



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 22 Sayı-Number Ek Sayı-2 Yıl-Year: 2019



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

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

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

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

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

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

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

Derginin Eski Adı/Previous Name of Journal

KSU Fen ve Mühendislik Dergisi
KSU Journal of Science and Engineering
KSU Doğa Bilimleri Dergisi
KSU Journal of Natural Science
Derginin Eski ISSN Numarası/Previous ISSN Number
1301-2053



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Sahibi/ Owner

Prof.Dr. Niyazi CAN
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörü

Editörler / Editors

Prof.Dr. Ali KAYGISIZ (Başkan/Editor in Chief)
KSÜ Ziraat Fak. Zootekni Böl.
dogabilimleri@ksu.edu.tr

Prof.Dr. İ. Ersin AKINCI
KSÜ Ziraat Fak.
Bahçe Bitkileri Böl.
akinci.ie@ksu.edu.tr

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

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

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

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

İngilizce Editörü/English Editor

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

Danışmanlar Kurulu/Advisory Board

Dr. Eslam FAID-ALLAH
Minoufiya University, EGYPT

Prof.Dr. Ahmet ALP
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv.

Doç.Dr. Tugay AYAŞAN
Doğu Akdeniz TAE Müd. ADANA

Prof. Dr. Fikri BALTA
Ordu Üniv. ORDU

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

Prof.Dr. Rüştü HATİPOĞLU
Çukurova Üniversitesi, ADANA

Prof.Dr Stanislaw HURUK
Jan Kochanowski Univ. POLAND

Prof. Dr. Khalid JAVED
University of Veterinary and
Animal Sciences, PAKİSTAN

Prof.Dr. A Salah KHATTAB
Tanta University, EGYPT

Prof.Dr. K Mahmood KHAWAR
Ankara Üniversitesi, ANKARA

Dr. Öğr.Üye Mustafa KÜSEK
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv.

Doç.Dr. Murat KÜTÜK
Gaziantep Üniv. GAZİANTEP

Prof. Dr. Ramazan MERAL,
Bingöl Üniv. BİNGÖL

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

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

Prof.Dr. Fatih SATIL
Balıkesir Üniv. Balıkesir

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

Prof.Dr Vytautas TAMUTIS
Universytet Aleksandra, LITVANIA

Prof. Dr. İbrahim YILMAZ
Akdeniz Üniv. ANTALYA

Prof. Dr. Kadir YILMAZ
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv.

