminin %43'ünü oluşturan bu 4 ülke örnek olarak incelenmiştir (FAO, 2020). Elde edilen veriler 1990-2017 yıllarında FAO veri tabanından yıllık olarak elde edilmiştir.

Literatürde panel veri analizlerinde değişkenlerin durağanlık seviyelerinin belirlenmesi ve doğru test seçimi için panel birim kök testleri yol gösterici olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada panel veri analizlerinde en çok kullanılan panel birim kök testleri olan LLC test (Levin ve ark., 2002), IPS test (Im ve ark., 2003), ADF test (Dickey ve Fuller, 1981) ve PP testleri (Phillips ve Perron, 1988) kullanılmıştır. Bal verimi ve pestisit kullanımı arasındaki ilişki Pedroni Eşbütünleşme Testi ile incelenmiştir (Pedroni, 2004). Bal verimi ve pestisit kullanımı arasındaki fonksiyonel ilişki; $\ln Y_{it} = \ln P_{it} + U_{it}$ şeklinde ifade edilmiştir. Burada

\ln ; doğal logaritmayı

Y ; doğal bal verimi (kg/kovan),

i ; incelenen ülkeyi

t ; incelenen zamanı,

U ; hata terimini ve

P ; tarımda kullanılan toplam (ton) pestisit miktarını temsil etmektedir.

Panel eşbütünleşme modelinde tutarlı tahmin ediciler elde etmek için iki yöntem vardır. Bunlardan birincisi tamamen modifiye edilmiş en küçük kareler (FMOLS) yöntemi (Phillips ve Hansen, 1990), ikincisi dinamik en küçük karelerdir (DOLS) yöntemidir (Saikkonen, 1991; Stock ve Watson, 1993). Bu iki yöntemden FMOLS, standart sabit etkili tahminlerdeki sapmaları düzenlerken, DOLS metodu statik olmayan

unsurları da içererek statik regresyondaki içsellik problemlerinden kaynaklanan sapma kaynaklı hataları da giderebilmektedir. Bu niteliği sahip bir yöntem olması nedeni ile bu çalışmada pestisit kullanımının bal verimine etkisi DOLS analiz yöntemi ile hesaplanmıştır. Bunun yanında kısa ve uzun dönem tahminlerini hesaplamak için Pesaran ve ark. (2001) tarafından geliştirilen ve durağanlık sorununa çözüm üreten ARDL yöntemi kullanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Panel veri analizlerinde bir prosedür olarak araştırmaya dahil edilen değişkenlerin durağanlık seviyelerinin ölçülmesi gerekmektedir. Bu amaca yönelik olarak yapılan LLC ve IPS birim kök test sonuçlarına göre pestisit kullanım miktarı kendi seviyesinde durağan değilken bal verimi kendi seviyesinde durağan olarak hesaplanmıştır. Bunlara ilave olarak ADF ve PP birim kök test sonuçlarına göre hem bal verimi hem de pestisit kullanım miktarı

durağan olarak hesaplanmıştır. Birim kök test sonuçlarına bakılarak bu kısımda iki seçenekten yola çıkılmalıdır. Bunlardan birincisi LLC ve IPS test sonuçları ihmal edilip ADP ve PP kabul edilerek kendi seviyesinde durağan oldukları kabul edilebilir. İkincisi tüm testler ortada iken LLC ve IPS de dikkate alınarak farklı seviyede durağan oldukları kabul edilmelidir. Bu çalışmada her iki olasılık da göz önünde tutularak ARDL ve DOLS testlerinin ikisinin de yapılması daha doğru olacaktır.

ARDL ve DOLS testlerine geçmeden önce test prosedürlerinde bir zorunluluk olmasa da değişkenler arasında bir eş bütünleşme ilişki olup olmadığını belirlemek için Pedroni panel eş bütünleşme testi yapılmıştır (da Silva, Cerqueira ve Ogbe, 2018). Pedroni panel eş bütünleşme test sonuçlarına göre hem grup içi hem de gruplar arası eş bütünleşme test sonuçlarının çoğu anlamlı çıkmıştır (Çizelge 1). Yapılan Panel Pedroni eşbütünleşme test sonuçları %1 seviyesinde uzun dönemli bir eş bütünleşme ilişkisi olduğunu göstermektedir (Çizelge 2).

Çizelge.1 Panel birim kök test sonuçları

Table.1 Panel unit root test results

	Constant	Constant + Trend	Δ Constant	Δ Constant+Trend
<i>lnP</i>	<i>t</i> Statistic	<i>t</i> Statistic	<i>t</i> Statistic	<i>t</i> Statistic
LLC	-2.762**	-0.206	-8.586***	-8.170**
IPS	-1.019	-1.492	-9.271***	-9.001**
ADF	12.965	21.448*	66.256***	86.622**
PP	10.462	20.086*	60.360***	260.96**
<i>lnY</i>				
LLC	0.552	-1.845*	-10.6410***	-5.071**
IPS	1.637	-2.453**	-11.8859***	-8.422**
ADF	7.097	20.770**	95.6034***	65.143**
PP	8.285	20.631**	98.5023***	336.504**

Not: Δ ;Birinci dereceden farkı alınmış seriyi **ve * Sırasıyla 1% ve 5% seviyesinde anlamlı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 2. Panel Pedroni eşbütünleşme test sonuçları

Table 2. Panel Pedroni cointegration test results

Grup içi	<i>t</i> Statistic	Prob.	Weighted Statistic	Prob.
Panel <i>v</i> -Statistic	4.318	0.000	-0.676	0.750
Panel <i>rho</i> -Statistic	-7.301	0.000	-5.544	0.000
Panel <i>PP</i> -Statistic	-8.909	0.000	-5.777	0.000
Panel <i>ADF</i> -Statistic	-8.604	0.000	-5.842	0.000
Gruplar Arası	<i>t</i> Statistic	Prob.		
Group <i>rho</i> -Statistic	-5.225	0.000		
Group <i>PP</i> -Statistic	-11.20	0.000		
Group <i>ADF</i> -Statistic	-9.341	0.000		

Her ne kadar Pedroni panel eş bütünleşme test sonuçları pestisit kullanımı ile bal verimi arasında bir eş bütünleşme olduğunu gösterse de pestisit kullanımının bal verimi üzerindeki etkisinin ne kadar olduğunu göstermekte yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle bal verimi üzerinde toplam pestisit kullanımının uzun dönemdeki etkisini ortaya koymak

amacıyla DOLS yöntemi ile analiz yapılmıştır. DOLS yöntemi ile yapılan regresyon analizi sonucu *t* istatistik değeri -2.766 olarak hesaplanmış ve analiz %1 seviyesinde anlamlı çıkmıştır. Bal verimi bağımsız değişken olan pestisit kullanımı tarafından açıklanmıştır. Yapılan DOLS regresyon analiz sonucuna göre, R² değeri 0.924 olarak hesaplanmıştır. Bunun anlamı; bal veriminde toplam varyansın

%92'si pestisit değişkeni tarafından açıklanmaktadır. DOLS analiz sonuçlarına göre uzun dönemde pestisit kullanımı bal verimini negatif etkilemiştir. DOLS

Panel analiz sonucuna göre; tarımsal pestisit kullanımında %1 artış olması durumunda bal veriminde %0.37 azalış görülmüştür (Çizelge 3).

Çizelge 3. DOLS analiz sonuçları
Table 3. DOLS analysis results

(Y) (P)	Coefficient	Std. Error	t-Statistic	Prob.
<i>R-squared</i>	-0.367892	0.132982	-2.766473	0.0070
<i>Adjusted R-squared</i>	0.924552	<i>Mean dependent var</i>		4.914097
<i>S.E. of regression</i>	0.910007	<i>S.D. dependent var</i>		0.755304
<i>Long-run variance</i>	0.226582	<i>Sum squared resid</i>		4.261175
	0.102019			

DOLS yöntemi ile uzun dönemde bal verimi üzerinde pestisit kullanımının etkisini hesaplanırken, fark alma işleminden kaynaklanan veri kaybını ortadan kaldıran ARDL yöntemi ile de kısa ve uzun dönemdeki pestisit kullanımının bal verimi üzerindeki etkisini ayrı ayrı hesaplanabilmektedir. Bu nedenle hem DOLS sonuçlarına uyumu test etmek hem de kısa dönem etkilerini ortaya koyabilmek için ARDL testi uygulanmıştır. ARDL testine geçilmeden önce model seçimi için bazı bilgi kriterlerine bakılması gerekmektedir. Bu bilgi kriterleri; Schwarz Bilgi Kriteri Criteria, Hannan-Quinn Bilgi Kriteri and Akaike Bilgi Kriteridir. Bu bilgi kriterleri kullanılarak en uygun model tespit edilmiştir.

Model seçim metodu kullanılarak elde edilen 3 bilgi kriterinin tamamının sonuçlarında göre en uygun modelin ARDL(1, 1) olduğu anlaşılmıştır. Bu bilgi kriterleri ışığında yapılan test sonucuna göre toplam pestisit kullanımının kısa ve uzun dönemde bal verimi üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Kısa dönemde ilginç bir şekilde pestisit kullanımının bal verimi üzerindeki etkisi pozitif çıkmıştır. Panel ARDL test sonucuna göre; kısa dönemde tarımsal pestisit kullanımında %1 artış olması durumunda bal veriminde %0.18 artış olduğu görülmüş olsa da uzun dönemde %1 artış olması durumunda bal veriminde %0.24 azalış olduğu görülmüştür (Çizelge 4).

Çizelge 4. Panel ARDL tahmini
Table 4. Panel ARDL estimation

$LNY_{it} = LNP_{it} + U_{it}$	Long Run	Short Run
Coefficient	-0.240	0.180
t-Statistic	-2.836	1.996
P-Value	<0.01	<0.05

SONUÇ ve ÖNERİLER

Ekosistemde önemli fonksiyonları olan bal arıları çevresel kirleticilerden en çok etkilenen canlılar arasındadırlar. Tarımsal amaçlı olarak kullanılan pestisitler ekosistemdeki zararlı (olarak görülen) böcekleri yok etmekle birlikte pek çok faydalı böceği de öldürmektedir. Bir ekonomik birimin kendi faydasını hesaplaması ve bu yönde üretim yapması doğal olarak kabul edilebilir. Ancak asıl sorun bir ekonomik birimin kendi faydasını maksimize etmeye

çalışırken diğer ekonomik ve ekolojik birimleri doğrudan ve dolaylı olarak tehdit etmesidir. Negatif dışsallığa neden olan bilinçsiz pestisit kullanımının kısa dönemde bazı faydaları varmış gibi görünse de uzun dönemde ekosistemde ciddi bir sorun teşkil ettiği belirlenmiştir.

Bu çalışmada hem kısa dönemde hem de uzun dönemde pestisit kullanımının bal verimi üzerindeki etkisi hesaplanırken diğer değişkenlerin sabit olduğu varsayılmıştır. Bu çalışmada yapılan panel ARDL test sonucuna göre kısa dönemde tarımsal amaçlı pestisit kullanımının bal verimi üzerinde pozitif etkisi olduğu görünse de uzun dönemde bal verimi negatif etkilenmektedir. Uzun dönem test etmek için yapılan her iki yöntemde de (ARDL ve DOLS) arıların uzun dönemde pestisit kullanımından ciddi zarar gördükleri ve bal veriminin azaldığı belirlenmiştir. Tüm bunların bir sonucu olarak; tüm ekosistemin zarar görmediği üretim yöntemlerinin çiftçilere benimsetilmesi hem ekonomik hem de ekolojik açıdan uzun vadede önemli faydalar sağlayabileceği için çiftçilere çevre dostu tarımsal üretimin özendirilmesi kritik öneme sahiptir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Makale tek yazarlıdır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazar bu çalışmada hiçbir çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKLAR

- Aizen MA, Garibaldi LA, Cunningham SA, Klein AM 2008. Long-Term Global Trends in Crop Yield and Production Reveal No Current Pollination Shortage but Increasing Pollinator Dependency. *Current Biology*, 18(20): 1572-1575.
- Altıkat A, Turan T, Torun FE, Bingül Z 2009. Türkiye'de Pestisit Kullanımı ve Çevreye Olan Etkileri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 40(2): 87-92.
- Biesmeijer JC, Roberts SPM, Reemer M, Ohlemüller R, Edwards M, Peeters T, Kunin WE 2006. Parallel Declines in Pollinators and Insect-

- Pollinated Plants in Britain and the Netherlands. *Science*, 313(5785): 351-354.
- Botías C, David A, Hill EM, Goulson D 2017. Quantifying Exposure of Wild Bumblebees to Mixtures of Agrochemicals in Agricultural and Urban Landscapes. *Environmental Pollution*, 222: 73-82.
- Chakrabarti P, Sarkar S, Basu P 2019. Pesticide induced visual abnormalities in Asian honey bees (*Apis cerana* L.) in intensive agricultural landscapes. *Chemosphere*, 230: 51-58.
- da Silva PP, Cerqueira PA, Ogbe W 2018. Determinants of Renewable Energy Growth in Sub-Saharan Africa: Evidence from Panel ARDL. *Energy*, 156: 45-54.
- Dickey DA, Fuller WA 1981. Likelihood Ratio Statistics for Autoregressive Time Series with a Unit Root. *Econometrica*, 49: 1057-1072.
- Fairbrother A, Purdy J, Anderson T, Fell R 2014. Risks of Neonicotinoid Insecticides to Honeybees. *Environmental toxicology and chemistry*, 33(4): 719-731.
- Gallai N, Salles JM, Settele J, Vaissière BE 2009. Economic Valuation of the Vulnerability of World Agriculture Confronted with Pollinator Decline. *Ecological Economics*, 68(3): 810-821.
- González-Varo JP, Biesmeijer JC, Bommarco R, Potts SG, Schweiger O, Smith HG, Vilà M 2013. Combined Effects of Global Change Pressures on Animal-Mediated Pollination. *Trends in Ecology and Evolution*, 28(9): 524-530.
- Goulson D, Lye GC, Darvill B 2008. Decline and Conservation of Bumble Bees, *Annual Review of Entomology*, 53:191-208.
- Goulson D, Nicholls E, Botías C, Rotheray E L 2015. Bee Declines Driven by Combined Stress from Parasites, Pesticides, and Lack of Flowers. *Science*, 347(6229): 1255957.
- Harriet J, Campá JP, Grajales M, Lhéritier C, Gómez Pajuelo A, Mendoza-Spina Y, Carrasco-Letelier L 2017. Agricultural Pesticides and Veterinary Substances in Uruguayan Beeswax. *Chemosphere*, 177: 77-83.
- Im KS, Pesaran MH, Shin Y 2003. Testing for Unit Roots in Heterogeneous Panels. *Journal of Econometrics*, 115(1): 53-74.
- Johnson RM, Elli MD, Mullin CA, Frazier M 2010. Pesticides and Honey Bee Toxicity - USA. *Apidologie*, 41(3): 312-331.
- Kluser S, Neumann P, Chauzat MP, Pettis J 2011. UNEP Emerging Issues: Global Honey Bee Colony Disorder and Other Threats to Insect Pollinators.
- Lawton JH 1998. Daily GC (Ed.). 1997. *Nature's Services. Societal Dependence on Natural Ecosystems*. Island Press, Washington, DC. 392. ISBN 1-55963-475-8 hbk), 1 55963 476 6 (soft cover. Paper presented at the Animal Conservation forum.
- Le Conte Y, Brunet J, McDonnell C, Dussaubat C, Alaux C 2011. Interactions between Risk Factors in Honey Bees. D Sammataro J Yoder. *Recent Investigations into the Problems with our Honey Bee Pollinators*. Taylor & Francis Inc, 215-222.
- Levin A, Lin CF, James Chu CS 2002. Unit Root Tests in Panel Data: Asymptotic and Finite Sample Properties. *Journal of Econometrics*, 108(1): 1-24.
- Martin SJ, Highfield, AC, Brettell L, Villalobos EM, Budge GE, Powell M, Schroeder DC 2012. Global Honey Bee Viral Landscape Altered by a Parasitic Mite. *Science*, 336(6086): 1304-1306.
- Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, Ashcraft S, Simonds R, vanEngelsdorp D, Pettis JS 2010. High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health. *PLOS ONE*, 5(3): e9754.
- Nguyen BK, Van Der Zee R, Vejsnæs F, Wilkins S, Le Conte Y, Ritter W. 2010. Coloss Working Group 1 : Monitoring and Diagnosis. *Journal of Apicultural Research*, 49(1): 97-99.
- Pedroni P 2004. Panel Cointegration: Asymptotic and Finite Sample Properties of Pooled Time Series Tests with an Application to The PPP Hypothesis. *Econometric Theory*, 20(3): 597-625.
- Phillips PCB, Hansen BE 1990. Statistical inference in Instrumental Variables Regression with $i(1)$ Processes. *Review of Economic Studies*, 57(1): 99-125.
- Phillips PCB, Perron P 1988. Testing for a Unit Root in Time Series Regression. *Biometrika*, 75(2): 335-346.
- Pistorius J, Bischoff G, Heimbach U, Stähler M 2009. Bee Poisoning Incidents in Germany in Spring 2008 Caused by Abrasion of Active Substance from Treated Seeds During Sowing of Maize. *Julius-Kühn-Archiv*, 423: 118-126.
- Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE 2010. Global Pollinator Declines: Trends, Impacts and Drivers. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(6): 345-353.
- Saikkonen P 1991. Asymptotically Efficient Estimation of Cointegration Regressions. *Econometric Theory*, 7(1): 1-21.
- Sanchez-Bayo F, Goka K 2014. Pesticide Residues and Bees – A Risk Assessment. *PLOS ONE*, 9(4): e94482.
- Stock JH, Watson MW 1993. A Simple Estimator of Cointegrating Vectors in Higher Order Integrated Systems. *Econometrica: Journal of the Econometric Society*, 783-820.
- vanEngelsdorp D, Meixner MD 2010. A Historical Review of Managed Honey Bee Populations in Europe and the United States and the Factors that may Affect Them. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(1):80-95.

Türkiye'deki Kırmızı Et ve Yemlik Buğday Piyasaları Arasındaki Oynaklık Aktarımlarının Ampirik Olarak Ortaya Konulması

Faruk URAK^{1*}, Abdulkaki BİLGİC², Vedat DAĞDEMİR³, Hüseyin ÖZER⁴

¹Türkiye Radyo Televizyon Kurumu (TRT), Erzurum Müdürlüğü, Erzurum, Türkiye, ²Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, Yönetim Bilişim Sistemleri Bölümü, Bilecik, Türkiye, ³Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Erzurum, Türkiye, ⁴Atatürk Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, Ekonometri Bölümü, Erzurum, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-2592-0589>, ²<https://orcid.org/0000-0001-5946-0915>, ³<https://orcid.org/0000-0002-2293-9460>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-4915-6447>

✉: farukurak.trt@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada, benzin ve ithalat dışsal değişkenleri kullanılarak, Türkiye'de dana ve kuzu karkas etleri ile yemlik buğday reel fiyatları arasındaki uzun dönem oynaklık ilişkisi ve simetrisi 2005:01-2019:06 dönemi günlük verilerinden yararlanılarak VAR (1)-Asimetrik BEKK-GARCH (1, 1) Modeli kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışmada, benzin piyasasında meydana gelen oynaklıkların kuzu karkas ve yemlik buğday piyasalarındaki oynaklıkları arttırdığı, dana karkas piyasasındaki oynaklığı ise azalttığı tespit edilmiştir. Çalışmada ürün piyasalarında oynaklık geçişkenliklerinde asimetrik etkilerin mevcut olduğu sonucuna varılmıştır. Dana karkasın kuzu karkas ve yemlik buğday fiyat getirileriyle olan optimal portföy ağırlıkları sırasıyla 0.643 ve 0.560 iken kuzu karkasın yemlik buğday fiyat getirisiyle olan optimal portföy ağırlığı 0.442 olarak tespit edilmiştir.

Tarım Ekonomisi

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 21.06.2021

Kabul Tarihi : 18.11.2021

Anahtar Kelimeler

Dana Karkas

Kuzu Karkas

Yemlik Buğday

Benzin

Fiyat Oynaklığı

Empirically Eliciting the Volatility Transmission between Red Meat and Forage Wheat Markets in Turkey

ABSTRACT

In this study, using gasoline and import as exogenous variables, the long-term volatility and symmetrical relationship between prices of beef and lamb carcass meats and feed wheat in Turkey were analyzed using the 2005:01-2019:06 daily data and the VAR (1)-Asymmetric BEKK-GARCH (1, 1) model. The study determined that uncertainties in the gasoline market increased volatilities in the lamb carcass and feed wheat markets while reducing swings in the beef carcass market. Also, asymmetric effects are present in the uncertainty pass-through in product markets. The optimal portfolio weights of beef carcass with lamb carcass and feed wheat price returns were 0.643 and 0.560, respectively, whereas the lamb carcass was 0.442 with optimal portfolio weight for feed wheat.

Agricultural Economics

Research Article

Article History

Received : 21.06.2021

Accepted : 18.11.2021

Keywords

Beef Carcass

Lamb Carcass

Feed Wheat

Gasoline

Price Volatility

Atıf Şekli: Soyisim A, Soyisim A 2022. Makale adı Makale adı Makale adı Makale adı Makale adı Makale adı Makale adı . KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1168-1180. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.955565>

To Cite : Soyisim A, Soyisim A 2022. Manuscript Title. Manuscript Title. Manuscript Title. Manuscript Title. Manuscript Title. Manuscript Title. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1168-1180. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.955565>

GİRİŞ

Gıda güvenliği, herkes tarafından her zaman aktif ve sağlıklı bir yaşam için yeterli yiyeceğe erişimdir (Dünya Bankası, 2008). Gıda güvenliğini tehdit eden unsurların başında sürekli artan dünya nüfusu, kentleşme, gıda talebi, iklim değişikliği ve biyoyakıt talebi gelmektedir. Dünya nüfusunu beslemek yerine biyoyakıt üretmek için gıda ürünlerinin kullanımı, bir yandan biyoyakıtların sürdürülebilirliği hakkında soru işaretlerinin doğmasına neden olurken, diğer

yandan da dünya gıda güvenliği tartışmalarının başlamasına neden olmuştur (Cabrera ve Schulz, 2016).