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



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

İÇİNDEKİLER

ARAŞTIRMA MAKALESİ - RESEARCH ARTICLE

- Gibberellik Asit Ön Uygulamasına Tabi Tutulmuş Triticale (x Triticosecale Wittmack)' de Tuz (NaCl) Stresinin Çimlenme Üzerine Etkisi
Effect of Salt Stress (NaCl) in the Triticale (x Triticosecale Wittmack) Applied Pretreatment of Gibberellic Acid 235-242
Erol ORAL, Fevzi ALTUNER, Ruveyde TUNÇTÜRK, İshak BARAN
- Biberiye Ekstraktlarının Buğday Çimlenmesi ve Tahıl Depo Zararlıları Üzerine Etkileri
The Effects of Rosemary Extracts on Wheat Germination and Grain Storage Pests 243-250
Cennet YAMAN, Şeyda ŞİMŞEK
- Batı Anadolu Fasulye Genetik Kaynaklarının Biyolojik Çeşitliliğinin Araştırılması ve Karakterizasyonu
Investigation and Characterization of Phaseolus bean bio-diversity in Western Anatolia 251-263
Hüseyin ÇANCI, Faik KANTAR, Murat BOZKURT, Mehmet Zahit YEKEN, Vahdettin ÇİFTÇİ, Göksel ÖZER
- Bazı Makarnalık ve Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Kalite Özelliklerinin Araştırılması
Research of Quality Traits of Some Durum Wheat and Bread Wheat Varieties 264-271
Seydi AYDOĞAN, Mehmet ŞAHİN, Aysun GÖÇMEN AKÇACIK, Berat DEMİR, Sümeyra HAMZAOĞLU, Enes YAKIŞIR
- Türkiye Genetik Kaynaklarından Bazı Su Kabağı (Lagenaria Siceraria Standl. Mol.) Genotiplerinin Meyve ve Tohum Özellikleri ve Tohum Verimi
Fruit, Seed characteristics and Seed Yield of Some Bottle Gourds (Lagenaria Siceraria Standl. Mol.) Genotypes From Turkish Germplasm 272-281
Halit YETİŞİR, Alim AYDIN
- Distantes R. Bhattacharjee (Stachys L. /Lamiaceae) Altseksiyonu Taksonları Üzerinde Karşılaştırmalı Anatomik ve Mikromorfolojik Çalışmalar
Comparative Micromorphological and Anatomical Investigations on the Subsection Distantes R. Bhattacharjee (Stachys L./Lamiaceae) 282-295
Mikail AÇAR, Fatih SATIL
- Şanlıurfa Yöresinde Doğal Yayılış Gösteren Eminium (Blume) Schott (Araceae Juss.) Cinsine Ait Taksonların Anatomik ve Morfolojik Yönden İncelenmesi
Anatomical and Morphological Aspects of The Taxa Belonging to Eminium (Blume) Schott (Araceae Juss.) Family, Which Shows Natural Distribution in Şanlıurfa Region 296-309
Hasan AKAN, Cahit ÇEÇEN, Mehmet Maruf BALOS
- Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinde Artan Yapılaşmanın Floraya Etkisinin Belirlenmesi
Determination of the Effect of Increasing Settlement on Flora in Çukurova University Campus 310-322
Muzaffer YÜCEL, Zerrin SÖĞÜT, Necattin TÜRKMEN, Deniz ÇOLAKKADIOĞLU, Barış KAHVECİ, Veli ÇELİKTAŞ
- Zeatin ve Farklı Oksin Kombinasyonlarının Önemli Tıbbi Bitki Limnophila aromatica (Lamk.) Merr.'nın İn Vitro Mikroçoğaltımı Üzerine Etkisi
The Effect of Zeatin and Different Auxin Combinations on In Vitro Micropropagation of Limnophila aromatica (Lamk.) Merr., an Important Medicinal Plant 323-329
Muhammet DOĞAN
- Saksıda Erkenci Kayısı Yetiştiriciliği
Apricot Culture in Container for Earliness 330-336
Salih ÜLGER, Sara DEMİRAL



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

- Dry Matter Partitioning and Salt Tolerance via Salicylic Acid Treatment in Strawberry Plant Under Salt Stress**
Tuz Stresi Altındaki Çilek Bitkilerinde Salisilik Asit Uygulamasıyla Kuru Madde Dağılımı ve Tuz Toleransı 337-341
Servet ARAS, Ahmet EŞİTKEN
- Physiological Effects of Photoselective Nets in Strawberry Plant**
Fotoselektif Netlerin Çilek Bitkilerine Fizyolojik Etkileri 342-346
Servet ARAS, Ahmet EŞİTKEN
- Effects of Benzyladenine and Naphthalene Acetic Acid Applications on Fruit Thinning and Quality of Some Apple Cultivars Grafted onto MM 106 Rootstocks**
MM106 Anacı Üzerine Aşılı Bazı Elma Çeşitlerinde Benziladenin ve Naftalen Asetik Asit Uygulamalarının Meyve Seyreltmesi ve Kalitesi Üzerine Etkisi 347-353
Berna TURAK, Ersin GÜLSOY, Rafet ASLANTAŞ
- Farklı Kökenli Bazı Pamuk Genotiplerinde Verticillium Solgunluğuna Dayanıklılığın Araştırılması**
Investigation of Resistance to Verticillium Wilt in Some Cotton Genotypes with Different Origins 354-360
Yaşar AKIŞCAN, Fatih Mehmet TOK
- Böceklerde Farklı Muhafaza Koşulları ve Zamanın Mitokondrial DNA Kalitesi Üzerine Etkisi: Bir Diptera (Tephritidae) Örneği Çalışması**
The Effects of Different Storage Conditions and Storage Time on The Quality of The Mitochondrial DNA on Insects: Sample Study is A Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) 361-364
Adile AKPINAR, Fidan JUMAID, Vedat GÖRMEZ, Murat KÜTÜK, Canan CAN
- Phytochemical Analysis of Dorycnium pentaphyllum and Its Antiproliferative Effect on Cervix Cancer Cells**
Dorycnium pentaphyllum'un Fitokimyasal Analizi ve Serviks Kanseri Hücreleri Üzerindeki Antiproliferatif Etkisi 365-373
Yüksel ALIYAZICIOĞLU, Selim DEMİR, Serap ÖZER YAMAN, Sıla Özlem ŞENER, Elif AYAZOĞLU DEMİR, Rezzan ALIYAZICIOĞLU, İbrahim TURAN
- Meşe Palamudunun (Quercus coccifera L.) Farklı Kısımlarının A549, MCF-7 ve HeLa İnsan Kansere Hücrelerine Karşı Antikanser, Antiproliferatif ve Laktat Dehidrojenaz Enzim Aktiviteleri**
Anticancer, Antiproliferative and Lactate Dehydrogenase Enzyme Activities of Different Parts of Acorn (Quercus coccifera L.) against A549, MCF-7 and HeLa Human Cancer Cells 374-381
Sevgi GEZİCİ
- Investigation of the Cytotoxicity of Fig, Lemon, Olive, and Turnip Exosomes on MCF-7 Cells**
İncir, Limon, Zeytin ve Turp Ekzozomlarının MCF-7 Hücrelerinde Sitotoksik Etkisinin Araştırılması 382-387
Oğuzhan KARAOSMANOĞLU
- Determination of Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Gölevez [(Colocasia esculenta (L.) Tubers**
Gölevez [(Colocasia esculenta (L.)] Yumrularının Etanol Ekstresinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi 388-394
Mehmet AKYÜZ
- Cytogenetic Characteristics of Microtus guentheri, Microtus arvalis sensu lato and Microtus majori (Mammalia: Rodentia) From Turkey: Constitutive Heterochromatin Distribution**
Microtus guentheri, Microtus arvalis ve Microtus majori (Mammalia: Rodentia) Türlerinin Sitogenetik Özellikleri: Konstitütif Heterokromatin Dağılımı 395-400
Ahmet Yesari SELÇUK, Mehmet Akif BİLİR, Haluk KEFELİOĞLU



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGISİ

- Determination of The Potential Use of Exopolysaccharide-Producing *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in Yogurt
Ekzopolisakkarit Üreten *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ının Yoğurttta Kullanım Potansiyelinin Belirlenmesi 401-408
Yekta GEZGİNÇ, Ayşe Esin KILINÇ
- The Effects of Dried Wormwood (*Artemisia absinthium*) on Performance, Carcass Characteristics and Biochemical Parameters of Broiler Chicks
Kurutulmuş Pelin (*Artemisia Absinthium*) Otunun Etlik Piliçlerin Performans, Karkas Özellikleri ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi 409-417
Mehmet ÇETİN, Sabri YURTSEVEN, Abdurrahim KOÇYIĞIT, Füsün TEMAMOĞULLARI, Mehtap Gül ALTAŞ, Zafer ÖZYILDIZ, Rahşan YILMAZ, Abdullah TAŞKIN
- EasyNRM: A Visual Basic Application Approach for Computing Numerator Relationship Matrix of Pedigreed Animals
Pedigrili Hayvanlarda Paydan Akrabalık Matrisini Hesaplamaya Yönelik Bir Visual Basic Uygulaması Yaklaşımı: EasyNRM 418-423
Samet ÇINKAYA, Mustafa TEKERLİ, Mustafa DEMİRTAŞ, Koray ÇELİKELOĞLU
- The Effects of Progesterone and Estrogen Hormone Levels on Some Reproductive Characteristics of The Akkaraman Sheep
Akkaraman Koyunlarının Bazı Üreme Özellikleri Üzerine Progesteron Ve Östrojen Hormon Seviyelerinin Etkileri 424-430
Afşin KOCAKAYA, Ceyhan ÖZBEYAZ
- Path Analysis of the Relationship Between Weaning Weight and Some Morphological Traits in Awassi Lamb
İvesi kuzularında Sütten Kesim Ağırlığı ve Bazı Morfolojik Özellikler Arasındaki İlişkinin Path Analizi 431-435
Sabri GÜL, Mahmut KESKİN, Yusuf Ziya GÜZEY, Sedat BEHREM, Zühal GÜNDÜZ
- Breeding Data of Collared Pratincole (*Glareola pratincola*) Population of Boğazkent/Antalya (Southwest Turkey) in 2016
Bataklık Kırlangıcı (*Glareola pratincola*)'nın Boğazkent/Antalya (Güneybatı Türkiye) Populasyonunun 2016 Üreme Sezonu Verileri 436-339
Yasemin ÖZTÜRK, Leyla ÖZKAN
- Koyun Yetiştiriciliği Yapan Üreticilerin Sosyo-Ekonomik Yapısı ve Koyunculuk Faaliyetiyle İlgili Uygulamaları
Socio-economic Structure of Farmers That Make Sheep Breeding and Practices Related to Their Sheep Breeding Activities 440-448
Damla ÖZSAYIN, Bengü EVEREST
- Consumers Behavior Towards Bee Products Consumption in The Centre District of Kahramanmaraş Province
Kahramanmaraş İli Merkez İlçede Yaşayan Tüketicilerin Arı Ürünleri Tüketim Davranışları 449-455
Yeşim AYTÖP, Cuma AKBAY, Hüseyin MERAL
- Backyard Orchard Ownership: Implications For Rural Poverty Alleviation And Food Security Management in Nigeria
Felix ACHOJA, Oghenesarome OBODAYA 456-464
- DERLEME MAKALE (Review Article)**
Anticancer Uses of Medicinal Plants in Turkish Traditional Medicine
Türk Geleneksel Tıbbında Tıbbi Bitkilerin Antikanser Kullanımları 465-484
Mustafa Eray BOZYEL, Elif MERDAMERT BOZYEL, Kerem CANLI, Ergin Murat ALTUNER