Biyoyakıtlar tarımsal ürünler için önemli ve büyüyen bir talep kaynağıdır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de 2019 yılında mısırın etanole dönüştürme oranı yaklaşık %39 iken, Brezilya'da 2020 yılında bu oranın yaklaşık %42 olduğu belirtilmiştir (Energy Efficiency & Renewable Energy, 2021; UNEM, 2021). Ayrıca uzun dönem biyoyakıt üretimi mısır, buğday

ve pirinç fiyatlarını sırasıyla yaklaşık %47, %26 ve %25 arttırdığı vurgulanmıştır (Rosegrant ve ark., 2008). ABD ve Avrupa Birliği (AB)'ndeki tahıl ve yağlı tohumlardan biyoyakıt üretiminin 2002 ve 2008 yılları arasında gıda fiyat artışında en önemli faktör olduğu ifade edilmiştir (Mitchell, 2009).

Enerji fiyatlarının gıda fiyatları üzerinde önemli bir etkiye sahip olmasından dolayı daha yüksek enerji fiyatları özellikle hassas ekonomilerde enerji ve gıda güvensizliğini artıracaktır (Taghizadeh-Hesary ve ark., 2019). Biyoyakıtlardaki hızlı büyüme, petrol piyasasında fiyat dalgalanmalarının tarım sektörüne doğrudan ve güçlü bir şekilde aktarılmasıyla gıda arzındaki istikrar üzerinde ilave baskılar oluşturmaktadır. Bu durum, gelişmekte olan birçok ülke için, özellikle kırsal kesimde yaşayan ve gıda güvenliği olmayan insanların büyük oranlarına sahip olan ülkeler için gıda güvenliğini olumsuz etkileyebilir. Biyoyakıt üretimi için tarımsal ürünlerin daha çok kullanımı bu fiyat ilişkisini daha da güçlendirmektedir. Tüm bu faktörler sonuçta tarımsal gıda fiyatlarının artmasına neden olmakta ve az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde gıda güvenliği sorununu meydana getirmektedir (Barsky ve Kilian, 2001).

Tarımsal ürünlerin üretim sürecinden son tüketiciye ulaşana kadar olan süreçte petrol ve petrol türevlerinin (gübre, tarım ilaçları ve herbisitler gibi) kullanılmasından dolayı petrol fiyatlarında meydana gelebilecek bir oynaklığın temel bir tarım ürün olan kırmızı et fiyatına yansıtacağı vurgulanmıştır (Cabrera ve Schulz, 2016). Mısır fiyatlarının domuz fiyatları üzerindeki etkisi doğrusal olmayan ve asimetric özelliklere sahip olduğu vurgulanılırken (Wang ve ark., 2018), mısır ve buğday ile sığır eti ve domuz eti arasında çift yönlü nedensellik ilişkisi bulunmuştur (Ziemer ve Collins, 1984). Tarımsal girdi ve perakende gıda fiyatları oynaklığının, tarımsal çıktı fiyatlarının oynaklığında önemli ve pozitif yönde yayılma etkileri olduğu ifade edilmiştir (Khiyavi ve ark., 2012; Sidhoum ve Sera, 2016). Enerji (benzin) piyasasında meydana gelen artışlarının koyun eti ve besi yemi piyasalarının uzun dönem oynaklığını pozitif yönde etkilediği belirlenmiştir (Özdemir ve ark., 2020). Enerji fiyatlarında meydana gelen oynaklıklar üreticiler üzerinde belirsizlikler oluşturmaktadır. Bu da doğrudan tarımsal üretimdeki arz yapısını etkilemektedir. Tarımsal tedarik zincirlerindeki fiyat oynaklık yayılmalarının boyutunu ve yönünü bilmek üreticiler için etkin kararlar almada ve bu kararları uygulamada önemlidir. Aynı zamanda enerji ve tarımsal ürün fiyatları arasındaki etkileşim tarımsal üretimdeki arzı doğrudan etkileyebilmektedir.

Gıda fiyatlarındaki oynaklığın artmasıyla gelirinin büyük bir bölümünü gıda harcamalarına ayıran az gelişmiş ülkelerdeki aileler, bu durum karşısında

gittikçe daha da fakirleşmektedir. Ayrıca ani gıda fiyat artışları veya gıda fiyatlarının birkaç ay içinde hızlı artış durumu sağlık, beslenme, eğitim ve tasarruf dahil olmak üzere sosyal refah üzerinde geri dönüşümsüz negatif etkileri söz konusu olabilir (Mensi ve ark., 2014; Abdelradi ve Serra, 2015a; Sidhoum ve Sera, 2016). Neticede enerji piyasasındaki belirsizliklerin gıda piyasalarına aktarımı önemli bir tehdit oluşturmakta, bu piyasalar arasındaki belirsizliklerin en aza indirilmesi söz konusu sektörlerde istikrarın sağlanmasında sözü edilen belirsizliklerin yön ve büyüklüklerinin ve portföy ağırlıklarının bilinmesi, Türkiye'de hayvansal (dana ve kuzu karkas) ve bitkisel (yemlik buğday) ürünlerin geleceği için oldukça önemlidir.

Bu çalışmanın amacı, benzin ve ithalat dışsal (egzojen) değişkenleri kullanılarak Türkiye'deki dana karkas eti, kuzu karkas eti ve yemlik buğday fiyatları arasındaki piyasa getiri düzeyleri ve oynaklıklarının yayılım süreçlerinin asimetric ilişki ile birlikte yön ve büyüklüklerinin ampirik olarak ortaya konulmasıdır. Buna ek olarak benzin ve ithalat değişkenleri dana karkas eti, kuzu karkas eti ve yemlik buğday piyasalarının koşullu uzun dönem oynaklık denklemlerinde kontrol edilerek, benzin ve ithalat piyasalarında oluşacak tek yönlü oynaklıkların dana karkas eti, kuzu karkas eti ve yemlik buğday piyasalarında nasıl bir etki meydana getirdiği ortaya konulmuştur.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Dana karkas, kuzu karkas ve yemlik buğday fiyatları Türkiye Odalar ve Borsalar Birliği (TOBB)'nin veri tabanı günlük borsa değerlerinden elde edilmiştir. Aynı zamanda makroekonomik değişkenlerden enerji piyasasına gösterge olarak benzin ve ithalat değişkenleri dâhil edilmiştir. Akaryakıt fiyatının göstergesi olarak benzin pompa fiyatı kullanılmış olup, veriler Enerji Piyasası Düzenleme Kurumu (EPDK)'nun veri tabanından temin edilmiştir. Akaryakıt fiyatları olarak ham petrol fiyatları kullanılmamıştır; çünkü Türkiye'de akaryakıt fiyatlarından alınan yüksek verginin dana karkas, kuzu karkas ve yemlik buğday fiyatlarında oynaklığa neden olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada motorin (mazot) fiyatları yerine benzin fiyatlarını kullanmamızda, Türkiye'de benzinden daha yüksek bir verginin alınması (2019 yılında 1 litre motorinden alınan vergi 1.79 ₺ (Türk Lirası, TL) iken 1 litre benzinden alınan vergi ise 2.37 ₺'dir) ile birlikte benzinin gözlem sayısının motorine göre daha fazla olması etkili olmuştur. Motorin/benzin fiyat oranı zaman aralığında pek fazla bir değişim sergilemediğinden analiz sonuçları motorin cinsinden türetilmesine imkan sağladığından ötürü gözlem sayısı daha yüksek olan benzin serisi değişkeni

kullanılmıştır. Ayrıca ithalatın yapılmadığı dönemlere göre ithalatın yapıldığı dönemlerde ithalat değişkeninin ilgili piyasalar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu bağlamda ithalat değişkeni serisi ise Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) veri tabanından temin edilmiştir. Seriler arasındaki oynaklığın incelenmesi için benzin fiyatı ve ithalatın yemlik buğday, dana karkas ve kuzu karkas fiyatındaki dalgalanmalara geçişkenliği 2005:01-2019:06 döneminde günlük veri seti kullanılmıştır.

Metod

Verilerin analizinde Vektör Otoregresif (VAR)-Asimetrik Baba-Engle-Kraft-Kroner (BEKK) Genelleştirilmiş Otoregresif Koşullu Değişen Varyans (GARCH) Modeli kullanılmıştır. Bu model bir sistem içerisinde hem koşullu vektör otoregresifi hem de bağımlı çok değişkenli GARCH sürecini belirten koşullu varyans denklemi içermektedir. Söz konusu model Engle ve Kroner (1995) tarafından geliştirilen BEKK-GARCH yöntemine ilave olarak şokların (pozitif ve negatif) eşit büyüklükte olmadığı gerçeğini sisteme entegre ederek diğer modellere üstünlük sağlamıştır (Rahman ve Serlitis, 2012; Salisu ve Oloko, 2015). Finansal piyasalarda şoklarının asimetrik etkisinin sıkça araştırıldığı son dönemlerde, finansal zaman serileri değişkenleri arasındaki karşılıklı bağımlılıkların modellenmesine binaen bu model kullanılmıştır. Ayrıca model, BEKK GARCH kısmındaki tahminciler ile koşullu varyans denkleminin pozitif tanımlanma şartını yerine getirmektedir. (Rahman ve Serlitis, 2012; Salisu ve Oloko, 2015). Eşitlik 1-3'de getiri değişkenlerinin koşullu ortalamaları ile koşulları varyanslarını tanımlanmıştır (Rahman ve Serlitis, 2012; Salisu ve Oloko, 2015).

$$R_t = \mu + \sum_{i=1}^p \Gamma_i R_{t-i} + \Psi G + \omega I + \varepsilon_t, \quad (1)$$

Getiri ortalamalarındaki vektör ve parametre matrislerinin genel açılımı Eşitlik 2'deki gibidir.

$$R_t = \begin{bmatrix} R_{1,t} \\ R_{2,t} \\ R_{3,t} \end{bmatrix}; \varepsilon_t = \begin{bmatrix} \varepsilon_{1,t} \\ \varepsilon_{2,t} \\ \varepsilon_{3,t} \end{bmatrix}; \mu_t = \begin{bmatrix} \mu_1 \\ \mu_2 \\ \mu_3 \end{bmatrix}; \Psi = \begin{bmatrix} \psi_1 \\ \psi_2 \\ \psi_3 \end{bmatrix}; \omega = \begin{bmatrix} \omega_1 \\ \omega_2 \\ \omega_3 \end{bmatrix} \quad (2)$$

Burada; R_t sırasıyla dana karkas eti, kuzu karkas eti ve yemlik buğday sektörlerindeki piyasaların getiri vektörünü yansıtmakta olup, her bir piyasanın

$$C = \begin{pmatrix} c_{11} & c_{12} & c_{13} \\ 0 & c_{22} & c_{23} \\ 0 & 0 & c_{33} \end{pmatrix}; \Psi = \begin{pmatrix} \psi_{11} & \psi_{12} & \psi_{13} \\ 0 & \psi_{22} & \psi_{23} \\ 0 & 0 & \psi_{33} \end{pmatrix}; \varphi = \begin{pmatrix} \varphi_{11} & \varphi_{12} & \varphi_{13} \\ 0 & \varphi_{22} & \varphi_{23} \\ 0 & 0 & \varphi_{33} \end{pmatrix}; A = \begin{pmatrix} \alpha_{11} & \alpha_{12} & \alpha_{13} \\ \alpha_{21} & \alpha_{22} & \alpha_{23} \\ \alpha_{31} & \alpha_{32} & \alpha_{33} \end{pmatrix}; B = \begin{pmatrix} b_{11} & b_{12} & b_{13} \\ b_{21} & b_{22} & b_{23} \\ b_{31} & b_{32} & b_{33} \end{pmatrix}; D = \begin{pmatrix} d_{11} & d_{12} & d_{13} \\ d_{21} & d_{22} & d_{23} \\ d_{31} & d_{32} & d_{33} \end{pmatrix} \quad (4)$$

Yukarıdaki tüm matrisler mxm, yani 3x3 boyutundadırlar. Ayrıca C, Ψ ve φ alt köşegen matrisleri olup, sırasıyla varyans denklemlerinin sabit katsayılarını, benzin piyasasının ve ithalatın ilgili piyasadaki belirsizlik üzerindeki geçişkenlik

getirisi $R_t = 100 * \ln(P_t / P_{t-1})$ şeklinde hesaplanmıştır. Burada; P_t ve P_{t-1} sırasıyla ilgili piyasanın reel fiyatını ve gecikme değerini ifade ederken, \ln doğal logaritma sembolünü göstermektedir. P_{t-1} ise P_t 'nin bir dönem önceki değerini ifade etmektedir. Koşullu denklemdaki getiri serilerinin gecikme değerleri (R_{t-i}) AIC, BIC ve HQ kriterleri karşılaştırmalı referans alınarak belirlenmiştir. G, I ve ε_t sırasıyla benzin serisini, ithalat değişkenini ve kısa dönem şoklarını ifade etmektedir. Öte yandan μ her bir piyasa getirisine ait sabit terim parametresini, Γ getiri serilerinin gecikme değerlerine ilişkin katsayıları, Ψ ve ω katsayıları ise sırasıyla benzin ve ithalat değişkenlerinin koşullu ortalamadaki etkisini ölçmektedir. I kukla değişkeni, dana karkas ve kuzu karkas ithal edildiği aylarda 1 diğer aylarda ise 0 değerini alacak şekilde oluşturulmuştur. Eşitlik 4'teki koşullu varyans denklemindeki seri getirilerinden elde edilen kalıntıları negatif iken = 1 değilse = 0 olacak şekilde tanımlanarak, negatif ve pozitif kalıntı etkilerini birbirinden ayırtıran asimetriliğe imkan sağlamıştır. Ayrıca, dana karkas eti ve kuzu karkas eti piyasalarında ithalatın piyasa getirilerinin uzun dönem oynaklığı üzerindeki etkisini ölçmek için Grier ve ark. (2004)'nın geliştirdikleri asimetrik BEKK-GARCH modelindeki koşullu varyans denklemi aşağıdaki gibidir.

$$H_t = \Upsilon \Upsilon' + \sum_{k=1}^g A'_k \varepsilon_{t-k} \varepsilon'_{t-k} A_k + \sum_{j=1}^f B'_j H_{t-j} B_j + D' \xi_{t-1} \xi'_{t-1} D \quad (3)$$

Burada; H matrisi iki farklı kısımdan elde edilmiştir. Birinci kısım denklemin sabitleri (C), dışsal (egzojen) değişken olarak öngörülen benzin (G) ve ithalat (I) parametrelerinden oluşmaktadır. Öte yandan denklemin ikinci kısmı ise kısa dönem şoklar (ε_{t-k}), uzun dönem volatilitite (H_{t-j}) ve asimetrik etki (ξ_{t-1}) parametrelerinden meydana gelmektedir. Birinci kısım, $\Upsilon = (C + \Psi G + \varphi I)$ şeklinde gösterilirken, ikinci

kısım ise $\sum_{k=1}^g A'_k \varepsilon_{t-k} \varepsilon'_{t-k} A_k + \sum_{j=1}^f B'_j H_{t-j} B_j + D' \xi_{t-1} \xi'_{t-1} D$ şeklinde

gösterilebilir. BEKK-GARCH kısmının ölçülebilmesinde H_t matrisinin pozitif kesin tanımlanmasını garantilediği için şok ve kalıcı belirsizlik etkileri sistem üzerinden ayrışabilmektedir. Eşitlik 3'teki değişkenlerin matris yapıları aşağıdaki gibidir.

$$A = \begin{pmatrix} \alpha_{11} & \alpha_{12} & \alpha_{13} \\ \alpha_{21} & \alpha_{22} & \alpha_{23} \\ \alpha_{31} & \alpha_{32} & \alpha_{33} \end{pmatrix}; B = \begin{pmatrix} b_{11} & b_{12} & b_{13} \\ b_{21} & b_{22} & b_{23} \\ b_{31} & b_{32} & b_{33} \end{pmatrix}; D = \begin{pmatrix} d_{11} & d_{12} & d_{13} \\ d_{21} & d_{22} & d_{23} \\ d_{31} & d_{32} & d_{33} \end{pmatrix} \quad (4)$$

iletimini ölçmektedir. Diğer taraftan, A, B ve D matrisleri sırasıyla kısa dönem şokları, uzun dönem belirsizliği (volatilititeyi) ve asimetrik etkiyi gösteren parametrelerden meydana gelmektedir. Ayrıca A, B ve D matrislerindeki köşegen katsayıları ilgili

piyasanın yalnızca kendi kısa dönem şokları, uzun dönem belirsizliği ve kısa dönem asimetrisi ile ilişkili iken, bu matrislerdeki köşegen dışı parametreler ise reseptörler gibi karşı piyasalardan gelecek olan kısa dönem şokları, uzun dönem belirsizlikleri ve kısa dönem asimetrik ilişkinin varlığını yakalamaktadır. BEKK modelinin koşullu

$$L_t = \ln \left[\frac{\Gamma\left(\frac{v+n}{2}\right) v^{\frac{n}{2}}}{(vn)^{\frac{n}{2}} \Gamma\left(\frac{v}{2}\right) (v-n)^{\frac{n}{2}}} \right] - \frac{1}{2} \ln |H_t| - \frac{1}{2} (v+n) \ln \left(1 + \frac{\varepsilon_t' H_t^{-1} \varepsilon_t}{v-2} \right) \quad (5)$$

Burada; n ortalama denklem sayısı, ε_t n vektörlü ortalama denklemlere ait kalıntıları, v serbestlik derecesini (v>2 olmak koşulluyla) ve $\Gamma(\cdot)$ gama fonksiyonunu göstermektedir.

Optimal portföy ağırlıkları ve koruma (hedge) oranları

BEKK-GARCH modeli temel alınarak dana ve kuzu karkas ile yemlik buğday ürün piyasalarının kendi

$$w_t^{i,j} = \frac{h_t^j - h_t^{i,j}}{h_t^i - 2h_t^{i,j} + h_t^j} \quad i=1, \dots, m \text{ ve } j = \text{alternatif piyasa} \quad (6)$$

Burada; tarım ürünleri piyasaları sayısı i = 1, ..., m'dir. Benzer şekilde h_t^i her bir seçilmiş tarım ürününe ait koşullu varyansı ifade ederken, h_t^j alternatif piyasa için tahmin edilmiş koşullu varyansı göstermektedir. $h_t^{i,j}$ ise seçilmiş her bir tarım ürünü ile alternatif piyasa arasındaki tahmin edilmiş koşullu ortakvaryansı göstermektedir. Bir yatırımcı

$$w_t^{i,j} = \begin{cases} 0, & \text{eğer } w_t^{i,j} < 0 \\ w_t^{i,j}, & \text{eğer } 0 \leq w_t^{i,j} \leq 1 \\ 1, & \text{eğer } w_t^{i,j} > 1 \end{cases} \quad (7)$$

Buradaki ortalama tartılı ağırlık bir yatırımcının 1 ₺'nin ne kadarını A tarım ürününe geriye kalanını da alternatif B tarım ürününe yatırması gerektiğini

$$\beta_t^{i,j} = \frac{h_t^{i,j}}{h_t^j}, \quad i=1, \dots, m \text{ ve } j = \text{alternatif piyasa}$$

Buradaki $\beta_t^{i,j}$ sektör i piyasasında, j piyasasındaki bir ₺'lik uzun dönem pozisyon karşısında riskten korunmak (hedge) için gerekli kısa dönem pozisyon miktarını yansıtmaktadır.

Çizelge 1. Tanımlayıcı İstatistikler

Table 1. Descriptive Statistics

İstatistikler (Statistics)	Getiriler (Returns) (R _j , t)		
	R _{dana karkas (beef carcass), t}	R _{kuzu karkas (lamb carcass), t}	R _{yemlik buğday (feed wheat), t}
Ortalama (Mean)	-0.025	0.044	0.067
Std. Sapma (Std. dev.)	4.325	5.735	6.305
t-statistics (mean=0)	-0.098 (0.922)	0.128 (0.898)	0.178 (0.859)
Eğiklik (Skewness)	0.071 (0.629)	0.375 (0.010)	-0.187 (0.202)
Basıklık (Kurtosis)	1.955 (0.000)	3.002 (0.000)	4.099 (0.000)
Jarque-Bera (Jarque-Berra)	45.007 (0.000)	112.138 (0.000)	198.351 (0.000)

Not: Parantez içindeki değerler p-değerlerini yansıttığı gibi *, ** ve *** sırasıyla %10, %5 ve %1 seviyelerinde serilerin anlamlılık düzeyini göstermektedir.

ortalama ve koşullu varyans ortak varyans denklemlerine ait katsayılar Bollerslev'in (1987)'de önerdiği Student's t-dağılımı bağlamında log-olabilirlik fonksiyonun maksimum kılınması ile elde edilmiştir. Bu dağılımın olabilirlik fonksiyonu Eşitlik 5 ile tanımlanmıştır.

İçlerine karşı koruma (hedge) oranı yanı sıra diğer en uygun oranlar da belirlenmiştir. Buradaki amaç, bir yatırımcının beklenen yatırım getirilerindeki riski en aza indirmeyi amaçlamaktadır. Kroner ve Ng (1998) optimal tahvil ağırlığını; t zamanlı j sektörü için tek para birimli i portföyü içinde i ağırlığı olarak ifade etmiştir (Kroner ve Ng, 1998). Bu formüller sırasıyla Eşitlik 6, 7 ve 8 ile verilmiştir;

borsada birden fazla hisseyi elinde bulundurabilir ve fiyatlarda meydana gelecek olan belirsizliklere karşı pozisyon belirleyebilir. Bu bağlamda riskten korunma stratejileri ürünlerde veya değişkenlerde fiyat oynaklıklarını azalttığı gibi yatırımcıya gelecekteki yatırım kararları için tam ve kesin fiyat projeksiyonu imkanını sunar. Bu durumda portföy ağırlığı Eşitlik 7 ile ifade edilmektedir.

göstermektedir. Kroner ve Sultan (1993) varlık portföylerinin optimal koruma (hedge) oranlarını ise Eşitlik 8 aracılığıyla tahmin etmişlerdir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çizelge 1'de modelin betimleyici istatistik değerleri sunulmuştur. Getiri serilerinde en düşük getiriye dana karkasın (-0.025) sahip olduğu tespit edilmiştir.

Getiri serilerinde dana karkas negatif getiriye sahipken, kuzu karkas ile yemlik buğdayın pozitif değerlidir. Basıklık katsayısı getiri serilerinin sivri uçlu ve şişman kuyruklu bir dağılım sergilediğini göstermektedir. Getiri serilerinin leptokurtik dağılım göstermesi serilerde ARCH etkisinin bir kanıtıdır. Elde edilen test istatistikleri sonucunda serilerin %1

önem seviyesinde normal dağılmadığı görülmüştür. Fiyat ve getiri serilerine ait korelasyon ve otokorelasyona ait bilgiler Çizelge 2’de sunulmuştur. Getiri serileri arasındaki korelasyonda dana karkas eti ve kuzu karkas eti, dana karkas eti ve yemlik buğday ile kuzu karkas eti ve yemlik buğday arasında pozitif yönlü bir ilişki elde edilmiştir.

Çizelge 2. Değişkenlere Ait Korelasyon ve Otokorelasyon Bilgileri
Table 2. Correlation and Autocorrelation Information of Variables

	$R_{\text{dana karkas (beef carcass), t}}$	$R_{\text{kuzu karkas (lamb carcass), t}}$	$R_{\text{yemlik buğday (feed wheat), t}}$
Fiyat Düzeyleri veya Kapanış Değerleri için Korelasyonlar: (Correlations for Price Levels or Closing Levels)			
$FD_{\text{dana karkas (beef carcass), t}}$		0.989	0.988
$FD_{\text{kuzu karkas (lamb carcass), t}}$			0.979
$FD_{\text{yemlik buğday (feed wheat), t}}$			
Seri Getirileri için Korelasyonlar: (Correlations for Returns)			
$R_{\text{dana karkas (beef carcass), t}}$		0.240	0.026
$R_{\text{kuzu karkas (lamb carcass), t}}$			0.098
$R_{\text{yemlik buğday (feed wheat), t}}$			
Seri Getirilerinin Kareleri Arasındaki Korelasyonlar: (Correlations among Squared Returns)			
$R^2_{\text{dana karkas (beef carcass), t}}$		0.351	0.467
$R^2_{\text{kuzu karkas (lamb carcass), t}}$			0.235
$R^2_{\text{yemlik buğday (feed wheat), t}}$			

Çizelge 3’te modelin test sonuçları verilmiştir. ARCH testi sonuçlarına göre kuzu karkas eti getiri serisi oynaklığı içermez iken, dana karkas eti ve yemlik

buğday serilerinin getirilerinde değişen varyansın olduğu ve dolayısıyla getiri serilerinin oynaklığının zamana bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

Çizelge 3. Kırmızı Et ve Yemlik Buğday Serilerine Ait İstatistik Testler
Table 3. Statistical Tests of Red Meat and Forage Wheat Series

	$R_{\text{dana karkas (beef carcass), t}}$	$R_{\text{kuzu karkas (lamb carcass), t}}$	$R_{\text{yemlik buğday (feed wheat), t}}$
Fiyat Düzeylerindeki otokorelasyonların veya Kapanış Değerlerinin Test Edilmesi: (Testing Autocorrelations in Price Levels or Closing Levels)			
Ljung-Box Q (10)	25.992 (0.004)	234.166 (0.000)	52.575 (0.000)
Ljung-Box $Q^2(10)$	24.822 (0.006)	5.137 (0.882)	65.769 (0.000)
HM-Q (10)		111.027 (0.066)	
Fiyat Düzeylerindeki ARCH veya Kapanış Değerlerinin Test Edilmesi: (Testing ARCH in Price Levels or Closing Levels)			
ARCH-LM (10)	2.509 (0.007)	0.354 (0.965)	7.061 (0.000)
MARCH-LM (10)		930.240 (0.000)	
Seri Getirileri için Durağanlık Birim Kök Testi: (Unit Root Test for Returns Series)			
ADF	-13.130*** (lags=1)	-12.530*** (lags=1)	-15.500*** (lags=1)
KPSS	0.026 (lags=1)	0.027 (lags=1)	0.027 (lags=1)

Not: ARCH-LM ve MARCH-LM sırasıyla ARCH etkileri için Lagrange ve çok değişkenli Lagrange testlerini gösterirken, Ljung-Box Q ve HM-Q sırasıyla kalıntılarda ve / veya kalıntı karelerinde sıralı bağımlılık testleri için Hosking’in çok değişkenli Q-istatistiğini göstermektedir. Lags gecikme değerlerini ifade etmektedir.

Öte yandan getiri serileri eş zamanlı olarak incelendiğinde, getiri serilerinin kalıntılarında ARCH etkisi olduğu görülmektedir. Dolayısıyla getiri serilerinin eş zamanlı olarak ARCH etkisi barındırdığı ve analizlerin MGARCH modeli ile yapılmasının uygun olduğunu göstermektedir. Fiyat ve getiri serilerinde ardışık bağımlılığın (otokorelasyon) varlığını gösteren Ljung-Box test istatistiği sonuçlarına göre, getiri serileri ardışık

bağımlılık sergilemektedir. ADF birim kök testine göre, seriler I(1) seviyesinde %1 anlamlılık düzeyinde durağandır. Benzer sonuçlar KPSS testi ile teyit edilmiştir. Yapılan AIC ve BIC istatistik ek sınaması ile VAR modelinde gecikme uzunluğunun bir olduğu tespit edilmiş ve bu gecikme uzunluğu bağlamında analizler gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4’te VAR (1)-Asimetrik BEKK-GARCH (1, 1)’in getiri serilerine ait ortalama denklem değerleri sunulmuştur. Dana

karkas hem kendi (-0.158) hem de kuzu karkas (0.072) ve yemlik buğday (0.065) getirilerinin gecikmelerinden istatistiki açıdan anlamlı bir şekilde

etkilenmektedir. Ayrıca dana karkas getirisi benzin serisinden etkilenmez iken, ithalattan negatif düzeyde (-2.010) etkilenmektedir.

Çizelge 4. Koşullu Ortalama Getiri Serilerinin Parametre Tahminleri
Table 4. Parameter Estimates of Conditional Average Return Series

Katsayılar (Parameters)	Getiriler (Returns)		
	R _{dana karkas (beef carcass), t}	R _{kuzu karkas (lamb carcass), t}	R _{yemlik buğday (feed wheat), t}
Sabit Terim (Constant)	1.740*** (0.616)	0.191 (0.709)	0.817*** (0.052)
R _{dana karkas (beef carcass), t-1}	-0.158*** (0.060)	-0.028 (0.065)	0.001 (0.009)
R _{kuzu karkas (lamb carcass), t-1}	0.072* (0.038)	0.019 (0.076)	-0.402*** (0.030)
R _{yemlik buğday (feed wheat), t-1}	-0.065** (0.030)	-0.064 (0.042)	0.052** (0.022)
R _{benzin (gasoline)}	-0.054 (0.033)	-0.087*** (0.031)	-0.013*** (0.000)
R _{ithalat (Import)}	-2.010*** (0.642)	-0.028 (0.740)	-0.670*** (0.000)

Not: Parantez içindeki değerler standart hata değerlerini göstermekte olup *, ** ve *** sırasıyla %10, %5 ve %1 seviyelerinde serilerin anlamlı olduğunu göstermektedir.

Kuzu karkas getirisi ise sadece benzinin bir dönem gecikmesinden (-0.087) etkilendiği görülmektedir. Diğer taraftan yemlik buğdayın dana karkas hariç diğer tüm piyasaların bir dönem önceki gecikmesinden etkilendiği tespit edilmiştir. İthalatın yapılmadığı dönemlere göre ithalatın yapıldığı dönemlerde dana karkas ve yemlik buğdayın getirilerinin azaldığı görülmüştür. Yukarıdaki bütün açıklamalar dikkate alındığında ürün piyasalarındaki getirilerin birbirlerini kayda değer düzeyde etkilediği görülmüştür.

Çizelge 5'te VAR (1)-Asimetrik BEKK-GARCH (1, 1) için koşullu varyans tahminleri verilirken, parametre tahminlerinde serilerin getirileri ve varyans denklemleri ele alınmıştır. Getiri serilerinde koşullu

varyanslar kısa dönemde kendi şoklarından doğrudan ve dolaylı etkilenirken, uzun dönemde ise dana karkas eti hariç diğer getiri serilerinin hem kendi oynaklıklarından hem de diğer getiri serilerinin oynaklıklarından istatistiki olarak anlamlı bir şekilde etkilendiği görülmüştür. Dana ve kuzu karkas eti ile yemlik buğdayın uzun dönem oynaklıklarının benzin piyasasındaki ve ithalatın yapılmadığı dönemlere göre ithalatın yapıldığı dönemlerden önemli derecede etkilendikleri görülmektedir. Bunlara ek olarak dana karkas eti, kuzu karkas eti ve yemlik buğday piyasalarında oluşan pozitif ve negatif bilgilerin söz konusu piyasalara etkilerinin aynı (simetrik) olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 5. Koşullu Varyans Parametrelerinin Tahmini
Table 5. Estimation of Conditional Variance Parameters

Katsayılar (Parameters)	R _{dana karkas (beef carcass), t}	R _{kuzu karkas (lamb carcass), t}	R _{yemlik buğday (feed wheat), t}
<i>c</i> _{1i}	-0.929* (0.507)	-	-
<i>c</i> _{2i}	-11.202*** (2.681)	-5.898*** (1.053)	-
<i>c</i> _{3i}	12.057*** (0.758)	-4.956*** (1.405)	-2.363 (8.835)
<i>a</i> _{1i}	-0.521*** (0.131)	-0.185 (0.192)	-0.223 (0.155)
<i>a</i> _{2i}	0.311*** (0.092)	0.387*** (0.147)	0.147 (0.102)
<i>a</i> _{3i}	-0.235*** (0.071)	-0.387* (0.219)	-0.287** (0.115)
<i>b</i> _{1i}	0.194 (0.124)	-0.056 (0.168)	0.285** (0.119)
<i>b</i> _{2i}	-0.089 (0.099)	-0.249* (0.148)	0.348*** (0.103)
<i>b</i> _{3i}	-0.207*** (0.050)	0.258** (0.111)	0.606*** (0.074)
<i>d</i> _{1i}	-0.066 (0.316)	0.606* (0.364)	-0.380*** (0.136)
<i>d</i> _{2i}	-0.414* (0.219)	-0.045 (0.287)	0.084 (0.082)
<i>d</i> _{3i}	0.080 (0.093)	-0.096 (0.171)	0.371*** (0.128)
Benzin (Gasoline), <i>i</i> ₁	0.481*** (0.151)	-	-
Benzin (Gasoline), <i>i</i> ₂	1.104*** (0.376)	1.444*** (0.136)	-
Benzin (Gasoline), <i>i</i> ₃	-0.728*** (0.096)	0.639*** (0.096)	0.125 (0.517)
İthalat (Import), <i>i</i> ₁	0.815 (0.577)	-	-
İthalat (Import), <i>i</i> ₂	4.976*** (1.163)	-0.247 (1.098)	-
İthalat (Import), <i>i</i> ₃	-6.670*** (0.527)	0.662 (1.065)	1.624 (6.311)

Not: Parantez içindeki değerler standart hata değerlerini göstermekte olup *, ** ve *** sırasıyla %10, %5 ve %1 seviyelerinde serilerin anlamlı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 6'da VAR (1)-Asimetrik BEKK-GARCH (1, 1) modeli için tanısal test istatistikleri verilmiştir. Modelin tüm varyans eşitliklerinden sağlanan hata terimlerinin ve hata terimlerinin karelerinin ardışık bağımlılık (otokorelasyon) gösterip göstermediği Ljung-Box Q ve Hosking Ljung-Box (MLBQ) test istatistikleri kullanılarak elde edilmiştir. Test istatistikleri sonucunda dana karkas eti hariç diğer piyasaların getiri serilerinin hem hata terimlerinin hem de hata terimlerinin karelerinin otokorelasyon içermediği tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, her bir getiri değişkeninin oynaklığını açıklamada VAR

(1)-Asimetrik BEKK-GARCH (1, 1) modelinin yeterli olduğu bulgusuna varılmıştır. Hata terimlerinin ARCH etkisi barındırmadığı sıfır hipotezi altında bireysel McLeod-Li ve Çok Değişkenli LM testleri kullanılarak incelenmiştir. Testler sonucunda getiri serilerinin oynaklığından elde edilen hata terimlerinin ARCH etkisi içermediği tespit edilmiştir. Çok değişkenli LM testi sonucunda da modelde ARCH etkisinin olmadığı görülmüştür. Yapılan tüm test istatistikleri sonucunda, hata terimlerinin birinci momentinin (ortalama) 0 ve ikinci momentinin ise (varyans) 1'e eşit olduğu görülmüştür.

Çizelge 6. Koşullu Varyans Denklemlerine Uyarlanmış Tanısal İstatistiksel Testler
 Table 6. Diagnostic Statistical Tests Adapted to the Conditional Variance Equations

Tanısal Testler (Diagnostic Tests)	R _{dana karkas (beef carcass), t}	R _{kuzu karkas (lamb carcass), t}	R _{yemlik buğday (feed wheat), t}
Ljung-Box Q(6)	5.625 (0.466)	5.682 (0.460)	5.342 (0.501)
Ljung-Box Q (10)	20.167 (0.028)	7.479 (0.680)	9.969 (0.443)
MARCH-Q(6)		152.380 (0.999)	
MARCH-Q(10)		310.470 (0.972)	
MARCH-Q ² (6)		98.600 (1.000)	
MARCH-Q ² (10)		224.930 (1.000)	
McLeod-Li-Q(6)	7.280 (0.018)	1.901 (0.929)	0.151 (0.999)
McLeod-Li-Q(10)	12.543 (0.250)	3.295 (0.974)	0.276 (1.000)
ARCH-LM(6)	1.422 (0.206)	0.362 (0.903)	0.023 (0.999)
ARCH-LM(10)	1.270 (0.248)	0.325 (0.974)	0.025 (1.000)
Hosking's-MQ(6)		51.857 (0.577)	
Hosking's-MQ(10)		105.128 (0.132)	
Hosking's-MQ ² (6)		16.509 (1.000)	
Hosking's-MQ ² (10)		52.191 (0.999)	
ζ_1	-0.001	-0.005	-0.056
t-stats($\zeta_1=0$)	-0.026	-0.84	-0.846
ζ_1^2	0.986	0.989	0.992
t-stats($\zeta_1^2=1$)	-0.831	-0.713	-0.165
AIC		17.489	
SBC		18.319	
Hannan-Quinn		17.822	
Log Likelihood		-8769.513	

Not: Parantez içindeki değerler p-değerlerini gösterirken *, ** ve *** sırasıyla %10, %5 ve %1 seviyelerinde serilerin anlamlılık düzeyini göstermektedir.

Çizelge 7'de VAR (1)-Asimetrik BEKK-GARCH (1, 1)'deki koşullu varyanslarındaki nedensellik ve Wald testi sonuçları verilmiştir. VAR (1)-Asimetrik BEKK-GARCH (1, 1) modelinde diyagonal GARCH testi için kurulan hipotez testi sonucunda Wald = 141.357 (p<0.000) olduğu tespit edilmiştir. Olasılık değerinin %1 anlamlılık seviyesinden küçük olmasından ötürü A, B ve D diyagonal dışı bütün parametrelerin eş anlamlı olarak sıfırdan farklı bulunarak bir piyasada cereyan eden belirsizliğin karşı olgusal piyasalardaki belirsizliklerden etkilendiği gözlemlenmiştir.

Kuzu karkas eti, yemlik buğday, benzin ve ithalatın bir dönem gecikmesinin dana karkas eti getirisi üzerindeki etkisi Wald testi kullanılarak test edilmiştir. Test sonuçlarına göre, kuzu karkas eti,

yemlik buğday, benzin ve ithalatın bir dönem gecikmesinin dana karkas eti getirisi üzerinde etkisi veya etkilerinin bireysel ve eş zamanlı olarak sıfır olduğunu kabul eden hipotez anlamlı bir şekilde ret edilmiştir. Bu sonuçtan hareketle dana karkas eti piyasasında baş gösteren belirsizliklerin karşı olgusal piyasalarda meydana gelen oynaklıklardan etkilendiği söylenebilir. Benzer sonuçların kuzu karkas eti, yemlik buğday ve benzin piyasalarında da olduğu görülmüştür. Varyans modelinde kullanılan benzinin köşe dışı parametrelerinin sıfır olduğu söyleyen Wald hipotez testinin 76.817 (p<0.000) olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçtan hareketle petrol piyasasındaki başat uzun dönem belirsizlerin diğer piyasalardaki reseptörler tarafından kendi

piyasalarına aktarıldığını söylenebilir.

Çizelge 8'de VAR (1)-Asimetrik BEKK-GARCH (1, 1) modelinin marjinal (birim) etkileri verilmiştir. Dana karkas getirisinin koşullu varyansının hem kendi hem de diğer getiri piyasalarının kısa dönem şoklarından istatistiki olarak anlamlı bir şekilde etkilendiği görülmektedir. Kesavan ve ark. (1992) tarafından yapılan benzer çalışmada, sığır eti ve domuz etinde oluşan belirsizliklerin söz konusu piyasalarda meydana gelen pozitif ve negatif bilgilerin bir sonucu olduğunu vurgulamışlardır.

Tarımsal girdi ve perakende gıda ürünleri fiyatlarında oluşan olumlu ve olumsuz haberlerin tarımsal ürünlerin fiyatlarında şoklara sebep olduğu belirtilmiştir (Khiyavi ve ark., 2012; Uruk ve ark., 2022). Dana karkas getirisinin koşullu varyansı yemlik buğday getirisinin uzun dönem oynaklığından ($h_{3,t} = 0.043$) etkilendiği tespit edilmiştir. Tarımsal ürün olan mısır fiyatlarında oluşan belirsizliklerin domuz fiyatlarına önemli ölçüde aktarıldığı vurgulanmıştır (Wang ve rak., 2018).

Çizelge 7. Koşullu Ortalama ve Varyans Denklemlerine Uyarlanmış Nedensellik ve Wald İstatistiksel Testleri

Table 7. Causality and Wald Statistical Tests Adapted to Conditional Mean and Variance Equations

Kuzu karkas, yemlik buğday, benzin ve ithalatın dana karkas getirisi üzerinde etkisi yoktur.	$H_0: \Gamma_{21} = \Gamma_{31} = \Gamma_{41} = \Gamma_{51} = 0$	13.671 (0.008)
Dana karkas, yemlik buğday, benzin ve ithalatın kuzu karkas getirisi üzerinde etkisi yoktur.	$H_0: \Gamma_{12} = \Gamma_{32} = \Gamma_{42} = \Gamma_{52} = 0$	11.087 (0.026)
Dana karkas, kuzu karkas, benzin ve ithalatın yemlik buğday getirisi üzerinde etkisi yoktur.	$H_0: \Gamma_{13} = \Gamma_{23} = \Gamma_{43} = \Gamma_{53} = 0$	1076.107 (0.000)
GARCH İlişki Yok	$H_0: a_{ij} = b_{ij} = d_{ij} = 0$ bütün $i, j = 1, 2, 3$	977.046 (0.000)
Diyagonal GARCH	$H_0: A, B$ ve D diyagonal dışı bütün elementleri sıfırdır	141.357 (0.000)
Asimetrik İlişki Yok	$H_0: d_{ij} = 0$ bütün $i, j = 1, 2, 3$	44.717 (0.000)
H_0 : Varyans modelinde kullanılan benzinin köşe dışı parametrelerinin değerleri sıfırdır.		76.817 (0.000)
H_0 : Varyans modelinde kullanılan ithalatın köşe dışı parametrelerinin değerleri sıfırdır.		166.076 (0.000)

Not: Parantez içindeki değerler p-değerlerini yansıttığı gibi *, ** ve *** sırasıyla %10, %5 ve %1 seviyelerinde serilerin anlamlılık düzeyini göstermektedir.

Çizelge 8. Koşullu Varyans Denklemlerinde Değişkenlerin Marjinal Etkileri

Table 8. Marjinal Effects of Variables in Conditional Equations of Variance

Katsayılar (Parameters)	R_{dana} karkas (beef carcass), t	R_{kuzu} karkas (lamb carcass), t	R_{yemlik} buğday (feed wheat), t
$\varepsilon_{1,t}^2$	0.271** (0.136)	0.034 (0.071)	0.050 (0.069)
$\varepsilon_{1,t}\varepsilon_{2,t}$	-0.324** (0.156)	-0.143 (0.157)	-0.065 (0.062)
$\varepsilon_{1,t}\varepsilon_{3,t}$	0.245*** (0.087)	0.143 (0.211)	0.128* (0.077)
$\varepsilon_{2,t}^2$	0.097* (0.057)	0.150 (0.114)	0.022 (0.030)
$\varepsilon_{2,t}\varepsilon_{3,t}$	-0.146** (0.061)	-0.299 (0.204)	-0.085 (0.073)
$\varepsilon_{3,t}^2$	0.055* (0.034)	0.150 (0.169)	0.083 (0.066)
$h_{1,t}$	0.038 (0.048)	0.003 (0.019)	0.082 (0.068)
$h_{2,t}$	-0.035 (0.046)	0.029 (0.082)	0.198*** (0.074)
$h_{3,t}$	-0.080 (0.057)	-0.029 (0.086)	0.346** (0.153)
$h_{2,t}$	0.008 (0.018)	0.062 (0.074)	0.121* (0.072)
$h_{23,t}$	0.037 (0.037)	-0.128 (0.095)	0.421*** (0.104)
$h_{3,t}$	0.043** (0.021)	0.067 (0.057)	0.367*** (0.089)
$v_{1,t}$	0.004 (0.042)	0.367 (0.441)	0.144 (0.103)
$v_{1,t}v_{2,t}$	0.055 (0.237)	-0.055 (0.374)	-0.064 (0.079)
$v_{1,t}v_{3,t}$	-0.011 (0.053)	-0.116 (0.231)	-0.282** (0.118)
$v_{2,t}$	0.171 (0.182)	0.002 (0.026)	0.007 (0.014)
$v_{2,t}v_{3,t}$	-0.066 (0.086)	0.009 (0.057)	0.062 (0.056)
$v_{3,t}$	0.006 (0.015)	0.009 (0.033)	0.138 (0.095)
Benzin (Gasoline)	3.096** (1.235)	14.506*** (2.703)	-1.389 (1.052)
İthalat (Import)	5.251 (3.805)	7.741 (9.409)	-14.923** (6.344)

Not: Parantez içindeki değerler standart hata değerlerini göstermekte olup *, ** ve *** sırasıyla %10, %5 ve %1 seviyelerinde serilerin anlamlı olduğunu göstermektedir.