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

HAKEMLER/Referees*

Doç.Dr. Hakan ADANACIOĞLU	Ege Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. İzmir
Dr.Öğr.Üyesi Sevinc ADILOĞLU	Tekirdağ NKÜ Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Tekirdağ
Prof.Dr. Cuma AKBAY	KSÜ Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Cuma AKBAY	KSÜ Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Cuma AKBAY	KSÜ Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Cuma AKBAY	KSÜ Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Mustafa AKBULUT	Recep Tayyip Erdoğan Üniv. Ziraat ve Doğa Bil. Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Rize
Prof.Dr. Mustafa AKBULUT	Recep Tayyip Erdoğan Üniv. Ziraat ve Doğa Bil. Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Rize
Dr. Öğr.Üyesi Davut Soner AKGÜL	Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Adana
Prof.Dr. Sermin AKINCI	KSÜ Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Aydın AKKAYA	KSÜ Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Kahramanmaraş
Doç.Dr. Asiye AKYILDIZ	Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Adana
Prof.Dr. Bilal AKYÜZ	Erciyes Üniv. Veteriner Fak. Zootekni ve Hayvan Besleme Böl. Kayseri
Prof.Dr. İrfan ALBAYRAK	Kırıkkale Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Kırıkkale
Dr.Öğr. Üyesi Yaşar ALPTEKİN	KSÜ Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Kahramanmaraş
Dr.Öğr. Üyesi Yaşar ALPTEKİN	KSÜ Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Hamit ALTAY	ÇÖMÜ Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Çanakkale
Doç.Dr. Emine Kaya ALTOP	Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Samsun
Prof.Dr. Seval ANDIÇ	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Van
Prof.Dr. Olcay ARABACI	Aydın Adnan Menderes Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Aydın
Prof.Dr. Burhan ARSLAN	Tekirdağ Namık Kemal Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Tekirdağ
Prof.Dr. Meryem ATİK	Akdeniz Üniv. Mimarlık Fak. Peyzaj Mimarlığı Böl. Antalya
Doç.Dr. Murat AYDIN	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Erzurum
Prof.Dr. Zeki AYTAÇ	Gazi Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Ankara
Dr.Öğr.Üyesi Adem BARDAK	KSÜ Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Kahramanmaraş
Dr.Öğr.Üyesi Adem BARDAK	KSÜ Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Celaleddin BARUTÇULAR	Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Adana
Prof.Dr. Nursel BAYDEMİR	Kırıkkale Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Kırıkkale
Prof. Dr. Safder BAYAZIT	Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Hatay
Dr.Öğr.Üyesi Makbule BAYLAN	Çukurova Üniv. Su Ürünleri Fak. Su Ürünleri Temel Bilimleri Böl. Adana
Prof.Dr. Şükrü BEYDEMİR	Anadolu Üniv. Eczacılık Fak. Temel Eczacılık Bilimleri Böl. Eskişehir
Dr.Öğr. Üyesi Numan BİLDİRİCİ	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Gevaş MYO/Bitkisel Ve Hayvansal Üretim Böl. Van

* Soyada göre sıralanmıştır.