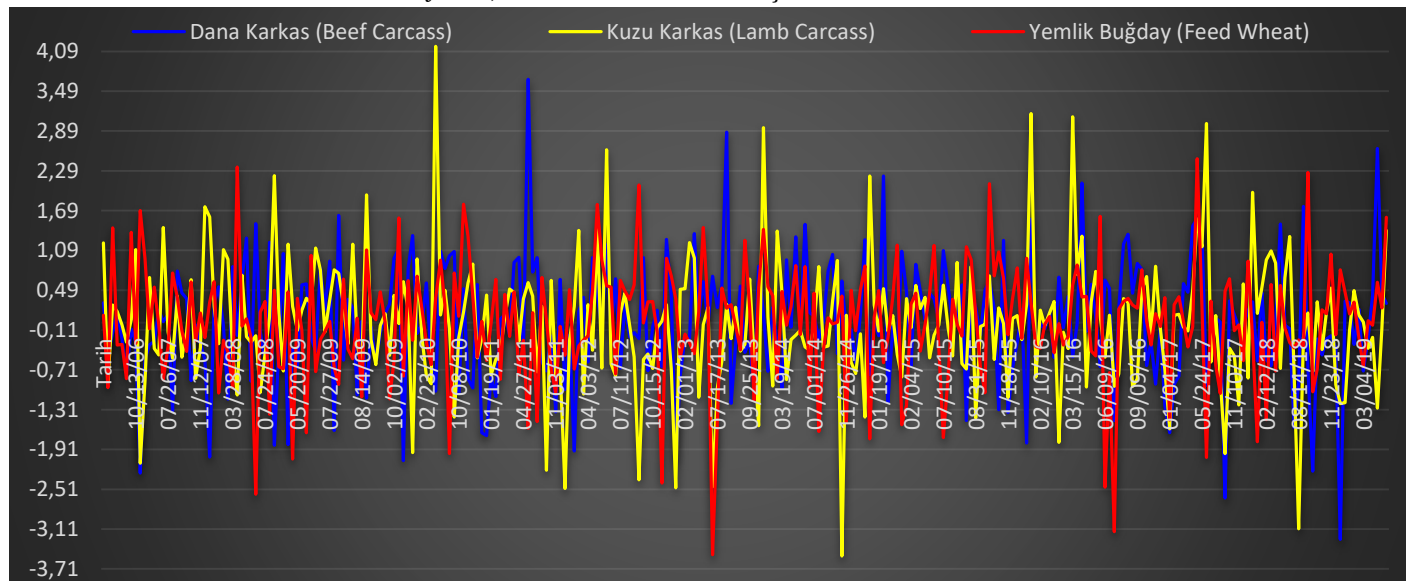
Yemlik buğday getirisinin koşullu varyansı kendi kısa dönem şoklarından etkilenmezken, diğer piyasaların ikili çapraz etkileşiminden ($\varepsilon_{1,t}, \varepsilon_{3,t} = 0.128$) istatistiki açıdan anlamlı bir şekilde etkilenmiştir. Yemlik buğday piyasasındaki oynaklıklar öncelikle kendi uzun dönem oynaklığından ($h_{3,t} = 0.367$) ve kuzu karkas piyasasındaki uzun dönem oynaklığından ($h_{2,t} = 0.121$) dolaysız bir şekilde etkilenmiştir. Domates pazar zinciri boyunca oynaklık yayılımlarının olduğu ve özellikle üretici fiyatlarındaki oynaklığın hem kendi hem de tüketici fiyatlarının uzun dönem oynaklığından pozitif yönde etkilendiğini rapor edilmiştir (Sidhoum ve Serra, 2016). Mısır, buğday, sığır ve domuz eti piyasaları çift yönlü belirsizlikler sergilemişleridir (Ziemer ve Collins, 1984). Ayrıca bir piyasada meydana gelen fiyat belirsizliğinin diğer piyasalardaki volatilitayı tetikleyebileceğini vurgulamışlardır (Askan ve ark., 2020; Ürak ve ark., 2022).

Benzin piyasasındaki fiyat artışlarının dana karkas (3.096) ve kuzu karkasın (14.506) uzun dönem oynaklığını istatistiki açıdan etkilediği tespit edilmiştir. Benzin piyasasındaki bir oynaklığın dana ve kuzu karkas piyasalarının uzun dönem oynaklıklarını arttırması beklenilebilir. Çünkü dana ve kuzu karkasın üretiminden son tüketiciye ulaşana kadar olan süreçte petrol ve petrol türevleri girdi olarak kullanılmasından ötürü bu enerji piyasasındaki fiyat oynaklıkları söz konusu ürünlerin üretim maliyetlerini etkilemesiyle piyasalarda bir belirsizliğin oluşmasına sebep olabilir. Bulguları destekler nitelikte Peri ve Baldi (2010) tarafından AB'de, Du ve ark. (2011) tarafından Çin'de, Trujillo-Barrera ve ark. (2012) tarafından ABD'de, Nazlioglu ve ark. (2013) tarafından Türkiye'de, Cabrera ve Schulz (2016) tarafından Almanya'da, Pal ve Mitra

(2017) tarafından ABD'de, Shahzad ve ark. (2018) tarafından Fransa'da, Ürak ve ark. (2018) tarafından Türkiye'de ve Taghizadeh-Hesary ve ark. (2019) tarafından Bangladeş, Çin, Endonezya, Hindistan, Japonya, Sri Lanka, Tayland ve Vietnam'da yapılan çalışmada gıda fiyatları ile enerji fiyatları arasında uzun vadeli eş bütünleşmeli bir ilişkinin varlığını rapor etmişlerdir.

İthalatın yapılmadığı dönemlere göre ithalatın yapıldığı dönemlerde yemlik buğdayın arzındaki artıştan dolayı uzun dönemde yemlik buğdayın oynaklığının azalması beklenebilir bir durumdur ve çalışmada elde edilen sonuçlarla örtüşmektedir. Bu durum Türkiye Cumhuriyet Merkez Bankası'nın uyguladığı para politikalarıyla da uyumlu olduğunu göstermektedir. Türkiye Cumhuriyet Merkez Bankası enflasyonu düşük tutma amacıyla uyguladığı döviz kuru politikasıyla gıda enflasyonu sepetinde bulunan tarımsal ürünlerin ithalatını dolaylı olarak teşvik etmektedir.

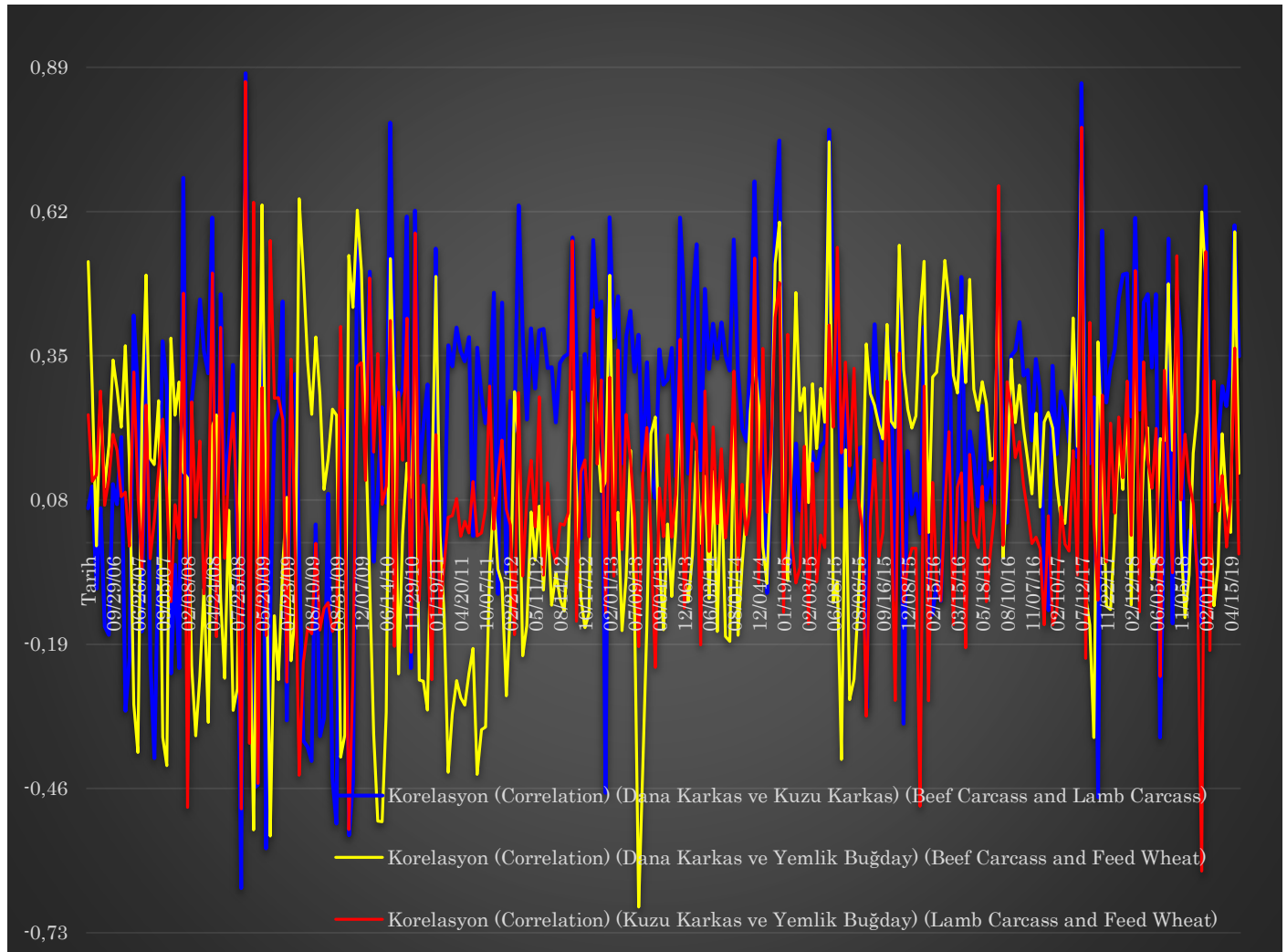
Dana ve kuzu karkas ile yemlik buğday getirilerin koşullu varyanslarının zaman içinde sergilediği hareketler Şekil 1'de verilmiştir. İncelenen dönem boyunca kuzu karkas eti getirisinin koşullu varyansının dana karkas eti getirisinin koşullu varyansından daha yüksek bir oynaklık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum incelenen dönemde küçükbaş hayvan arzının düşük olmasıyla açıklanabilir. Ayrıca yemlik buğdayın diğer iki piyasaya göre daha büyük bir oynaklık sergilediği gözlenmiştir. Burada yemlik buğdayın hem iklim şartlarına hem de piyasadaki arz ve talep dengesine bağlı olarak oynaklık sergilemesi beklenilmektedir. Ayrıca üretim maliyetinin büyük bir bölümünü teşkil eden enerji piyasasındaki belirsizlikler, bu ürünün piyasasında da belirsizliklerin meydana gelmesinde başat bir faktör olması beklenir.



Şekil 1. Kırmızı et ve yemlik buğdayın zaman içindeki koşullu varyanslarındaki değişimleri
Figure 1. Changes in conditional variances of red meat and forage wheat over time.

Dana ve kuzu karkas ile yemlik buğday getirileri arasındaki koşullu korelasyonun incelenen dönem boyunca zaman içindeki hareketleri Şekil 2’de verilmiştir. Getiri serileri arasındaki koşullu korelasyon değerlerinin 2008-2011 ve 2017-2019 dönemlerinde en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu dönemlerde Türkiye ve dünyada meydana gelen ekonomik olayların bir sonucu olduğunu söyleyebiliriz. Dana karkas ve kuzu karkasın koşullu varyanslarının korelasyonları incelendiğinde ortalama olarak 0.201’lik bir değer elde edilmiştir. Özellikle 2010 yılının başından 2015 yılının sonlarına doğru yüksek bir ilişki sergilediği ve daha sonra bu

ilişkinin düşüşe geçtiği görülmüştür. Bu durum, dana karkas ve kuzu karkasın oynaklık anlamında birbirini tetiklediğini göstermektedir. Dana karkas piyasasında artan oynaklık kuzu karkas piyasasına yansyacaktır veya tersi bir durumda söz konusu olabilir. Dana karkas ve yemlik buğday ile kuzu karkas ve yemlik buğdayın koşullu varyansların korelasyonlarının sırasıyla 0.090 ve 0.088 olduğu tespit edilmiştir. Bu ilişki düzeyleri son yıllarda şiddetini kaybederek daha stabil bir duruma geldiği de görülmüş ve ürünler arasındaki bu çapraz korelasyon ilişkileri bir birine uyumlu bir hareket sergilediği gözlemlenmiştir.



Şekil 2. Kırmızı et ve yemlik buğday piyasaları arasında olası tüm çapraz koşullu korelasyon ilişkileri.
Figure 2. All possible cross-conditional correlation relationships between the red meat and forage wheat markets.

Modelin optimal portföy ağırlıkları ve koruma oranları Çizelge 9’da verilmiştir. Dana karkasın kuzu karkas ve yemlik buğday fiyat getirileriyle olan optimal portföy ağırlıkları sırasıyla 0.643 ve 0.560 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuca göre, üreticiler veya yatırımcılar, 1 ₺’lik bir portföyde 64.30 kuruşluk kısmını kuzu karkasa ve geriye kalan 35.70 kuruşluk

kısmını ise dana karkasa yatırmaları gerekmektedir. Koruma oranlarına bakıldığında ise, dana karkasta 1 ₺’lik uzun pozisyon karşısında yatırımcı kısa dönemde 17.30 kuruşu kuzu karkas piyasasından, 9.80 kuruşluk kısmını da yemlik buğday piyasasından çekerek riske karşı pozisyon belirleyebilir. Benzer şekilde, kuzu karkasta 1 ₺’lik uzun pozisyon

karşısında kısa dönemde 23.80 kuruşunu dana karkas piyasasından ve 11.60 kuruşunu ise yemlik buğday piyasasında çekerek riske karşı bir koruma geliştirebilir. Bu sonuçlara dikkat edilirse kuzu

karkasın dana karkasa göre daha fazla risk taşıdığını söyleyebiliriz. Bu durum, tarım ürünleri ve gıda piyasasında kuzu karkasın dana karkasa göre daha düşük arza sahip olmasıyla izah edilebilir.

Çizelge 9. Optimal Portföy Ağırlıkları ve Koruma Oranları
Table 9. Optimal Portfolio Weights and Hedging Rates

	Optimal Portföy Ağırlığı (Optimal Portfolio Weights) (w_i^j)			Koruma Oranları (Hedging Rates) (β_i)		
	Dana Karkas (Beef Carcass)	Kuzu Karkas (Lamb Carcass)	Yemlik Buğday (Feed Wheat)	Dana Karkas (Beef Carcass)	Kuzu Karkas (Lamb Carcass)	Yemlik Buğday (Feed Wheat)
Dana Karkas (Beef Carcass)	---	0.643 (0.000)	0.560 (0.000)	---	0.173 (0.000)	0.098 (0.000)
Dana Karkas (Beef Carcass)	0.357 (0.000)	---	0.442 (0.000)	0.238 (0.000)	---	0.116 (0.000)
Dana Karkas (Beef Carcass)	0.440 (0.000)	0.558 (0.000)	---	0.103 (0.000)	0.066 (0.000)	---

Not: Parantez içindeki değerler p-değerlerini gösterirken *, ** ve *** sırasıyla %10, %5 ve %1 seviyelerinde serilerin anlamlılık düzeyini göstermektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, ele alınan getiri serilerinde koşullu varyansların kısa dönemde hem kendi şoklarından hem de diğer getiri serileri aralarında meydana gelen şoklardan istatistiki olarak anlamlı bir şekilde etkilendiği tespit edilmiştir. Piyasalarda meydana gelen oynaklıklar (belirsizlikler) ya dolaysız (koşullu varyans yoluyla) veya dolaylı (koşullu ortak varyans yoluyla) bir şekilde ilgili piyasaya iletilerek bu piyasa üzerinde kalıcı belirsizlikleri meydana getirdiği gözlemlenmiştir. Özellikle Türkiye’de üretim maliyetlerinin çok önemli bir kısmını oluşturan petrol ve petrol türevlerine alternatif kaynakların yurt içinde üretiminin yapılması dana karkas eti, kuzu karkas eti ve yemlik buğday piyasalarındaki uzun dönem belirsizlikleri düşüreceği beklenmektedir. Türkiye’de gıda tüketiminde çok önemli bir yeri olan hayvansal (dana ve kuzu karkas) ve bitkisel (yemlik buğday) piyasalarındaki oynaklıkları düşürecek planlamalara gereksinim duyulmaktadır.

Bu çalışmadaki önemli sonuçlardan birisi de kuzu karkas piyasasındaki getiri oynaklığının dana karkas piyasasına göre daha şiddetli olduğu tespit edilmiştir. Bu bağlamda bu piyasa yapısını değiştirmeye yönelik hükümet yatırımları veya yeni programların uygulanması söz konusu piyasanın oynaklığını azaltmaya yönelik olmalıdır. Bununla birlikte, benzin ve yemlik buğday piyasalarından dana ve kuzu karkas piyasalarına volatilitenin aktarımının olumsuz etkisi, politika yapımcıların benzin ve yemlik buğday piyasaları yoluyla söz konusu piyasalardaki fiyat oynaklıklarını düşürebilirler. Dolayısıyla karar vericiler dana ve kuzu karkas piyasalarında fiyat istikrarını sağlamak için benzin ve yemlik buğday piyasalarına odaklanabilirler. Ayrıca kuzu, buzağı ve

hayvansal yem üretimine yapılacak desteklerin ve teşviklerin sonucunda, bu üç üretimin artırılması ile Türkiye’de koyun, koç ve sığır yetiştiriciliğinin istenilen seviyelere gelmesi mümkün olacaktır. Çevre dostu enerji politikaları nedeniyle biyoyakıt üretiminin çekiciliğinin artması, enerji ile hayvansal (dana ve kuzu karkas) ve bitkisel yem (yemlik buğday) piyasaları arasındaki bağı daha da güçlendirmesi beklenmektedir. Bu nedenle, biyoyakıt fiyatları gelecek dönemlerde dana ve kuzu karkas ile yemlik buğday fiyatlarını daha fazla etkileyebilir. Dolayısıyla politika yapımcılar yem fiyatlarını desteklerken enerji fiyatlarını da hedeflemelidirler. Son olarak dana ve kuzu karkas ile yemlik buğday piyasalarındaki şiddetli oynaklıklar, ilgili sektörlerdeki üreticiler ve tüketicilerin refahı için yıkıcı bir faktör olabilir ve bu nedenle, politika yapımcılara sürdürülebilir kırmızı et arzı için üreticilerin daha ucuz ve yeterli girdilere erişimlerinin iyileştirilmesi ve benzin piyasası yönetimini sağlayacak programların oluşturulması tavsiye edilmektedir.

Her ne kadar bu çalışma, dana, kuzu karkas ve yemlik buğday fiyat getirileriyle makroekonomik değişkenler (benzin ve ithalat) arasında yeni bilgiler sunsa da, esas olarak veriler ve ekonometrik yaklaşımla ilgili bazı sınırlamalara tabidir. Bu çalışmanın sınırlıkları çalışmaya konu olan ürünlerin (dana karkas, kuzu karkas ve yemlik buğday) yalnızca piyasalarını kapsamaktadır. Sonraki çalışmalarda daha fazla ürün piyasası kullanılabilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Faruk Urak’ın doktora tezinin üçüncü bölümünden türetilmiştir.

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

- Abdelradi F, Serra T 2015. Food-energy nexus in Europe price volatility approach. *Energy Econ.*, 48: 157-167.
- Sidhoum A, Serra T 2016. Volatility spillovers in the Spanish food marketing chain. The case of tomato. *Agribusiness*, 32(1): 45-63.
- Askan E, Urak F, Bilgic A 2020. Revealing asymmetric spillover effects in hazelnut, gasoline, and exchange rate markets in Turkey: The VECM-BEKK MGARCH Approach. *Panoeconomicus*, 1-24.
- Barsky RB, Kilian L 2001. Do we really know that oil caused the great stagflation? A monetary alternative. *NBER Macroeconomics annual*, 16: 137-183.
- Bollerslev T 1986. Generalized autoregressive conditional heteroscedasticity. *J. Econ.*, 31: 307-327.
- Cabrera BL, Schulz F 2016. Volatility Linkages between Energy and Agricultural Commodity Prices. *Energy Economics*, 54: 190-203.
- Du X, Yu CL, Hayes DJ 2011. Speculation and volatility spillover in the crude oil and agricultural commodity markets, a Bayesian analysis. *Energy Econ.*, 33: 497-503.
- Dünya Bankası 2008. World Development Report 2008, agriculture for development. Washington, DC.
- Energy Efficiency & Renewable Energy 2021. <https://www.energy.gov/eere/office-energy-efficiency-renewable-energy>
- Engle RF, Kroner K 1995. Multivariate simultaneous generalized ARCH. *Econometric Theory*, 11: 122-150.
- Fakari B, Aliabadi MMF, Mahmoudi H, Kojori M 2016. Volatility Spillover and Price Shocks In Iran's Meat Market. *Custos e Agronegocio*, 12(2): 84-98.
- Grier KB, Henry TO, Olekalns N, Shields K 2004. The Asymmetric Effects of Uncertainty on inflation and Output Growth. *J. Appl. Econ.*, 19: 551-565.
- Kesavan T, Aradhyula SV, Johnson SR 1992. Dynamics and price volatility in farmretail livestock price relationships. *Journal of Agricultural and Resource Economics*, 17(2): 348-361.
- Khiyavi PK, Moghaddasi R, Eskandarpur B, Mousavi N 2012. Spillover Effects of Agricultural Products Price Volatilities In Iran. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 2(8): 7906-7914.
- Kroner KF, Ng VK 1998. Modeling asymmetric comovements of asset returns. *Review of Financial Studies*, 11(4): 817-844.
- Kroner KF, Sultan J 1993. Time-varying distributions & dynamic hedging with foreign currency futures. *J. of Financial and Quantitative Analysis*, 28: 535-551.
- Mensi W, Hammoudeh S, Nguyen DK, Yoon SM 2014. Dynamic spillovers among major energy and cereal commodity prices. *Energy Econ.*, 43: 225-243.
- Mitchell D 2009. A Note on Rising Food Prices. Washington, DC, the World Bank.
- Nazlioglu S, Erdem C, Soytaş U 2013. Volatility spillover between oil and agricultural commodity markets. *Energy Economics*, 36: 658-665.
- Özdemir FN, Urak F, Bilgic A, Yavuz F 2020. Türkiye'de Koyun Eti, Besi Yemi, Benzin Reel Fiyatlarının ve Döviz Kurunun Koşullu Varyanslarındaki Oynaklığın VAR-Asimetrik BEKK-GARCH (1,1) Modeli İle Tahmin Edilmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23: 1270-1285.
- Pal D, Mitra SK 2017. Diesel and soybean price relationship in the USA, evidence from a quantile autoregressive distributed lag model. *Empirical Economics*, 52(4): 1609-1626.
- Peri M, Baldi L 2010. Vegetable oil market and biofuel policy, an asymmetric cointegration approach. *Energy Econ.*, 32: 687-693.
- Rahman S, Serletis A 2012. Oil price uncertainty and the Canadian economy, Evidence from a VARMA, GARCH-in-Mean, asymmetric BEKK model. *Energy Economics*, 34(2): 603-610.
- Rosegrant M, Tingju Z, Msangi S, Sulse T 2008. Global Scenarios for Biofuels: Impacts and Implications. *Applied Economic Perspectives and Policy*, 30: 495-505.
- Salisu AA, Oloko TF 2015. Modeling oil price-US stock nexus, A VARMA-BEKK-AGARCH approach. *Energy Economics*, 50: 1-12.
- Shahzad SJH, Hernandez JA, Al-Yahyaee KH 2018. Asymmetric risk spillovers between oil and agricultural commodities. *Energy Policy*, 118: 182-198.
- Taghizadeh-Hesary F, Rasoulinezhad E, Yoshino N 2019. Energy and Food Security, Linkages through Price Volatility. *Energy Policy*, 128: 796-806.
- Trujillo-Barrera A, Mallory M, Garcia P 2012. Volatility spillovers in US crude oil, ethanol, and corn futures markets. *Journal of Agricultural and Resource Economics*, 37(2): 247-262.
- The Brazilian Corn Ethanol Union (UNEM) 2021. Corn Ethanol Production Booms in Brazil.
- Urak F, Bilgic A, Dağdemir V, Özer H 2022. Türkiye'de Döviz Kuru Bağlamında Dana Karkas,

- Kuzu Karkas ve Yemlik Buğday Piyasalarının Koşullu Varyanslarındaki Oynaklığın VAR (2)-Asimetrik BEKK-GARCH (1, 1) Modeli ile Tahmin Edilmesi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 53(1):
- Urak F, Bozma G, Bilgic A 2018. Türkiye’de Buğday, Arpa, Benzin Reel Fiyatlarının ve Döviz Kurunun Koşullu Varyanslarındaki Oynaklığın VAR (1)-Asimetrik BEKK -GARCH (1, 1) Modeli ile Tahmin Edilmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg, 21(4): 565-579.
- Wang GY, Si RX, Li CX, Zhang GT, Zhu NY 2018. Asymmetric price transmission effect of corn on hog, evidence from China. Agric. Econ., 64(4): 186-196.
- Ziemer RF, Collins GS 1984. Granger Causality and US Crop and Livestock Prices. Southern Journal of Agricultural Economics, 16(01): 115-120.

Arsuz Ovası Topraklarında Borun Kimyasal Fraksiyonlarının Belirlenmesi

Tuğba AVCI¹, Necat AĞCA^{2*}

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı, Antakya, HATAY, ²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Antakya, HATAY

¹<https://orcid.org/0000-0001-9954-6086>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4864-844X>

✉: necagca@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada, Arsuz ovası topraklarında bor fraksiyonları ve bu fraksiyonlar ile toprakların bazı özellikleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Ovada 19 farklı noktadan 0-30 cm derinlikten alınan örneklerde, çeşitli fiziksel ve kimyasal analizler ve ardışık olarak bor ekstraksiyonu yapılmıştır. Topraklardaki bor fraksiyonları; kolay çözünebilir bor (KÇ-B), spesifik olarak adsorbe olmuş bor (SPA-B), oksitlere bağlı bor (OK-B), organik bileşiklere bağlı bor (OB-B) ve residüyal bor (RE-B) olarak belirlenmiştir. Ayrıca, topraktaki bor fraksiyonları arasındaki ve toprak özellikleri arasındaki ilişkiler doğrusal korelasyon analizleri ile irdelenmiştir. Araştırma alanı topraklarında ardışık olarak ekstrakte edilen KÇ-B, SPA-B, OK-B, OB-B ve RE-B fraksiyonları toplam borun (TO-B) sırasıyla % 3.72, %8.14, %1.33, 4.65 ve % 82.34'ünü oluşturmuştur. Toprakların EC değerleri SPA-B içerikleri arasında istatistiksel açıdan %1 düzeyinde önemli pozitif ilişki saptanmıştır. Benzer şekilde TO-B ile RE-B içeriği arasında istatistiksel açıdan önemli (p <0.01) ilişki belirlenmiştir. Toprakların bor içeriklerinin en büyük kısmını residüyal bor oluşturmuştur. Bunu sırasıyla spesifik olarak adsorbe olmuş bor, organik bileşiklere bağlı bor, kolay çözünebilir bor ve oksitlere bağlı bor izlemiştir. Bu sonuçlar, bitkilerce alınabilir formlardaki (H₃BO₃, B(OH)₄⁻) bor içeriklerinin oldukça düşük olduğunu göstermektedir. Ancak toprakların önemli bir çoğunluğunda bitkilerce alınabilir formlardaki bor içeriklerinin yeterli olduğu belirlenmiştir.

Determination of Chemical Fractions of Boron in Arsuz Plain Soils

ABSTRACT

In this study, boron fractions and the relationships between these fractions and some properties of the soils were investigated in the soils of Arsuz plain. Various physical and chemical analyze and sequential boron extraction were performed on samples taken from a depth of 0-30 cm from 19 different points in the plain. Boron fractions in soils; easily soluble boron (KÇ-B), specifically adsorbed boron (SPA-B), bound to oxides (OK-B), boron bound to organic compounds (OB-B) and residual boron (RE-B). In addition, the relationships between boron fractions in the soil and soil properties were examined by linear correlation analysis. KÇ-B, SPA-B, OK-B, OB-B and RE-B fractions constituted 3.72%, 8.14%, 1.33%, 4.65 and 82.34% of the total boron (TO-B), respectively. A statistically significant positive correlation at the level of 1% was found between the EC values of the soils and SPA-B contents. Similarly, a statistically significant relationship was determined between TO-B and RE-B content (p <0.01). The majority of the boron content of the soils was residual boron. This was followed by specifically adsorbed boron, boron bound to organic compounds, easily soluble boron and boron bound to oxides. These results show that the boron content in forms (H₃BO₃, B(OH)₄⁻) that can be taken by plants is quite low. However, it has been determined that the boron content in the forms that can be taken by plants is sufficient in the majority of the soils.

Toprak Bilimi

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 25.05.2021

Kabul Tarihi : 12.10.2021

Anahtar Kelimeler

Arsuz ovası

Bor

Kimyasal fraksiyon

Soil Science

Research Article

Article History

Received : 25.05.2021

Accepted : 12.10.2021

Keywords

Arsuz plain

Boron

Chemical fraction

Atıf Şekli: Avcı T, Ağca N. 2022. Arsuz Ovası Topraklarında Borun Kimyasal Fraksiyonlarının Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1181-1190. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.942445>
To Cite : Avcı T, Ağca N. 2022. Determination of Chemical Fractions of Boron in Arsuz Plain Soils. KSÜ J. Agric Nat 25 (5): 1181-1190. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.942445>

GİRİŞ

Bor hem önemli bir bitki besin elementi hem de bitkiler için toksik bir elementtir. Besin elementi sınırı ile toksik element sınırı birbirine çok yakındır. Bu nedenle bitkisel üretimde topraklardaki bor içeriğinin ve bu borun fraksiyonlara dağılımının bilinmesi bitkisel üretim açısından önem taşımaktadır. Periyodik sistemde 3A gurubunda yer alan bor mikro bitki besin elementleri içerisinde metal olmayan tek elementtir. (Adriano, 1986).

Topraklarda bor yetersizliği kaba bünyeli, düşük organik madde içerikli ve yüksek pH ve yüksek kireç içerikli topraklarda oldukça yaygındır (Arora ve Chahal, 2014).

Genel olarak kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde toprakların hem toplam bor (B) hem de bitkiye yararlı B miktarı, yağışlı iklim bölgelerindeki topraklardan daha yüksektir (Gupta, 1968). Türkiye’de bor toksitesine genellikle, Orta Anadolu bölgesinde rastlanmaktadır (Alkan, 1994).

Farklı toprak bileşimindeki borun dağılımı hakkındaki bilgiler topraktaki borun kimyasını anlamada ve bitkiler tarafından alınmada potansiyel katkıları bilmek açısından önemlidir. Fraksiyonlar ile ilgili araştırmalar, bor formları ve topraktaki alınabilirliği hakkında bilgi sağlar (Shuman, 1986). Farklı bor fraksiyonlarının oranı önemli ölçüde toprak tiplerine ve ekstraksiyon tekniklerine bağlıdır (Raza ve ark., 2002).

Bor topraklarda değişik formlarda bulunmakta ve farklı çözeltiler ile ekstrakte edilebilirlik durumlarına göre farklı formlara ayrılmaktadır. Boru tarım ve çevre açısından değerlendirmek için, toprak ve sedimentlerdeki farklı formlarının ve konsantrasyonlarının belirlenmesi önemlidir. Borun kimyasal olarak fraksiyonlarına ayrılması ile çözünebilir bor, spesifik olarak adsorbe olmuş bor, oksitlere bağlı bor, organik bileşiklere bağlı bor ve residüyal bor fraksiyonları belirlenmektedir. Bütün bu fraksiyonların toplamı ise topraklardaki toplam boru vermektedir (Tessier ve ark., 1979).

Keren ve Gast. (1983), borun topraklardaki çözünürlüğünü kontrol eden bor minerallerinin topraklardaki çözünürlüğünün oldukça düşük (turmalin) veya oldukça yüksek olabileceğini (borat) ve topraklardaki bor konsantrasyonunun bor adsorpsiyon reaksiyonlarınca etkilendiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, bitkilerin sadece toprak çözeltilisindeki bor aktivitesine doğrudan cevap verebildiğini ve borun toprak yüzeylerine adsorbe olmak koşuluyla da bitkilere toksik durumdan

çıkarmakta olduğunu rapor etmişlerdir.

Toprakta bor, killerin ve demir ile alüminyumun sulu oksitlerinin yüzeylerinde adsorbe edilmiş şekilde, organik maddeye bağlanmış olarak ve toprak çözeltilisinde bağımsız iyonize olmamış borik asit (H_3BO_3) ve borat anyonları $B(OH)_4^-$, şeklinde bulunur (Marschner, 1986; Kacar ve Katkat, 1998).

Borun kimyasal fraksiyonlarına ayrılması ve bu fraksiyonların toprak özellikleri ile ilişkilerinin belirlenmesi; topraklarda borun davranışı, bitkiler tarafından alınabilirliği ve topraklarda tutulma şekilleri hakkında bilgiler vermektedir. Farklı toprak bileşenlerindeki bu dağılımın bilinmesi, borun topraklardaki kimyasını ve bu fraksiyonların bitki alınma potansiyel katkısını anlamak açısından temel oluşturur (Datta ve ark., 2002).

Wójcik (2000) tarafından yapılan bir çalışmada; Polonya’da ki bazı topraklardaki bor fraksiyonları belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarında toprak çözeltilisindeki borun $0.07-0.17 \text{ mg kg}^{-1}$, toprak kolloidleri tarafından özel olarak adsorbe edilmemiş bor ise $0.01-0.03 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında değişmiştir.

Datta ve ark. (2002) tarafından Hindistan’ daki (Yeni Delhi) bazı topraklarda yapılan bir çalışmada topraklardaki kolay çözülebilir bor içeriklerinin $0.19-0.67 \text{ mg kg}^{-1}$, spesifik adsorbe edilmiş bor $0.03-0.85 \text{ mg kg}^{-1}$, oksitlere bağlı bor $0.40-5.73 \text{ mg kg}^{-1}$, organik bileşiklere bağlı bor $0.00-1.55 \text{ mg kg}^{-1}$ ve residüyal bor ise $91.1-98.8 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında değişmiştir.

Saltalı ve ark. (2005), farklı karakteristiklere sahip topraklarda bor adsorpsiyonuyla ilgili yaptıkları çalışmada, topraklarda yararlı borun $0.05-1.60 \text{ mg kg}^{-1}$ olduğunu, toprakların maksimum bor adsorpsiyon kapasitelerinin kil, kireç ve pH değerleri ile önemli pozitif ilişkisinin olduğunu rapor etmişlerdir.

Lucho-Canstantino (2005) tarafından Meksika’nın merkezinde yapılan çalışmalarda; topraklardaki borun kimyasal fraksiyonları belirlenmiştir. Tüm fraksiyonların toplamını temsil eden borun toplam konsantrasyonu $9.2-123.8 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında değişmiştir.

Saltalı ve Akın (2011) tarafından Tokat Kazova’da yapılan bir çalışmada toprakların bor fraksiyonları ve bu fraksiyonlar ile toprak özellikleri arasındaki ilişkiler saptanmıştır. Farklı ekstraksiyon çözeltileri ile ardışık ekstrakte edilerek belirlenen toprak bor fraksiyonlarından, kolay çözünebilir bor ve spesifik olarak adsorbe edilmiş bor fraksiyonları ile toprak pH’sı arasında önemli pozitif ilişkiler bulunurken, oksitlere bağlı bor fraksiyonu ile bor fraksiyonu ile toprakların kireç içerikleri arasında önemli negatif

ilişkiler bulunmuştur.

Arora ve Chahal (2014) tarafından Mısır'daki bazı alüvyal topraklarda yapılan çalışmalarda farklı çözeltilerle ekstrakte edilmiş bor konsantrasyonları belirlenmiştir. Ayrıca bu konsantrasyonlar arasındaki ilişkiler korelasyon analizleri ile belirlenmiştir. En çok kullanılan bor formu olan sıcak suda çözünmüş bor ile 0.01 M CaCl₂ ile ekstrakte edilebilir bor arasında önemli istatistiksel ilişkiler bulunmuştur.

Padbhusan ve Kumar (2015) tarafından topraktaki bor fraksiyonları ile ilgili çalışmada; toplam borun önemli bir kısmını residüyal bor fraksiyonunun oluşturduğu belirlenmiştir.

Bor fraksiyonlarının bilinmesi, borun miktarı, alınabilirliği ve kimyası bitkiye yararlılığı çalışmalarında bilgi sağlar. Böyle bilgiler borun alınabilirliğinin tahmini, bor yıkanması, dinamiği, topraktaki kimyasal formlar arasındaki dönüşümler ve çevresel etkiler açısından da önemlidir. Toplam bor (T-B) beş fraksiyona ayrılır. Bunlar; Kolay Çözünebilir Bor (Rs-B), Spesifik Adsorbe edilmiş Bor (Spa-B), Oksitlere Bağlı Bor (Ox-B), Organik Bileşiklere Bağlı Bor (Org-B) ve Residüyal Bor (Res-B) dir. Kolay çözünebilir bor fraksiyonu toprak çözeltilisinde bulunur ve toprak parçacıkları tarafından zayıf şekilde tutulur. Bu bor fraksiyonun çoğu bitkilerin alımı için uygun durumdadır. Bu fraksiyon toplam borun %1-2 ' sini oluşturur. Birçok bitki için alınabilir ikinci bor fraksiyonu spesifik adsorbe edilmiş bor olup bu fraksiyon toprakta organik madde ve kil yüzeyleri tarafından tutulur. Farklı fraksiyonlardaki borun oransal dağılım sıralaması Res-B > Org-B > Spa-B > Rs-B > Ox-B şeklindedir. Ancak toprak pH' ı, organik madde içeriği, kil mineralleri, demir ve alüminyum oksitler gibi toprak faktörleri borun farklı fraksiyonlar arasındaki bu sıralamayı ve bor fraksiyonları arasındaki bu dönüşümleri değiştirebilir (Padbhusan ve Kumar, 2017).

Borun tarımdaki etkilerini değerlendirebilmek için, topraklardaki farklı bor fraksiyonlarını bilmek ve her bir fraksiyonun konsantrasyonunu belirlemek gerekir (Padbhusan ve Kumar, 2015). Bu çalışmada, Arsuz ovası topraklarında bor fraksiyonları belirlenmiş ve bu fraksiyonlar ile bazı toprak özellikleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir..

MATERYAL ve METOD

Örnekleme Yöntemi

Yaklaşık 4500 hektarlık bir alan kaplayan Arsuz ovası, Hatay ili Arsuz ilçesi sınırları içinde yer almaktadır (36°29'42.22" K ile 36°1'8.71"D ve 36°23'37.67"K ile 35°52'10.57" D) (Şekil 1). Ovanın batısında Akdeniz, doğusunda Amanos dağları, kuzeyinde İskenderun, güneyinde ise Samandağ ilçesi yer almaktadır (Anonim, 2016). Çalışma alanının içinde bulunduğu Hatay iline ait uzun yıllık (30 yıllık)

iklim verilerine göre; alan, yazları sıcak ve kurak kışları ılık ve yağışlı Akdeniz ikliminin etkisi altındadır. Ortalama yıllık yağış 1121.6 mm ortalama sıcaklık ise 18.3 °C olarak kaydedilmiştir (Anonim 2021).

Bu çalışmada, Hatay il sınırları içinde kalan Arsuz ovasından, ana materayaldeki değişiklikler dikkate alınarak, tesadüfi örnekleme yöntemine göre, 0-30 cm derinlikte toplam 19 adet toprak örneği alınmıştır (Şekil 1). Ayrıca, toprak örneklerinin noktaların coğrafi koordinatları GPS aleti ile belirlenmiştir.

Toprak analizleri

Alınan toprak örnekleri plastik tavalarda gölgede kurutulup, 2 mm'lik elek ile elendikten sonra analize hazır hale getirilmiştir. Analize hazır hale gelen toprak örneklerinde; borun farklı kimyasal fraksiyonları belirlenmiş ve ayrıca, pH, elektriksel iletkenlik (EC), kireç ve tane irilik dağılımı (% kum, kil ve silt) analizleri yapılmıştır.

pH ve EC 1/2.5 toprak-su süspansiyonunda ölçülmüştür (Richards, 1954). Kireç Scheibler kalsimetresi ile (Allison ve Moode, 1965), organik madde modifiye edilmiş Lichterfelder yöntemi ile (Schlichting ve Blume, 1966), bünye ise hidrometre yöntemi ile (Bouyoucos, 1951) saptanmıştır.

Topraklardan Ardışık Bor Ekstraksiyonu

Ardışık ekstraksiyon yöntemine, önce en az etkili ekstraksiyon çözeltisi ile başlanmakta ve genellikle daha düşük pH değerlerine sahip ekstraksiyon çözeltileri ile ardışık olarak devam edilmektedir (Hou ve ark., 1996).

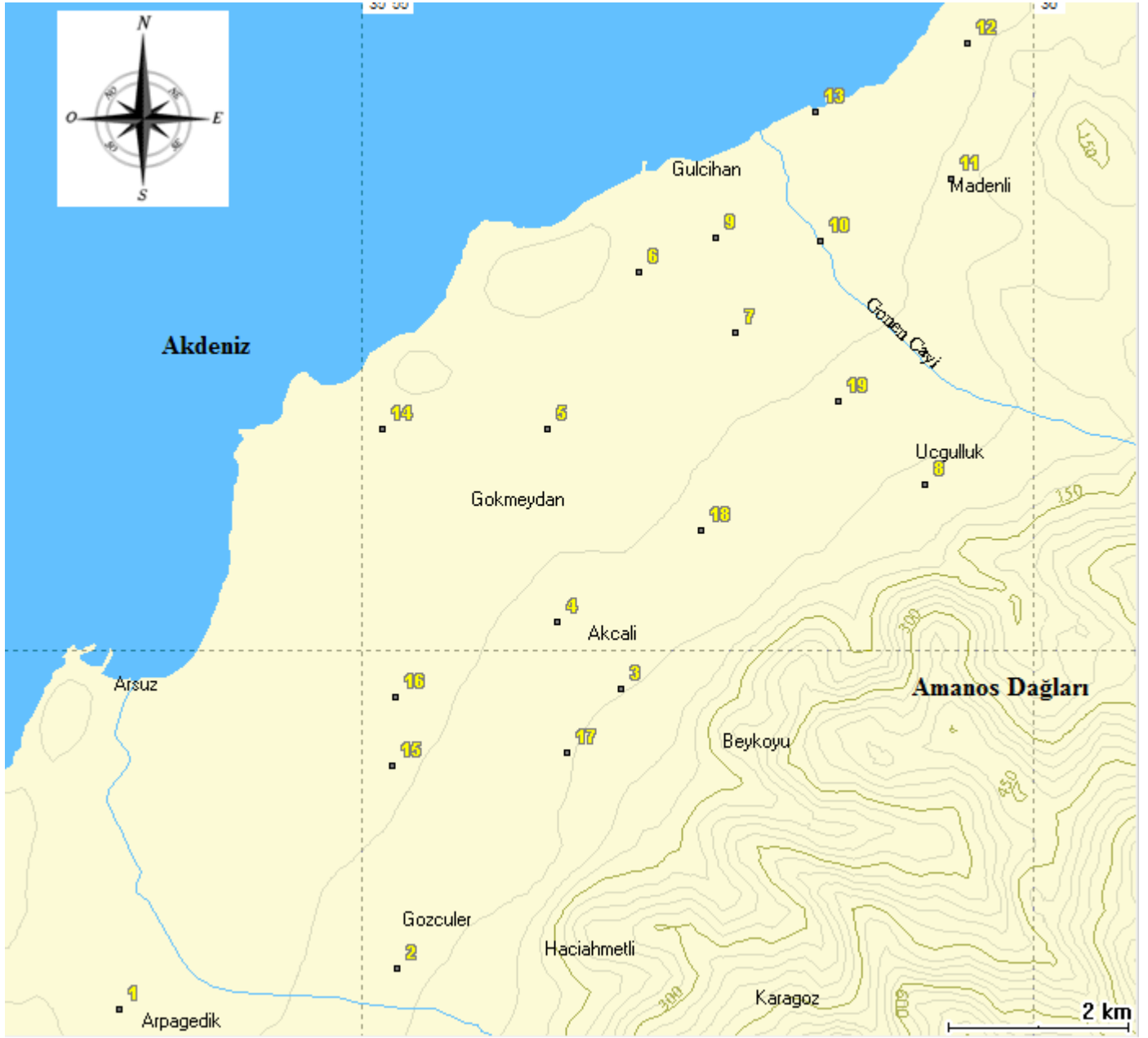
Borun ardışık ekstraksiyonu için her bir topraktan alınan 5 gr örnek ile analize başlanmış ve bütün bor fraksiyonları bu örneklerden ardışık olarak yürütülmüştür. Önce kolay çözünebilir bor (KÇ-B) fraksiyonunu belirlenmesi için, Hou ve ark. (1996), tarafından bildirildiği şekilde, 50 mL'lik polietilen santrifüj tüplerine alınan örnekler, 10 ml 0.01 M CaCl₂ çözeltisi ile 16 saat çalkalanmış ve daha sonra 10.000 rpm'de 30 dakika santrifüjlenerek elde edilen berrak kısım Whatman 42 süzgeç kağıdından süzölmüş ve B miktarı belirlemeye hazır hale getirilmiştir.