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Prof.Dr. İbrahim BOLAT	Harran Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Şanlıurfa
Prof.Dr. Hidayet BOSTAN	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Erzurum
Prof.Dr. Mehmet Ali BOZKURT	Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Van
Prof.Dr. Mehmet Ali BOZKURT	Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl. Van
Dr.Öğr.Üyesi Mahir BUDAK	Sivas Cumhuriyet Üniv. Fen Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl. Sivas
Prof.Dr. Nihal BUZKAN	KSÜ Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Kahramanmaraş
Dr.Öğr.Üyesi Gökhan BÜYÜK	Adıyaman Üniv. Kahta MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Adıyaman
Prof.Dr. Ayhan CEYHAN	Niğde Ömer Halisdemir Üniv. Bor MYO Veterinerlik Böl. Niğde
Prof.Dr. Ali COŞKAN	Isparta Uygulamalı Bil. Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Besleme Böl. Isparta
Prof.Dr. Yüksel COŞKUN	Dicle Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Diyarbakır
Dr.Öğr.Üyesi Sabahattin CÖMERTPAY	KSÜ Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Kahramanmaraş
Dr.Öğr. Üyesi Süleyman ÇALIŞLAR	KSÜ Ziraat Fak. Zootečni Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Ahmet Esen ÇELEN	Ege Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. İzmir
Dr.Öğr. Üyesi Şenol ÇELİK	Bingöl Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. Bingöl
Dr.Öğr.Üyesi İnci ÇINAR	KSÜ Mühendislik-Mimarlık Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Kahramanmaraş
Doç.Dr. Selahattin ÇINAR	Kilis 7 Aralık Üniv. Teknik Bilimler MYO Bitkisel ve Hayvansal Ür. Böl. Kilis
Doç.Dr. Esra Aydoğan ÇİFCİ	Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Bursa
Dr.Öğr.Üyesi Alihan ÇOKKIZGIN	Gaziantep Üniv. Nurdağı MYO Gaziantep
Dr.Öğr.Üyesi Alihan ÇOKKIZGIN	Gaziantep Üniv. Nurdağı MYO Gaziantep
Dr.Öğr.Üyesi Aysen ÇOLAK	Uşak Üniv. Ziraat ve Doğa Bilimleri Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Uşak
Dr.Öğr.Üyesi A Sinan ÇOLAKOĞLU	KSÜ Mühendislik Mimarlık Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Mustafa ÇÖLKESEN	KSÜ Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Kahramanmaraş
Doç.Dr. Nazan ÇÖMLEKÇİOĞLU	KSÜ Fen Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Kahramanmaraş
Doç.Dr. Nuray ÇÖMLEKÇİOĞLU	Eskişehir Osmangazi Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Eskişehir
Doç.Dr. Nuray ÇÖMLEKÇİOĞLU	Eskişehir Osmangazi Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Eskişehir
Doç.Dr. Müge DAVRAN	Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Adana
Prof.Dr. Vecdi DEMİRCAN	Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Isparta
Prof.Dr. Leyla DEMİRSOY	Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Samsun
Prof.Dr. Abdullah T. DEMİRYÜREK	Gaziantep Üniv. Tıp Fak. Dahili Tıp Bilimleri Böl. Gaziantep
Doç.Dr. Mustafa DEMİRKAYA	Kayseri Ercciyes Üniv. Safiye Çıkrıkçıoğlu MYO Kayseri
Prof.Dr. Sibel DERViŞ	Mardin Artuklu Üniv. Kızıltepe MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Mardin
Doç.Dr. Muhittin DOĞAN	Gaziantep Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Gaziantep
Prof.Dr. Tevrican DOKUYUCU	KSÜ Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Kahramanmaraş
Doç.Dr. Ahmet Doğan DUMAN	Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Hatay
Doç.Dr. Ziya DURLUPINAR	KSÜ Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Kahramanmaraş