Santrifüj tüplerinde kalan örnek kısmı ile spesifik olarak adsorbe olmuş bor (SPA-B) fraksiyonunun belirlenmesi işlemine geçilmiştir. Bunun için, Hou ve ark. (1996), tarafından bildirildiği şekilde, santrifüj tüplerinin içinde kalan örneklerin üzerine 10 ml 0.05 M KH₂PO₄ çözeltisi ilave edilerek 1 saat çalkalanıp ve santrifüjlendikten sonra elde edilen berrak kısım Whatman 42 süzgeç kağıdından süzölmüş ve belirlemeye hazır hale getirilmiştir.

Tüplerde kalan toprak örneklerinin üzerine, oksitlere bağlı bor (OK-B) fraksiyonunun belirlenmesi için; Hou ve ark. (1996), tarafından bildirildiği şekilde, 20'şer ml

0.2 M asidik NH_4 -oksalat çözeltisi ilave edilerek 4 saat çalkalanmış ve yukarıda anlatılan santrifüjleme ve

süzme işlemleri yapılmıştır.



Şekil 1. Çalışma alanının coğrafi konumu ve örnekleme noktaları
Figure 1. Geographical location of the study area and sampling points

Organik bileşiklere bağlı bor (OB-B) fraksiyonunun belirlenmesi için, oksitlere bağlı bor fraksiyonunun belirlenmesi işleminden geriye kalan örneklerin üzerine Hou ve ark. (1996), tarafından bildirildiği şekilde, 3'er ml 0.02 M HNO_3 ve 5'er mL % 30'luk H_2O_2 çözeltisi ilave edilmiş, 85°C 'ye ayarlı sıcak su banyosunda 2 saat süreyle ve belirli aralıklarla çalkalanarak ısıtılmıştır. Daha sonra tekrar 3'er ml % 30'luk H_2O_2 çözeltisi ilave edilmiş ve 85°C 'ye ayarlı sıcak su banyosunda 3 saat süreyle tekrar ısıtılmıştır. Soğuduktan sonra üzerlerine 5'er ml 3.2 M amonyum asetat eklenmiş ve saf suyla 20 ml'ye seyreltilerek, 30

dakika çalkalandıktan sonra santrifüjlenerek, berrak kısım Whatman 42 süzgeç kâğıdından süzölmüş ve için hazır hale getirilmiştir.

Residüyal bor (RE-B) fraksiyonunun belirlenmesi için, bir önceki fraksiyondan kalan toprak örnekleri teflon beherlere alınmış ve Shuman (1985), tarafından bildirildiği şekilde, üzerlerine 1:4:5 oranında hazırlanan $\text{HNO}_3+\text{HF}+\text{HCl}$ çözeltisinden 5'er ml ilave edilmiştir. 140°C 'ye ayarlı hotplate üzerinde, hacimler 1-2 ml kalıncaya kadar ısıtılmış ve 5'er ml daha aynı ekstraksiyon çözeltisinden ilave edilerek işlem tekrarlanmıştır. Daha sonra üzerlerine 10'er ml AlCl_3

eklenerek 60°C'ye ayarlı su banyosunda 5 dakika ısıtılmıştır. Soğumaya bırakılan süspansiyonlar Whatman 42 süzgeç kâğıdından süzülerek 50 ml'lik polietilen balonjölere alınmış, hacimler 50 ml'ye tamamlanmış ve belirlemeye hazır hale getirilmiştir. Elde edilen ekstraktlardaki bor içeriği (Analitik Jena marka) grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrofotometresinde (AAS) belirlenmiştir.

Yine, beş farklı bor fraksiyonunun toplamı ise toplam bor (TO-B) olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, toprak özellikleri ile bor fraksiyonları arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla korelasyon analizleri yapılmıştır.

İstatistiksel Analizler

Topraklara ait bütün parametrelerin tanımlayıcı istatistik analizleri (ortalama, en düşük ve en yüksek değerler, standart hata, varyasyon katsayısı vb.) yapılmıştır. Ayrıca, toprakların bor fraksiyonları ile özellikleri arasındaki ilişki parametrik pearson yöntemi ile iki yönlü korelasyon analizleri ile elde edilen r^2 ve p değerlerine göre belirlenmiştir. Tüm istatistik analizler için Windows uyumlu SPSS 19 istatistik paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Toprakların Genel Özellikleri

Araştırma bölgesi toprakların temel özelliklerine ait analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Yapılan analizler sonucunda toprakların pH değerleri 7.71 (15

nolu örnek) ile 8.80 (17 nolu örnek) arasında belirlenmiş olup, toprakların % 94.7'si Anonim (2006)'ya göre hafif bazik topraklar sınıfında bulunmaktadır. EC değerleri 194 (11 nolu örnek) – 1580 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (16 nolu örnek) arasında değişmiştir. Toprakların kireç içerikleri % 4.90 (1 nolu örnek) ile % 26.05 (12 nolu örnek), arasında değişmekte olup, Anonim (2006)'ya göre % 63.2'si çok kireçli, % 31.6'sı ise orta kireçli topraklar sınıfında yer almaktadırlar. Toprakların kum içerikleri % 4.06 (4 nolu örnek)– 64.76 (1 nolu örnek), silt içerikleri % 11.97 (1 nolu örnek) ile % 47.98 (11 nolu örnek), kil içerikleri ise % 23.27 (1 nolu örnek) ile % 72.18 (6 nolu örnek) arasında değişmiştir. Yine araştırma konusu toprakların organik madde içerikleri % 1.44 (12 nolu örnek) ile % 5.87 (15 nolu örnek) arasında değişmiş olup, Anonim (2006)'ya göre sadece % 5'i yüksek sınıfta, diğer topraklar ise orta ve az sınıflarında yer almıştır.

Parametreler arasında en düşük varyasyon katsayısı (VK) pH değerlerinde (%3.2) olup, bunu silt (% 25.3) ve kil (% 25.4) değerleri izlemiştir. En yüksek varyasyon katsayısı ise EC (% 65.6) ve kum (% 62.2) değerlerinde belirlenmiştir (Çizelge 2). Genellikle VK değerleri % 10'dan düşük ise değişkenlikleri düşük, %10-100 arasında ise orta, % 100'den büyük ise yüksek olarak tanımlanmaktadır (Zhou ve ark. 2011). Buna göre, pH değerleri düşük, diğer parametreler ise orta düzeyde değişkenliğe sahiptir. Düşük varyasyon katsayısı (VK) değerleri toprak parametrelerinin homojen dağıldığını belirtirken, orta VK değerleri ise bu parametrelerin biraz daha heterojen dağıldığını göstermektedir.

Çizelge 1. Araştırma alanı topraklarının temel özellikleri
Table 1. Main properties of the research area soils

	Kireç %	pH	Organik madde (%)	EC $\mu\text{S cm}^{-1}$	Kum %	Silt %	Kil %
En düşük	4.90	7.71	1.44	194	4.06	11.97	23.27
En yüksek	26.05	8.80	5.87	1580	64.76	47.98	72.18
Ortalama	15.67	8.14	2.44	598	21.78	32.61	45.60
SH	5.41	0.26	1.00	392.2	13.55	8.26	11.59
VK	34.5	3.2	41.0	65.6	62.2	25.3	25.4

SH: Standart hata, VK: Varyasyon katsayısı (%)

Toprakların Bor Fraksiyonları

Ardışık ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen bor fraksiyon içerikleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Kolay Çözünabilir Bor (KÇ-B)

Kolay çözünabilir bor fraksiyonunun büyük bir kısmı toprak çözeltisinde bulunmakta, diğer bir kısmı ise toprak kolloidleri tarafından zayıf bir şekilde tutulmaktadır. Bu bor fraksiyonu aynı zamanda bitkiler tarafından kolaylıkla yararlanılabilen bor fraksiyonu olarak değerlendirilmektedir (Hou ve ark., 1994).

Kolay çözünabilir bor içeriği toplam bor içeriğinin % 3.72'sini oluşturmuştur. Saltalı ve Akın (2011) tarafından Tokat Kazova topraklarında yapılan bir çalışmada bu değer % 12.6, Uzun (2017) tarafından %

0.96, Gürel ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada ise ortalama % 0.45 olarak belirlenmiştir.

Topraklarda, çoğunlukla toprak çözeltisinde bulunan veya toprak kolloidleri tarafından zayıf olarak adsorbe edilen ve aynı zamanda bitkilerin çok kolay yararlanabildikleri bor fraksiyonu olan, kolay çözünabilir bor içeriği 0.74 (10 nolu örnek) ile 7.69 mg kg^{-1} (6 nolu örnek) arasında belirlenmiştir (Çizelge 3). Taban ve ark. (1997) tarafından Orta Anadolu Çeltik topraklarında yapılan bir çalışmada kolay çözünabilir (bitkiye yararlı) bor içeriklerinin 1.36-6.25 mg kg^{-1} , Harmankaya ve Gezin (2005) tarafından Konya ovası topraklarında bu konuda yapılan bir çalışmada, kolay çözünabilir bor içeriklerinin 0.09 ile 31.33 mg kg^{-1} , Uzun (2017) tarafından Gaziantep topraklarında yapılan diğer bir çalışmada 0.17 ile 0.58 mg kg^{-1} , Gürel

Çizelge 3. Toprakların bor fraksiyonları ile bazı özellikleri arasındaki korelasyon katsayıları
Table 3. Correlation coefficients between boron fractions and some properties of soils

	KÇ-B	SPA-B	OK-B	OB-B	RE-B	TO-B	Kireç	pH	EC	Kum	Silt	Kil
SPA-B	0.002											
OK-B	0.013	-0.399										
OB-B	0.199	0.165	0.184									
RE-B	-0.025	-0.214	0.258	0.330								
TO-B	-0.105	0.167	0.117	0.328	0.903**							
Kireç	0.344	0.060	-0.325	-0.195	-0.119	-0.144						
pH	0.165	0.078	-0.065	-0.006	0.042	-0.043	0.043					
EC	0.067	0.676**	-0.236	0.136	-0.155	0.096	0.318	-0.119				
Kum	-0.214	-0.178	0.385	0.101	0.062	-0.020	-0.403	0.083	-0.184			
Silt	-0.193	0.097	-0.445	0.013	0.086	0.092	0.499*	-0.046	0.167	-0.525*		
Kil	0.387	0.139	-0.133	-0.127	-0.134	-0.043	0.115	-0.064	0.096	-0.795**	-0.100	
OM	0.063	-0.175	0.236	0.352	-0.065	-0.132	-0.408	-0.564*	0.134	0.299	-0.288	-0.145

*: Korelasyon % 5 düzeyinde önemli, **: Korelasyon % 1 düzeyinde önemli

Oksitlere bağlı bor içeriklerinin toplam bor içeriğine oranı ise % 1.33 olarak hesaplanmıştır. Hou ve ark. (1994)'e göre bu bor fraksiyonu toplam fraksiyonunun % 3'ünden daha az bir kısmını oluşturmaktadır. Saltalı ve Akın (2011) tarafından Tokat Kazova topraklarında yapılan çalışmada bu değer % 11.81, Kumari ve ark. (2017) tarafından ise % 2.4 olarak saptanmıştır.

Organik Bileşiklere Bağlı Bor (OB-B)

Organik madde, borun adsorpsiyon ve desorpsiyonunda önemli rol oynamaktadır. Toprakta organik madde, mineral bileşenlerden daha fazla ve bitkilerin alamayacağı formda bor adsorbe etmektedir (Padbushan ve Kumar, 2017; Sidhu ve ark., 2018).

Toprakların organik bileşiklere bağlı bor içeriklerinin 0.43 (12 nolu örnek) – 5.46 mg kg⁻¹ (3 nolu örnek) arasında değiştiği ve ortalama değer 3.36 mg kg⁻¹ olduğu belirlenmiştir. Sidhu ve ark. (2018) tarafından kireçli topraklarda yapılan bir çalışmada organik bileşiklere bağlı bor içerikleri 1.15 ile 1.59 mgkg⁻¹ arasında değişmiştir. Yine Kumari ve ark. (2017) ise Hindistan'daki bazı tarım kültürü altında bulunan topraklarda bu değerleri 0.32 ile 2.34 mg kg⁻¹ arasında belirlemişlerdir.

Çalışma alanı topraklarının oksitlere bağlı bor içeriklerinin toplam bor içeriğine oranı ise % 4.65 olarak belirlenmiştir. Saltalı ve Akın (2011) tarafından Tokat Kazova topraklarında yapılan çalışmada ise bu değer % 3.23, Kumari ve ark. (2017) tarafından ise % 4.5 olarak saptanmıştır.

Resüdiyal Bor (RE-B)

Resüdiyal bor bitkiler tarafından alınmaz formda olan bor fraksiyonudur. Resüdiyal bor topraklarda

birincil ve ikincil minerallerin kristal yapısında bulunan bor olup, mineral tabakaları arasında sıkı bir şekilde tutulmaktadır. Bu nedenle de bitkiler tarafından alınmamaktadır. Topraklarda borun tutulmasını etkileyen ana faktörlerden biri tabakalı silikat kil mineralleridir. Genel olarak resüdiyal bor fraksiyonu toplam bor fraksiyonunun % 87.4 ile % 99.7'sini oluşturmaktadır (Goldberg, 1997; Padbushan ve Kumar, 2017). Raza ve ark. (2002) de toplam bor fraksiyonu içerisindeki en yüksek kısmının resüdiyal bor (% 97) olduğu belirlenmiştir.

Araştırma konusu toprakların resüdiyal bor içeriklerinin 3.87 (2 nolu örnek) – 247.48 mg kg⁻¹ (10 nolu örnek) arasında değiştiği ve ortalama değer 59.95 mg kg⁻¹ olduğu belirlenmiştir. Resüdiyal bor fraksiyonu, toplam bor fraksiyonunun en büyük kısmını oluşturmuştur. Birçok araştırmacı (Hou ve ark., 1994; Xu ve ark., 2001; Data ve ark., 2002; Raza ve ark., 2002) da bu konuda benzer sonuçlar elde etmiştir. Kumari ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada toprakların resüdiyal bor içerikleri 1.95 ile 25.7 mg kg⁻¹ arasında belirlenmiştir. Toprakların resüdiyal bor konsantrasyonları onların tane irilik dağılımlarına (bünyelerine) göre değişmektedir (Kumari ve ark., 2017)

Araştırma konusu topraklarda oksitlere bağlı bor içeriklerinin toplam bor içeriğine oranı ise % 82.34 olarak belirlenmiştir. Saltalı ve Akın (2011) tarafından Tokat Kazova topraklarında yapılan çalışmada ise bu değer % 67.28 olarak saptanmıştır.

Toplam Bor (TO-B)

Çalışma alanı toprakların toplam bor içerikleri 9.41 mg kg⁻¹ (2 nolu örnek) ile 255.22 mg kg⁻¹ (10 nolu örnek) arasında değişmiştir. Saltalı ve Akın (2011) tarafından Tokat Kazova topraklarında yapılan bir

çalışmada toplam bor içerikleri 6.68-50.32 mg kg⁻¹, Uzun (2017) tarafından Gaziantep ilinde antepfıstığı yetiştirilen topraklarda ise 20.81-46.28 mg kg⁻¹ arasında değişirken, Harmankaya ve Gezgin (2002) bu değerleri Konya Ovası topraklarında 41.4 ile 398.7 mg kg⁻¹ arasında belirlemiştir. Yine, Raza ve ark. (2002) tarafından Kanada'da yapılan bir çalışmada toprakların toplam bor konsantrasyonlarının 78.5-138.1 mg kg⁻¹, Datta ve ark. (2002) ise Hindistan'da yaptıkları çalışmada toplam bor içeriklerini 31-355 mg kg⁻¹ arasında değiştiği belirlemişlerdir. Toprakların toplam bor içerikleri arasındaki bu farklılık büyük olasılıkla toprakların ana materyal içeriklerinin ve bu ana materyallerin ayrışma derecelerinin farklı olmasından kaynaklanmıştır. Çünkü toprakların toplam bor içerikleri anılan bu faktörlere göre değişmektedir (Padbhushan ve Kumar, 20017).

Araştırma konusu toprakların bor fraksiyonları arasında en yüksek içeriğe resüdiyal bor fraksiyonu sahiptir. Bunu sırasıyla spesifik olarak adsorbe olmuş bor, organik bileşiklere bağlı bor, kolay çözünebilir bor ve oksitlere bağlı bor izlemektedir. Kumari ve ark. (2017) topraklardaki toplam bor içerisindeki en yüksek oranı resüdiyal fraksiyonun oluşturduğunu ve bun sırasıyla organik bağlı bor, oksitlere bağlı bor, spesifik olarak adsorbe edilmiş bor ve kolay çözünebilir borun takip ettiğini belirlemişlerdir.

Bor Fraksiyonları ile Toprak Özellikleri Arasındaki İlişkiler

Toprakların farklı bor fraksiyonları ile özellikleri arasındaki ilişkiler Çizelge 3'de verilmiştir. Toprakların EC değerleri ile spesifik adsorbe edilmiş bor (SPA-B) değerleri arasında istatistiksel açıdan %1 düzeyinde önemli pozitif ilişki saptanmıştır. Bu durum büyük olasılıkla, EC'si yüksek olan toprakların tuz içeriklerinin yüksek olmasından kaynaklanmıştır. Zira tuzlu topraklarda bor içeriğinin yüksek olduğu bilinmektedir. Harmankaya ve Gezgin (2005) tarafından da bu konu ile ilgili benzer sonuçlar bulunmuştur.

Toprakların toplam bor içeriği ile resüdiyal bor içeriği içeriği arasında istatistiksel açıdan önemli ilişki belirlenmiştir (p>0.01). Saltalı ve Akın (2011) ve Kumari ve ark. (2017) de bu konuda benzer sonuçlar bulmuştur.

Toprakların kum içeriği ile silt ve kil içerikleri arasında 0.01 düzeyde önemli negatif ve kireç içeriği ile silt içeriği arasında 0.05 düzeyinde pozitif ilişkiler belirlenmiştir.

Yine toprakların organik madde içerikleri ile organik bileşiklere bağlı bor fraksiyonu arasında önemli bir pozitif ilişki (korelasyon katsayısı: 0.352) olmasına rağmen, bu ilişki istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Bu konuda daha önce yapılan çalışmalarda (Datta ve ark., 2002; Chaudhary ve

Shulka, 2004; Padbhushan ve Kumar, 2015; Kumari ve ark., 2017) toprakların organik bileşiklere bağlı bor fraksiyonu ile organik madde içeriği arasında istatistiksel açıdan önemli ilişkiler belirlenmiştir. Diğer yandan Rıza ve ark. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada ise bu değişkenler arasında önemli bir ilişki belirlenmemiştir. Yine bu çalışmada olduğu gibi, Mengel and Kirkby (2001) ve Harmankaya ve Gezgin (2002) tarafından yapılan çalışmalarda da torakların kum, silt, kil ve organik madde içerikleri ile yayırlı bor içeriği arasında istatistiksel anlamda önemli bir ilişki bulunamamıştır.

SONUÇ

Çalışma alanındaki toprakların ortalama kireç içerikleri % 15.67 olup, orta kireçli sınıfta yer almıştır. Yine toprakların tuz içeriklerinin bir ölçüsü olan EC değerlerinin düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle topraklar tuzsuz sınıfa girmektedir. Toprakların ortalama pH değerleri 8.14 olup orta bazik reaksiyona sahiptirler. Toprakların organik madde içerikleri ise % 1.44 ile 5.87 arasında değişmekte olup, çoğunluğunda % 2'nin üzerindedir.

Araştırma alanı topraklarında ardışık olarak ekstrakte edilen bor fraksiyonlarından kolay çözünebilir bor (KÇ-B) toplam bor içeriğinin % 3.72'sini, spesifik olarak adsorbe olmuş bor (SPA-B) %8.14'ünü, oksitlere bağlı bor (OK-B) fraksiyonunun %1.33'ünü, organik bileşiklere bağlı bor (OB-B) 4.65'ini, resüdiyal bor (RE-B) ise % 82.34'ünü oluşturmuştur. Bu sonuçlardan da görüldüğü gibi; toprakların bor içeriklerinin en büyük kısmını resüdiyal bor oluşturmaktadır. Bunu sırasıyla spesifik olarak adsorbe olmuş bor, organik bileşiklere bağlı bor, kolay çözünebilir bor ve oksitlere bağlı bor izlemektedir.

Resüdiyal bor fraksiyonu toprakların toplam bor içeriğinin ortalama 82.34'ü gibi çok büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Ancak toprakların büyük bir çoğunluğunda bitkilerce alınabilir formlardaki bor içeriklerinin yeterli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, toprakların bor fraksiyonlarının belirlenmesi ile tarım ve çevre açısından borun durumu, borun yönetimi ile bitki besleme açısından kullanıcılara ve araştırmacılara bor ile ilgili önemli veriler sunulmuştur.

TEŞEKKÜR

Bu makale; Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 18.YL.065 nolu proje ile desteklenen, Tuğba AVCI'nın Yüksek Lisans Tezinden 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

- Adriano DC 1986. Trace Elements in the Terrestrial Environment. Springer-Verlag, New York, 73-79.
- Saltalı K, Akın A 2011. Tokat Kazova Topraklarında Borun Kimyasal Fraksiyonları ve Bu Fraksiyonlar ile Toprak Özellikleri Arasındaki İlişkiler. Ege Üni. Zir. Fak. Dergisi. Özel Sayı: 379-385.
- Alkan, A 1994 Orta Anadolu ve GAP Bölgelerinde Yetiştirilen Değişik Arpa ve Buğday Genotiplerinin Bor Beslenme Statüsünün Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. 127 sayfa.
- Allison LE, Moode CD 1965. Carbonate.(ed: C.A. Black) Methods of Soil Analysis. Part 2. Agronomyseries. No. 9, ASA. 1379-1396, Wisconsin.
- Anonim, 2006. Türkiye Gübre ve Gübreleme Rehberi. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Genel Yayın No: 231, Teknik Yayınlar No: T.69. Ankara. 424 sy.
- Anonim 2021. Hatay İli İklim Verileri. <https://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?k=> (Alınma tarihi 15.05.2021).
- Arora S, Chahal DS 2014. Forms of Boron in Alkaline Alluvial Soils in Relation to Soil Properties and Their Contribution to Available and Total Boron Pool. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 45: 2247-2257.
- Chaudhary DR, Shukla LM 2004. Boron Forms and Their Relationships with Characteristics of Arid Soils of Western Rajasthan. Journal of the Indian Society of Soil Science 52 (29): 197-199.
- Datta SP, Rattan RK, Suribabu K, Data SC 2002. Fractionation and Colorimetric Determination of Boron in Soils. J. Plant Nutr. Soil Science 165: 179-184.
- Demir G, Erdal İ 2016. Antalya Yöresinde Domates Yetiştirilen Seralarda Bor Düzeylerinin Bazı Toprak, Yaprak ve Meyve Analiz Sonuçlarıyla Değerlendirilmesi. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi 4(2): 42-48.
- Güneş A, Alpaslan, İnal A 2000. Bitki Besleme ve Gübreleme. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1514, 461-487 s, Ankara.
- Goldberg S 1997. Reaction of Boron with Soils. Plant and Soil 193: 35-48.
- Gupta UC 1968. Relationship of Total and Hot-Water Soluble Boron, and Fixation of Added Boron, to Properties of Podzol Soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 32: 45-48.
- Gürel S, Başar H, Keskin E, Dirim MS 2019. The Determination of Soil Boron Fractions, Their Relationships to Soil Properties and The Availability to Olive (*Olea europea* L.) Trees. Communications in Soil Science and Plant Analysis 50 (8): 1044-1062.
- Harmankaya M, Gezgin S 2005. Konya Ovası Topraklarında Bor Fraksiyonlarının Belirlenmesi. S.Ü. Ziraat Fak. Dergisi 19 (36): 93-105.
- Hou J, Evans LJ, Spiers GA 1994. Boron Fractionation in Soils. Comm. Soil Sci. Plant Anal. 25: 1841-1853.
- Jin JY, Martens DC, Zelazny LW 1988. Plant Availability of Applied and Native Boron in Soils with Diverse Properties. Plant and Soil. 105: 127-132.
- Kacar B. Katkat AV 1998. Bitki Besleme. Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayınları, 595 sy.
- Keren R Gast RG 1983. pH Dependent Boron Adsorption by Monmorillonite Hydroxy-Aluminum Complexes. Soil Sci. Soc. Am. J. 47: 1116-1120.
- Kumari K, Nazir G, Singh A, Kumar P 2017. Studies on Boron Fracitons with Different Physico-Chemical Propertes of Cultivated Soils of Himachal Pradeesh. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 6(6): 15477-1555.
- Lucho-Constantino CA, Prieto-Garcia F, Del Razo LM, Rodriguez-Vazquez R, Poggi-Varaldo HM 2005. Chemical Fractionation of Boron and Heavy Metals in Soils Irrigated with Wastewater in Central Mexico. Agriculture, Ecosystems and Environment 108: 57-71
- Marschner H 1986. Mineral Nutrition of Higher Plants, Academic Press, London. G.B.
- Mengel K, Kirkby EA 2001. Boron. In: Principles of Plant Nutrition. 5th Edition, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht/Boston/ London, Netherlands 621-638 sy.
- Padbhushan R, Kumar D 2015. Soil Boron Fractions and Response of Green Gram in Calcareous Soils. Journal of Plant Nutrition 38: 1143-1157.
- Padbhushan R, Kumar D, 2017. Fractions of Soil Boron: A Revive. Journal of Agricultural Science 155: 1023-1032.
- Padbhushan R, Mandal J, Kumar S, Kumar A 2019. Chemical Fractions and Response of Cauliflower (*Brassica Oleracea* Var. *Botrytis*) to Soil Applied Boron. Journal of Plant Nutrition. 42 (5): 491-500.
- Raza M, Mermut AR, Schoenau JJ, Malhi SS 2002. Boron Fractions in Some Saskatchewan Soils. Can. J. Soil Sci. 82: 173-179.
- Richards LA 1954. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali soils. US Dep Agri. Handbook 60:147.
- Saltalı K, Bilgili AV. Durak A 2005. Boron Adsorption in Soils with Different Characteristics. Journal of Asian Chemistry 17 (4): 2487-2494.

- Schlichting M, Blume E 1966. *Bodenkundliches Prakticum*. Paul Parey Verlag, Hamburg und Berlin.
- Shuman LM 1986. Fractionation Method for Microelements. *Soil Sci.* 140: 11-22.
- Sidhu GS, Kumar D 2018. Influence of Soil Boron on Yield of Berseem (*Trifolium alexandrium* L.) and Soil Boron Fractions in Calcareous Soils. *Journal of Plant Nutrition* 41 (8): 980-995.
- Taban S, Alpaslan M, Hashemi A, Eken D 1997. Orta Anadolu'da Çeltik Tarımı Yapılan Toprakların Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri. *Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Mühendislik Bilimleri Dergisi* 3(3): 457-466.
- Tessier A, Campbell PGC, Bisson M 1979. Sequential Extraction Procedure for The Speciation of Particulate Trace Metals. *Anal. Chem.* 51: 844-851.
- Tsadilas CD, Yassoglou N, Kosma, CS, Kallianou CH 1994. The Availability of Soil Boron Fractions to Olive Trees and Barley and Their Relationships to Soil Properties. *Plant and Soil* 162: 211-217.
- Uzun E 2017. Gaziantep İlinde Antepfıstığı Yetiştirilen Alanlardan Alınan Topraklarda Borun Kimyasal Fraksiyonlarının Belirlenmesi. *KSÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, 24 sayfa.
- Wójcik P 2000. Availability of Soil Boron Fractions to M.26 Apple Rootstock. *Journal of Plant Nutrition* 23 (7): 1025-1035.
- Xu JM, Wang K, Bell RW, Yang YA, Huang LB 2001. Soil Boron Fractions and Their Relationship to Soil Properties. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65: 133-138.

Bazı Baklagil Ağaç Yapraklarının Alternatif Yem Kaynağı Olarak Besin Madde İçerikleri ve Sindirilebilirliklerinin Belirlenmesi

Mustafa BOĞA¹, Barış Cem AVCI², Hatice Nur KILIÇ³, Ayşe Gül FILİK⁴

¹Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bor Meslek Yüksekokulu, Niğde ²Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Hayvansal Üretim ve Teknolojileri Bölümü ³Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Ulukışla Meslek Yüksekokulu, Niğde ⁴Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Kırşehir

¹<https://orcid.org/0000-0002-2845-4528>, ²<https://orcid.org/0000-0002-8895-2959>, ³<https://orcid.org/0000-0001-9131-4010>

⁴<https://orcid.org/0000-0001-7498-328X>

✉: haticenurkili@ohu.edu.tr

ÖZET

Çalışmada, Niğde-Bor yolunda ve Niğde Ömer Halisdemir (OHU) Üniversitesi kampüs içerisinde bulunan farklı baklagil (*Fabaceae*) ağaçlarından (*Leucaena leucocephala*, *Robinia pseudoacacia*, *Colutea arborescens*, *Cercis siliquastrum*, *Wisteria sinensis*) toplanan yaprakların besin madde içerikleri ve *in vitro* sindirilebilirliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada kullanılan yem materyallerinde kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham selüloz (HS) ve ham kül (HK) analizleri ile asit çözücülerde çözünmeyen lifli madde (ADF), nötr çözücülerde çözünmeyen lifli madde (NDF) ve nitrojensiz öz madde (NÖM) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin *in vitro* gaz ve metan gazı üretim miktarları, metabolik enerji (ME), net enerji laktasyon (NEL) ve *in vitro* organik madde sindirim derecesi (IVOMSD) değerlerinin saptanması amacıyla mezbahane yeni kesilen koçlardan elde edilen rumen sıvısı kullanılmıştır. Farklı dönemlerde toplanan yapraklar ve türler arasındaki farklılık HS dışı tüm (KM, HK, HP, NDF, ADF ve ADL) değerler için istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). Baklagil yapraklarının birinci hasatında HP değerleri ikinci hasata göre sayısal olarak daha fazla çıkmıştır. İstatistik analizinde birinci dönemde hasat edilen *Robinia pseudoacacia* (RP) HP değerinin (%18.16) en fazla olduğu bulunmuştur. Ağaç yapraklarının KM içerikleri %86.34-93.04 arasında, HK içerikleri %5.79-18.49 arasında, HP içerikleri %9.43-18.16 arasında, HY içerikleri %4.98-8.14 arasında NDF içerikleri %21.18-37.75 arasında değişmiştir. GÜ(Gaz üretimi):21.50-36.75, ME:6.63-8.85 MJ kg⁻¹ KM, NEL:2.11-4.67, MJ kg⁻¹ KM OMS: %33.13-56.65, Metan:%11.75-14.75 arasında bulunmuştur. Gaz üretimi, ME, NEL ve OMS değerleri, birinci dönemde toplanan *Gleditsia triacanthos L* türünde daha fazla elde edilmiştir (sırasıyla 36.75, 8.85, 4.67 ve 56.65). Metan üretiminin birinci dönemde *Robinia pseudoacacia* tür ağaç yapraklarında daha fazla olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, besin madde içerikleri ve gaz üretim değerleri bakımından baklagil ağaç yapraklarının ruminant hayvan beslemede kullanılabileceği belirtilebilir.

Zootekni

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 10.09.2021

Kabul Tarihi : 29.10.2021

Anahtar Kelimeler

Baklagil ağacı

Ağaç yaprağı

In vitro gaz üretim

Yem kaynağı

Determination of Nutrient Content and Digestibility of Some Leguminous Tree Leaves as Alternative Feed Sources

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the nutrient content and *in vitro* digestibility of the leaves collected from different legume (*Fabaceae*) trees (*Leucaena leucocephala*, *Robinia pseudoacacia*, *Colutea arborescens*, *Cercis siliquastrum*, *Wisteria sinensis*) on the Niğde-Bor road and in the campus of Niğde Ömer Halisdemir (OHU) University. Dry matter (KM), crude protein (HP), crude oil (HY), crude cellulose (HS) and crude ash (HK) analyzes in the feed

Animal Science

Research Article

Article History

Received : 10.09.2021

Accepted : 29.10.2021

materials used in the research, fibrous material insoluble in acid solvents (ADF), fibrous material insoluble in neutral solvents (NDF) and nitrogen-free core (NPM) values were determined. In order to determine *the in vitro* gas and methane gas production amounts, metabolic energy (ME), net energy lactation (NEL) and *in vitro* organic matter digestion degree (IVOMSD) values of the samples, rumen fluid obtained from newly slaughtered rams in the slaughterhouse was used. The difference between leaves and species collected at different periods was found to be statistically significant ($P<0.05$) for all non-HS values (KM, HK, HP, NDF, ADF and ADL). HP values in the first harvest of legume leaves were numerically higher than in the second harvest. In the statistical analysis, it was found that the HP value (18.16%) of *Robinia pseudoacacia* (RP) harvested in the first period was the highest. The KM contents of tree leaves varied between 86.34% and 93.04%, HK contents between 5.79% and 18.49%, HP contents between 9.43-18.16%, HY contents between 4.98-8.14% and NDF contents between 21.18% and 37.75%. GU (Gas production): 21.50-36.75, ME: 6.63-8.85 MJ kg⁻¹ KM, NEL: 2.11-4.67, MJ kg⁻¹ KM OMS: 33.13-56.65%, Methane: 11.75-14.75% was found among. Gas production, ME, NEL and OMS values were higher in *Gleditsia triacanthos L* species collected in the first period (36.75, 8.85, 4.67 and 56.65, respectively). It was determined that methane production was higher in *Robinia pseudoacacia* species tree leaves in the first period. As a result, it can be stated that legume tree leaves can be used in ruminant animal nutrition in terms of nutrient content and gas production values.

Keywords

Legume tree
Tree leaf
In vitro gaz production
Forage source

- Atıf Şekli:** Boğa M, Avcı B.C, Kılıç H.N, Filik A.G 2022. Bazı Baklagil Ağaç Yapraklarının Alternatif Yem Kaynağı Olarak Besin Madde İçerikleri ve Sindirilebilirliklerinin Belirlenmesi . KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (5): 1191-1197. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.993655>
- To Cite :** Boğa M, Avcı B.C, Kılıç H.N, Filik A.G 2022. Determination of Nutrient Content and Digestibility of Some Leguminous Tree Leaves as Alternative Feed Sources. KSU J. Agric Nat 25 (5): 1191-1197. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.993655>

GİRİŞ

Çayır-mera alanları hayvancılıkta yem giderlerinde kaba yem kaynaklarının önemli bir kısmını teşkil etmektedir. Ancak çayır-mera alanlarının gün geçtikçe azalması amenajman yönetiminin düzgün bir şekilde yapılmadığını göstermektedir. Değişen iklim koşulları, kullanılan tarım alanlarının azalması ve nüfus popülasyonunun artması ile tarımsal üretim tam olarak ihtiyacı karşılayamamaktadır (Açıkgöz ve ark., 2005). Tarımsal üretimi artırmak amacıyla yapılan hayvancılıkta da yem fiyatlarında artış gözlemlenmekte böylece alternatif yem kaynaklarına yönelim olmaktadır. Bu alternatif yem kaynaklarından biri olan baklagil (fabaceae) ağaç yapraklarının hayvan besleme açısından kullanılabilmesi göz ardı edilmemelidir. Ağaç yapraklarının yem olarak kullanımı bitki-hayvan-toprak ekosistemini dengelemeye yardımcı olan karmaşık etkileşimlerin bir parçasını oluşturmaktadır. Aynı zamanda ağaç yaprakları ücretsiz sürdürülebilir bir yem kaynağı olarak besleyici öneme de sahiptir (Devendra, 1994). Ağaç yaprakları geniş getiren hayvanlar için önemli selülozik biyokütle kaynağıdır. Ayrıca önemli bir protein kaynağı olarak kullanılan ağaç yaprakları,

yüksek proteinli yem kaynaklarının kısıtlı olduğu durumlarda veya saman gibi düşük proteinli kaba yemlerin kullanıldığı rasyonlarda da kullanılabilir (Norton, 1994; Devendra, 1994).

Baklagil ağaçları daha çok peyzaj açısından çevre düzenlemelerinde yaygın olarak kullanılabilir. Baklagil ağaçları kereste olarak satılabilmenin yanında, bu ağaçların bakım ve hasatlarının zahmetli olmaması meyve veya kabuklarının ruminant hayvan beslemede konsantre yem olarak kullanılmasına imkan vermektedir (Devendra, 1994).

Hayvansal üretim, özellikle ekilebilir tarım alanlarının az olması, kurak veya yarı kurak iklimler, yetersiz yağışlar yem miktarları ve yem kalitesinin düşük olmasına neden olduğu için hayvan besleme konusunda problemlere neden olmaktadır. Bu problemler yem endüstrisinde rekabeti artırmakta böylece alternatif yem arayışına neden olmaktadır. Bazı ağaç yapraklarının alternatif yem kaynağı olarak kullanılabilmesi birçok çalışmada bildirilmiştir. Ağaç yapraklarında bitki anti-besleyici faktörleri olan lektinler, tanenler, saponinler ve mimosin ısıya dayanıksızdır ayrıca ruminat hayvanların rumeninde anti-besleyici faktörlerin etkinin azaldığı bildirilmiştir (Aganga ve

Tshwenyane, 2007).

Ağaç yapraklardaki tanin içeriğinin yüksek olması enzim ve yemdeki proteine olan kuvvetli affinite yaprak türüne göre değişmekte olduğu için, kullanım oranını da değiştirmektedir. Bu potansiyel değişiklik dikkate alındığında bu tür yemler ruminantlarda yetersiz beslemeye sebebiyet vereceğinden ve bu yemlerin anti-besinsel içeriği hakkında yeterli bilginin olmamasından dolayı kullanım sınırlı olmaktadır (Leng, 1997; Başer ve Kamalak, 2020).

Türkiye’de yetişen baklagil ağaç yapraklarının anti-metajonik özellikleri henüz bilinmemekte ancak küresel olarak baklagil ağaçlarının ruminant hayvanlarda kullanımının metan emisyonunu azalttığı bilinmektedir (Speedy ve Pugliese, 1992; Frutos ve ark., 2002; Castro-Montoya ve Dickhoefer, 2020). Metan(CH₄), rasyonda bürüt enerji kaybına önemli derecede neden olmaktadır, dolayısıyla enterik CH₄ üretiminin azaltılması ile enerjinin %2-12 enterik metan üretiminde kullanılmadığı için yemden yararlanma oranını artırabileceği düşünülerek alternatif yem olan baklagil ağaç yapraklarının yem içeriği belirlenerek rasyonda kullanılması gerekir (Beauchemin ve ark., 2009; Tan ve ark., 2011; Başer ve Kamalak, 2020).

Rasyonda kullanılacak yem hammaddesinin besin madde kompozisyonu, enerji değeri ve sindirilme derecesini bilmek çok önemlidir (Başer ve Kamalak, 2020). Küresel olarak yetiştirilen, park ve bahçelerde süs amaçlı kullanılan baklagillerin protein ve enerji bakımından zengin olmasından dolayı ruminant hayvanların rasyonlarında kullanılacağı bildirilmektedir (Rubanza ve ark., 2007; Canbolat, 2012; Pal ve ark., 2015).

Bu amaçla, ruminant hayvanların rasyonlarına katılan bazı baklagil ağaç yapraklarının besin madde içerikleri belirlenerek, sindirilebilirliğe ve metan üretimine etkisini incelemek için mevcut çalışma planlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Örnekleme Yöntemi

Örneklerin *in vitro* gaz ve metan gazı üretim miktarları, metabolik enerji (ME), net enerji laktasyon (NEL) ve *in vitro* organik madde sindirim derecesi (IVOMSD) değerlerinin saptanması amacıyla mezbahaneden yeni kesilen 3 baş 2 yaşlı koçtan elde edilen rumen sıvısı kullanılmıştır. Bu kesilen denek hayvanların rasyonunda ise %60 kuru yonca otu ve %40 kesif yem kullanılmıştır.

Laboratuvar analizleri

Araştırmada kullanılan baklagil ağaç (fabaceae) yaprakları Niğde-Bor yolunda ve Niğde Ömer Halidemir Üniversite kampüsü içerisinde bulunan

Leucaeno leucacephala (kurşun), *Robinia pseudoacacia* (yalancı akasya), *Colutea arborescens* (yalancı sinemaki), *Cercis siliquastrum* (erguvan) ve *Wisteria sinensis* (Çin morsalkımı) ağaçlarından elle toplanmış ve besin madde kompozisyonlarının belirlenmesi için *in vitro* sindirilebilirlikleri incelenmiştir. Alınan örneklerin türünü temsil etmesi için taze yapraklar (3 kg) her tür için beş farklı ağaçtan toplanmıştır. Araştırmada kullanılan yem materyallerinde kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham selüloz (HS) ve ham kül (HK) analizleri ile asit çözücülerde çözünmeyen lifli madde (ADF) ve nötr çözücülerde çözünmeyen lifli madde (NDF) analizleri Van Soest (1991)’in bildirildiği gibi; nitrojensiz öz maddeler (NÖM) değerleri ise hesaplama yoluyla belirlenmiştir.

Kuru yem örnekleri 1 mm elek çapına sahip değirmende öğütülerek analizlerde kullanılmıştır. Ham kül (HK) içeriğini saptamak amacıyla örnekler 550°C’de 4 saat kül fırınında yakılmıştır. Azot (N) içeriğinin saptanmasında Kjeldahl (1883) metodundan yararlanılmıştır. Ham protein (HP) ise N×6.25 formülü ile hesaplanmıştır (AOAC, 1990). Ham yağ (HY) analizi analizi ANKOM XT15 yağ ekstraksiyon cihazı (ANKOM Teknoloji, NY, ABD) kullanılarak Kutlu (2008)’nun bildirdiği şekilde yapılmıştır. Yemlerin hücre duvarı bileşenlerini oluşturan nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF) ve asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF) içerikleri ise Van Soest ve ark. (1991) tarafından bildirilen yöntemlere göre ANKOM 200 Fiber Analizör (ANKOM Teknoloji, NY, ABD) cihazı ile saptanmıştır. Hemiselüloz, NDF değerlerinden ADF değerlerini çıkararak hesaplanmıştır.

Örneklerin *in vitro* gaz ve metan üretim miktarları, metabolik enerji (ME), net enerji laktasyon (NEL) ve sindirilebilir organik madde (SOM) değerlerinin saptanmasında 100 mL hacimli özel cam şırıngalara (Model Fortuna, Häberle Labortechnik, Lonsee-Ettlenschieß, Germany) üç paralel olarak, 0.200±0.005 g, kurutulmuş yem örnekleri konulmuş ve daha sonra üzerine Menke ve ark. (1979) tarafından bildirilen yönteme göre hazırlanan 30 mL rumen sıvısı/tampon çözeltisinden ilave edilmiştir. Bu amaçla, kuru yonca otu (%60) ve kesif yem (%40) tüketen rumen fistüllü koç rumen inokulant donörü olarak kullanılmıştır. Bu işlemden sonra tüpler 39°C’deki su banyosunda inkübasyona alınmış ve sırasıyla inkübasyon başı (0) ve 24. saatlerde oluşan gaz miktarları tespit edilmiştir. Üretilen toplam gazın metan içeriği Goel ve ark. (2008)’in bildirdiği yönteme göre infrared metan analizörü (Sensor Europe GmbH, Erkrath, Germany) kullanılarak tespit edilmiştir. *In vitro* gaz üretim tekniğiyle ME (Metabolik Enerji) ve NEL (Net Enerji Laktasyon) ve OMS (Organik Madde Sindirilebilirliği) değerlerini belirlemek amacıyla farklı baklagil ağaçlarından

(*Leucaena leucocephala*, *Robinia pseudoacacia*, *Colutea arborescens*, *Cercis siliquastrum*, *Wisteria sinensis*) toplanan yapraklar kullanılmıştır.

Örneklerin ME, NEL ve OMS'ları Menke ve Steingass (1988) tarafından bildirilen ve aşağıda gösterilen eşitliklerle hesaplanmıştır:

$$ME, MJ \text{ kg}^{-1} \text{ KM} = 1.06 + 0.1570 \times G\ddot{U} + 0.0084 \times HP + 0.0220 \times HY - 0.0081 \times HK$$

$$NEL, MJ \text{ kg}^{-1} \text{ KM} = 0.115 \times G\ddot{U} + 0.054 \times HP + 0.14 \times HY - 0.054 \times HK - 0.36$$

$$OMS, \% = 9.00 + 0.9991 \times G\ddot{U} + 0.0595 \times HP + 0.0181 \times HK$$

(ME: metabolik enerji, NEL: net enerji laktasyon, OMS: sindirilebilir organik madde, GÜ: 200 mg kuru yem örneğinin 24 saatlik inkübasyon süresi sonundaki net gaz üretimi, HP: % ham protein, HY: % ham yağ ve HK: % ham kül * OMS için).

İstatistik Analizler

Veriler, tesadüf blokları deneme desenine göre tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur ve ortalamalar arasındaki farklar Duncan çoklu karşılaştırma testiyle ile belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Niğde ilinde farklı dönemlerde toplanan baklagil ağaç yapraklarının besin madde analizleri Çizelge 1'de verilmiştir. Farklı dönemlerde yapraklar arasındaki farklılık HS haricinde KM, HK, HP, NDF, ADF ve ADL içeriklerindeki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Farklı ağaçlardan toplanan yapraklardaki besin madde içerikleri bakımından türler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Benzer bir şekilde yaprakların besin madde değerleri üzerinde tür ve dönemin birlikte etkisi de istatistiki açıdan önemli bulunmuştur.

Baklagil yapraklarında birinci hasat döneminde HP değerleri ikinci hasat dönemine göre rakamsal olarak daha fazla çıkmıştır (Çizelge 1). Her iki dönem de baz alınarak yapılan karşılaştırmada birinci dönemde hasat edilen *Robinia pseudoacacia* (RP) HP değerinin (%18.16) en fazla olduğu bulunmuştur. Ağaç yapraklarının kuru madde içerikleri %86.34-93.05 arasında, Ham kül içerikleri %5.09-18.49 arasında, HP içerikleri %9.43-18.16 arasında, HY içerikleri %4.98-8.14 arasında ve NDF içerikleri ise %21.18-37.75 arasında değişmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Farklı dönemlerde toplanan ağaç yapraklarının besin madde içerikleri (%KM)

Table 1 Nutrient content of tree leaves collected in different periods (%DM)

		Nutrient content of tree leaves collected in different periods (%KM)							
		DM	CA	CP	CF	NDF	ADF	ADL	HS
Tree leaves	Seasonal period								
	Early period								
<i>Wisteria sinensis</i>		91.47 ^{bc} ±1.31	10.40±0.09	13.58 ^d ±0.57	5.26 ^d ±0.21	30.31 ^b ±0.32	27.59 ^b ±0.27	13.05 ^c ±0.06	14.54 ^a ±0.19
<i>Gleditsia triacanthos</i> L.		93.05 ^a ±0.14	18.49 ^b ±0.45	17.54 ^a ±0.35	4.98 ^d ±0.01	21.18 ^e ±0.07	16.36 ^d ±0.66	4.23 ^l ±0.18	12.13 ^{bc} ±0.47
<i>Cercis siliquastrum</i>		92.02 ^{abc} ±0.33	5.09 ^b ±0.01	16.08 ^b ±0.13	5.41 ^d ±0.25	23.39 ^e ±0.35	18.99 ^e ±0.09	14.12 ^b ±0.04	4.87 ^e ±0.06
<i>Robinia pseudoacacia</i>		93.04 ^a ±0.12	8.29 ^e ±0.01	18.16 ^a ±0.16	6.49 ^b ±0.11	30.62 ^b ±0.47	25.79 ^c ±0.23	14.13 ^b ±0.34	11.67 ^{cd} ±0.11
<i>Leucaena leucocephala</i>		92.50 ^b ±0.14	5.79 ^h ±0.09	13.05 ^d ±0.41	6.49 ^b ±0.09	37.75 ^a ±0.25	32.91 ^a ±0.33	22.73 ^a ±0.54	10.18 ^e ±0.19
Late period									
<i>Wisteria sinensis</i>		91.27 ^c ±0.18	10.92 ^a ±0.07	10.62 ^a ±0.13	6.55 ^b ±1.01	22.27 ^f ±0.18	15.44 ^d ±0.75	5.34 ^e ±0.14	10.10 ^e ±0.61
<i>Gleditsia triacanthos</i> L.		86.34 ^d ±0.27	21.23 ^a ±0.02	15.35 ^c ±0.19	5.13 ^d ±0.11	24.28 ^d ±0.31	18.09 ^{ef} ±0.51	5.37 ^e ±0.26	12.73 ^b ±0.25
<i>Cercis siliquastrum</i>		92.40 ^b ±0.03	8.43 ^e ±0.09	10.35 ^c ±0.41	8.12 ^a ±0.12	23.76 ^{de} ±0.07	17.08 ^{fe} ±0.79	9.47 ^f ±0.18	7.61 ^f ±0.61
<i>Robinia pseudoacacia</i>		92.18 ^{abc} ±0.09	12.18 ^d ±0.03	14.82 ^c ±0.28	8.14 ^a ±0.19	26.80 ^c ±0.61	21.42 ^d ±0.52	10.48 ^e ±0.14	10.94 ^{de} ±0.38
<i>Leucaena leucocephala</i>		92.38 ^{abc} ±0.29	13.19 ^c ±0.01	9.43 ^f ±0.18	7.76 ^a ±0.60	27.12 ^c ±0.17	22.46 ^d ±0.21	11.86 ^d ±0.41	10.60 ^e ±0.21

a,b,c Values within a row with different superscripts differ significantly at $P < 0.05$.

a,b,c Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Ağaç yapraklarının kuru madde içerikleri %86.34-93.04 arasında, HK içerikleri %5.79-18.49 arasında, HP içerikleri %9.43-18.16 arasında, HY içerikleri %4.98-8.14 arasında NDF içerikleri % 21.18-37.75 arasında değişmiştir (Çizelge 1). Hove ve ark. (2003) farklı baklagil ağaç yaprakları ile yaptıkları araştırmada, *Leucaena leucocephala* (kurşun) ağaç

yapraklarının besin madde kompozisyonları içerisinde yer alan HK içeriğinin %8.0-8.1 arasında, NDF içeriğinin %27.4-29.2 arasında, ADF içeriğinin %13.4-17.4 arasında, KM içeriğinin %91.9-92.0 olduğunu bildirmişlerdir Başer ve Kamalak (2020)'nin yaptığı çalışmada ise *Leucaena leucocephala* (kurşun) baklagil ağaç yaprağının besin

madde kompozisyonları içerisinde yer alan, NDF içeriğinin %52.31, ADF içeriğinin %27.00, KM içeriğinin %92.51, HP %15.45, HY içeriğinin %3.76 olduğunu bildirilmiştir. Masama ve ark. (1997)'nin yaptıkları çalışmada KM'de HP içeriği %24, HK içeriği %7 ve NDF içeriği %52.9 olarak bulunmuştur.

Van Soest (1994) rumen mikroorganizmalarının normal şekilde çalışabilmesi için rasyonda en az % 7-8 HP'ye ihtiyaç olduğunu bildirmiştir. Ayrıca rumendeki mikrobiyal büyümeyi maksimum hale getirmek için ihtiyaç duyulan protein miktarının, bazı koşullar altında rasyon KM'sinin %14-15'ine kadar da çıkabileceği bildirilmiştir (Hoover ve Stokes 1991). Yapılan çalışmada toplanan ağaç yapraklarının baklagil olmasından dolayı HP içerikleri yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla bu ağaçların (HP içeriği yüksek olan baklagil ağacı bitkilerinin) ruminant hayvanların sadece yaşama payı ihtiyacını karşılamakla kalmayıp aynı zamanda verim payı HP ihtiyacının da bir kısmını karşılayacağı görülmektedir. Benzer bir şekilde çalışmada da her iki dönem içerisinde ağaç yapraklarının HP değerinin minimum %9.43 ve maksimum 18.16 olarak elde edilmiştir. Bu değerler ruminant hayvanların besin madde ihtiyaçları açısından önemli olabileceği düşünülebilir.

Demirkol (2019) yaptığı çalışmada akasya ağacından alınan yaprakların Mayıs, Haziran, Temmuz ve Ağustos dönemlerine ait KM, HK, HP, HY, NDF ve ADF düzeylerini (%), sırasıyla 36.41-52.25, 12.35-9.13, 21.54-14.24, 3.97-7.08, 36.10-43.12, 25.52-33.07 olarak bulunduğunu bildirmiştir. Canbolat (2012) yaptığı çalışmada ise *Robinia pseudoacacia* (yalancı akasya) baklagil ağacının yapraklarında besin madde kompozisyonları içerisinde yer alan KM içeriğini %42.94, HK içeriğini %13.00, HP içeriğini %16.33, NDF içeriğini %30.42 ve ADF içeriğini %27.81 olarak bildirmektedir. Başer ve Kamalak (2020) baklagil ağaç yapraklarında KM içeriğini %93.68, HK içeriğini %10.80, HP içeriğini %16.83 HY içeriğini %2.99, NDF içeriğini %48.12 ve ADF içeriğini %31.36 olarak bildirmişlerdir.

Papachristou ve ark. (1999) yaptığı çalışmada *Colutea aorescens* yapraklarından alınan besin madde kompozisyonunda yer alan KM içeriğini %47.26-63.15 ve NDF içeriğini de %44.91-50.14 arasında bildirmektedir.

Kondense tanen yem içerisindeki besin maddeleri ve sindirim enzimleriyle kompleks yapı ve bileşikler oluşturarak sindirimi olumsuz etkileyebilmektedir (Kurt ve Öztürk, 2018; Tatlıyer ve ark., 2019). Dolayısıyla bu yaprakların rasyona ilave edilirken KT içerikleri göz önüne alınmalı ve hatta gerekirse KT'nin muhtemel etkilerini elemine etmek için bu yaprakların kullanıldığı rasyona bazı katkı maddeleri (polyethylen glycol gibi) ilave edilmelidir (Hernández ve ark., 2015).

Genel olarak baklagil ağacı yapraklarında protein düşük bulunmakta ayrıca proteinin hayvan beslemede sınırlı etkiye sahip olmasından dolayı canlı ağırlık ve üreme performansını olumsuz etkileyerek, verimin düşük olmasına neden olmaktadır (Aganga ve Tshwenyane, 2007). Ruminant hayvan beslemede kullanılan bu bitkiler yem alımında kısa sürede (20-60 dakika) düşüşe neden olmakta, hayvanlar yeme alıştıktan sonra bu olumsuz etki ortadan kalkmaktadır. Bununla birlikte yapraklarda tanen içeriğinin yüksek olması sindirimde azalma gözlemlenebileceği gibi yemden yararlanmanın da düşeceği belirtilmektedir (Aganga ve Tshwenyane, 2007).

Koyunlarla yapılan bir çalışmada *Acacia angustissima*, *Cajanus cajan*, *Calliandra calothyrsus* ve *Leucaena leucocephala*'dan elde edilen baklagil ağacı yaprakları rasyona dört farklı seviyede (0, 50, 100 ve 150g) ilave edilmiştir. Çalışma sonunda *C. calothyrsus* dışındaki her baklagil için kuru madde alımında katkı düzeyi yükseldikçe önemli artış gözlemlendiği bildirilmiştir (P<0.05) (Masama ve ark., 1997). Ayrıca dört baklagilin tamamı için, katkı seviyesi arttıkça OMS, azot dengesi ve mikrobiyal protein veriminde önemli bir artış meydana geldiği bildirilmiştir (P<0.05). Masama ve ark. (1997) OMS ve azot dengesi üzerine sırasıyla *A. angustissima*, *C. calothyrsus*, *L. leucocephala* ve *C. cajan* etki ettiğini bildirmiştir. Koyunlarda yapılan bu denemede kullanılan farklı baklagil ağacı yapraklarının 150 g'a kadar rahatlıkla kullanılabilirliği belirtilmiştir.

Maasdorp ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada Holstein±Friesian melezi olan erken laktasyondaki ineklerin beslemede *A. boliviana*, *C. Calothyrsus*, *L. leucocephala* ve *Cunningham* baklagil ağacı yaprakları kullanılmıştır. Çalışma sonucunda araştırmacılar süt bakımından en yüksek verimi *L. Leucocephala* ile besleme sonucunda elde etmişler, ayrıca hayvanlara verilen *L. leucocephala*'nın neredeyse tamamını (%7'si hariç) tüketmişlerdir. Bununla birlikte araştırmacılar hayvanların *A. boliviana*'nın %12'si, *C. calothyrsus*'un %12'si ve *Cunningham*'ın %32'sini tükettiklerini bildirmişlerdir (Maasdorp ve ark., 1999). Yem tüketimi ve süt verimi bakımından rahatlıkla baklagil ağaç yapraklarının kullanılabilirliği önerilebilmektedir.

Bu çalışmaya konu olan baklagil ağaç yapraklarının ruminant hayvanların yaşama ve verim payı protein ve metabolik enerji ihtiyacını karşılayacak potansiyele sahip olduğu bulunmuştur. Ancak bu konu üzerine hayvan besleme denemelerinde *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda yoğunlaşılması gerekmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Baklagil ağaçlarının hayvan beslemede kullanılması

günümüzde dikkat çeken konular arasında yer almaktadır. Bu gibi yemlerin kullanımının küresel olarak hayvan beslemede yaygınlaşmasıyla birlikte ruminant hayvanlar için alternatif yem hammaddesi olarak kullanılabilmesi tahmin edilmektedir. Hayvan beslemede tercih edilecek baklagil ağacının kullanımına dikkat etmek gerekmektedir. Göz önünde bulundurulması gereken faktörler arasında genel olarak, ağacın yapraklarını yenileme kapasitesi, bitki türü, yetiştirme dönemi, besin değeri ve içeriğindeki tanen miktarı yer almaktadır. Düşük kaliteli otlar ve çimlere kıyasla baklagil ağaçlarından elde edilecek yemlerinin kullanımı ruminant hayvanların beslenmesinde tavsiye edilebilir. Hayvanlara ağaç yaprakları verilirken tek başına kaba yem kaynağı olarak düşünülmemeli ve diğer kaba yemlerle birlikte verilmesi (belli bir oranın üzerine çıkılmaması) önerilmektedir.

Bazı baklagil (*fabaceae*) ağaç yapraklarının (*Leucaena leucocephala*, *Robinia pseudoacacia*, *Colutea arborescens*, *Cercis siliquastrum*, *Wisteria sinensis*) besin madde kompozisyonları ve yem örneklerinde kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham selüloz (HS) ve ham kül (HK) analizleri asit çözücülerde çözünmeyen lifli maddeler (ADF) ve nötr çözücülerde çözünmeyen lifli maddeler (NDF) analizleri yapılmış olup özellikle ruminant hayvanlarda alternatif yem kaynağı olarak kullanılabilmesi çalışmada sonucunda belirlenmiştir.

Farklı ağaç yapraklarının besin madde kompozisyonu, gaz üretimi, metan üretimi, sindirim derecesi ve ME değerleri bitki türüne ve dönemine bağlı olarak değişmiştir. Ağaç yapraklarının özellikle düşük kaliteli kaba yemlerle birlikte verilmesi durumunda ruminantlardan kaynaklanan enterik metan üretiminin de azaltılacağı dikkate alınmalıdır. Bu çalışmaya konu olan baklagil ağaç yapraklarının ruminant hayvanların yaşama ve verim payı protein ve metabolik enerji ihtiyacını karşılayacak potansiyele sahip olduğu bulunmuştur. Ancak bu konu üzerine hayvan besleme denemelerinde *in vivo* ve *in vitro* çalışmalara yoğunlaşılması gerekmektedir. Ayrıca, ağaç yapraklarında bulunan tanen ve anti besinsel içeriklerin de belirlenerek hayvanların yem tüketimine, performansına ve metan üretimine etkisinin belirlenmesi açısından bu konuda *in vivo* denemelere ihtiyaç duyulmaktadır.

TEŞEKKÜR

Çalışmamız, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi (OHU) Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) biriminin desteğiyle TGT 2019/03-BAGEP nolu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Katkılarından dolayı OHU BAP birimine 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

- Açıkgöz E, Hatipoğlu R, Altınok S, Sancak C, Tan A, Uraz D 2005. Yem bitkileri üretimi ve sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, 503-518.
- Aganga AA, Tshwenyane SO 2007. Feeding Values and Anti-Nutritive Factors of Forage Tree Legumes. Pakistan Journal of Nutrition, 2(3): 170-177.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1990. Official Method of Analysis. 15th. ed. Washington DC. USA, 66-88.
- Başer A, Kamalak A 2020. Türkiye'nin Akdeniz Bölgesinde Yetişen Bazı Baklagil Ağaç Yapraklarının Yem Değerleri ve İn Vitro Fermantasyon Özellikleri. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 7(4): 940-947.
- Beauchemin KA, McAllister TA, McGinn SM 2009. Dietary Mitigation of Enteric Methane from Cattle. CAB Reviews: Perspectives. In Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources, 4(35): 1-18.
- Brewbaker JL, Sorensson CT 1990. New Tree Crops From Interspecific Leucaena Hybrids. In: Janick, J. and Simon, J.E. (eds), Advances in New Crops. Timber Press, Portland, 283-289.
- Canbolat Ö 2012. Determination of Potential Nutritive Value of Exotic Tree Leaves in Turkey. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 18(3): 419-423.
- Castro-Montoya JM, Dickhoefer U 2020. The Nutritional Value of Tropical Legume Forages Fed to Ruminants as Affected by Their Growth Habit and Fed Form: A Systematic Review. Animal Feed Science and Technology, 269: 114641.
- Cheema UB, Younas M, Sultan JI, Virk MR, Tariq M., Waheed A 2011. Fodder Tree Leaves: An Alternative Source of Livestock Feeding. Advances in Agricultural Biotechnology, 2: 22-33.
- Demirkol İ 2019. Akasya Yaprığının Besleme Değeri ve Metan Üretim Potansiyelinin Belirlenmesi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 24 sy.
- Devendra C 1994. Composition and Nutritive Value of Browse Legumes, In Forage Tree Legumes in Tropical Agricultures, 49-65.
- Frutos P, Hervas G, Ramos G, Giraldez FJ, Mantecon AR 2002. Condensed Tannin Content of Several Shrub Species From a Mountain Area in Northern

- Spain, and Its Relationship to Various Indicators of Nutritive Value. *Animal Feed Science Technology*, 95:215-226.
- Goel G, Makkar HPS, Becker K 2008. Effect of Sesbania Sesban and Carduus Pycnocephalus Leaves and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) Seeds and Their Extract on Partitioning of Nutrients from Roughage and Concentrate-Based Feeds to Methane. *Anim Feed Sci Technol*, 147 (1-3): 72-89.
- Hernández SR, Pérez JO, Elghandour MMY, Cipriano-Salazar M, Avila-Morales B, Camacho-Díaz LM, Soto MC 2015. Effect of Polyethylene Glycol on In Vitro Gas Production of Some Non-Leguminous Forage Trees in Tropical Region of The South of Mexico. *Agroforestry systems*, 89(4): 735-742.
- Hoover WH, Stokes SR 1991. Balancing Carbohydrates and Proteins for Optimum Rumen Microbial Yield. *Journal of Dairy Science*, 74(10): 3630-3644.
- Hove L, Ndlova LR, Sibanda S 2003. The Effects of Drying Temperature on Chemical Composition and Nutritive Value of Some Tropical Fodder Shrubs. *Agroforestry Systems*, 59(3): 231-241.
- Kjeldahl JGCT 1883. A new method for the estimation of nitrogen in organic compounds. *Z. Anal. Chem*, 22(1): 366-382.
- Kurt Ö, Öztürk D 2018. Bazı Baklagil Ağaç Meyvelerinin Besleme Değerinin Belirlenmesi. *Black Sea Journal of Agriculture*, 1(3): 60-65.
- Kutlu HR 2008. Yem Değerlendirme ve Analiz Yöntemleri. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Ders Notları. Adana.
- Leng RA 1997. Tree Foliage in Ruminant Nutrition Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 139.
- Maasdorp BV, Muchenje V, Titterton M 1999. Palatability and Effect on Dairy Cow Milk Yield of Dried Fodder From The Forage Trees *Acacia Boliviana*, *Calliandra Calothyrsus* and *Leucaena leucocephala*. *Animal Feed Science and Technology*, 77(1-2): 49-59.
- Masama E, Topps JH, Ngongoni NT, Maasdorp BV 1997. Effects of Supplementation with Foliage from The Tree Legumes *Acacia Angustissima*, *Cajanus Cajan*, *Calliandra Calothyrsus* and *Leucaena Leucocephala* on Feed Intake, Digestibility and Nitrogen Metabolism of Sheep Given Maize Stover Adlibitum. *Animal Feed Science and Technology*, 69(1-3): 233-240.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W 1979. The Estimation of The Digestibility and Metabolizable Energy Content of Ruminant Feedstuffs from The Gas Production when They are Incubated with Rumen Liquor. *The Journal of Agricultural Science*, 93: 217-222.
- Menke KH, Steingass H 1988. Estimation of The Energetic Feed Value Obtained from Chemical Analysis and In Vitro Gas Production Using Rumen Fluid. *Animal Research and Development*, 28: 7-55.
- Norton BW 1994. Tree Legumes as Dietary Supplements for Ruminants. *Forage Tree Legumes in Tropical Agriculture*, 192-201.
- Pal K, Patra AK, Sahoo A, Kumawat PK 2015. Evaluation of Several Tropical Tree Leaves for Methane Production Potential, Degradability and Rumen Fermentation In Vitro. *Livestock Science*, 180: 98-105.
- Papachristou TG, Platis PD, Papanastasis VP, Tsiouvaras CN 1999. Use of Deciduous Woody Species as A Diet Supplement for Goats Grazing Mediterranean Shrublands During The Dry Season. *Animal Feed Science and Technology*, 80(3-4): 267-279.
- Rubanza CDK, Shem MN, Bakengesa SS, Ichinohe T, Fujihara T 2007. The Content of Protein, Fibre and Minerals of Leaves of Selected *Acacia* Species Indigenous to North-western Tanzania. *Archives of Animal Nutrition*, 61(2): 151-156.
- Speedy A, Pugliese PL 1992. Legume Trees and Other Fodder Trees as Protein Sources for Livestock (No. 633.3/S742). Food and Agriculture Organization of The United Nations, 14-18 October 1991, Rome
- Talamucci P, Pardini A 1999. Pastoral Systems Dominated by Fodder Crops Harvesting and Grazing. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 39: 29-44.
- Tan HY, Sieo CC, Abdullah N, Liang JB, Huang XD, Ho YW 2011. Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa in vitro. *Animal feed science and technology*, 169(3-4): 185-193.
- Tatlıyer A, Kamalak A, Öztürk D 2019. Sandal Ağacı (*Arbutus andrachne*) Yapraklarının Potansiyel Besleme Değerinin Belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(2): 315-321.
- Van Soest PJ 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell university press, London, 58sy.
- Van Soest PJ, Robertson JD, Lewis BA 1991. Methods for Dietary Fibre, Neutral Detergent Fibre and Non-starch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Sci.*, 74: 3583-3597.