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Prof.Dr. Atilla DURMUŞ	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Van
Prof.Dr. Atilla DURSUN	Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Erzurum
Doç.Dr. Serdar DURU	Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. Bursa
Doç.Dr. Hüsamettin EKİCİ	Kırıkkale Üniv. Veteriner Fak. Klinik Öncesi Bilimleri Böl. Kırşehir
Doç.Dr. Hüsamettin EKİCİ	Kırıkkale Üniv. Veteriner Fak. Klinik Öncesi Bilimleri Böl. Kırşehir
Dr.Öğr.Üyesi Remzi EKİNCİ	Dicle Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Diyarbakır
Prof.Dr. Mahfuz ELMASTAS	Sağlık Bilimleri Üniv. Hamidiye Eczacılık Fak. Temel Eczacılık Bil. Böl. İstanbul
Prof.Dr. İbrahim ERDAL	Isparta Uygulamalı Bil. Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Bes. Böl. Isparta
Prof.Dr. İbrahim ERDAL	Isparta Uygulamalı Bil. Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Bes. Böl. Isparta
Prof.Dr. Veli ERDOĞAN	Ankara Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Ankara
Prof.Dr. Ahmet Güray FERİZLİ	Ankara Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Ankara
Prof.Dr. Mona GAZEL	Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Hatay
Prof.Dr. Mona GAZEL	Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Hatay
Prof.Dr. Hanife GENÇ	ÇOMÜ Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Çanakkale
Doç.Dr. Hasan GENÇ	Mehmet Akif Ersoy Üniv. Eğitim Fak. Matematik ve Fen Bil. Eğit. Böl. Burdur
Prof.Dr. Zeliha GÖKBAYRAK	Çanakkale Onsekiz Mart Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Çanakkale
Prof.Dr. İlhami GÜLÇİN	Atatürk Üniv. Fen Fak. Kimya Böl. Erzurum
Dr.Öğr.Üyesi Hüseyin GÜNGÖR	Düzce Üniv. Ziraat Ve Doğa Bilimleri Fak. Tarla Bitkileri Böl. Düzce
Dr.Öğr. Üyesi Yusuf Ziya GÜZEY	Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. Hatay
Prof.Dr. Ergin HAMZAOĞLU	Gazi Üniv. Gazi Eğitim Fak. Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Böl. Ankara
Prof.Dr. Rüştü HATİPOĞLU	Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Adana
Prof.Dr. Ali İŞIKBER	KSÜ Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Kahramanmaraş
Doç.Dr. Emine İKİKAT TÜMER	KSÜ Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Ali İLBAS	Erciyes Üniv. Seyrani Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Kayseri
Doç.Dr. Rahşan İVGİN TUNCA	Muğla Sıtkı Koçman Üniv. Ula Ali Koçman MYO Muğla
Prof.Dr. Yıldız Aka KAÇAR	Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Adana
Prof.Dr. İzzet KADIOĞLU	Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Tokat
Öğr.Gör. Özlem Timirci KAHRAMAN	İstanbul Üniv. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü İstanbul
Prof.Dr. Özgün KALKIŞIM	Recep Tayyip Erdoğan Üniv. Ziraat ve Doğa Bil. Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Rize
Doç.Dr. Salih KARABÖRKLÜ	Düzce Üniv. Ziraat Ve Doğa Bilimleri Fak. Bitki Koruma Böl. Düzce
Doç.Dr. Tolga KARAKÖY	Sivas Cumhuriyet Üniv. Sivas MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Sivas
Doç.Dr. Kadir KARAKUŞ	Malatya Turgut Özal Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. Malatya
Prof.Dr. Sedat KARAMAN	Tokat Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak. Biyosistem Mühendisliği Böl. Tokat
Dr. Öğr.Üyesi Ali Rahmi KAYA	KSÜ Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Ayla KAYA	Anadolu Üniv. Eczacılık Fak. Temel Eczacılık Bilimleri Böl. Eskişehir



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Prof.Dr. Mehmet Demir KAYA	Eskişehir Osmangazi Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Eskişehir
Prof.Dr. Mehmet Demir KAYA	Eskişehir Osmangazi Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Eskişehir
Prof.Dr. Şerafettin KAYA	Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. Hatay
Prof.Dr. Hasan KILIÇ	Bingöl Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Bingöl
Dr.Öğr. Üyesi Şule KISAKÜREK	KSÜ Orman Fak. Peyzaj Mimarlığı Böl. Kahramanmaraş
Dr.Öğr. Üyesi Şule KISAKÜREK	KSÜ Orman Fak. Peyzaj Mimarlığı Böl. Kahramanmaraş
Doç.Dr. Aysen KOÇ	Yozgat Bozok Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Yozgat
Prof.Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT	Bezm-İ Âlem Vakıf Üniv. Tıp Fak. Temel Tıp Bilimleri Böl. İstanbul
Prof.Dr. Yusuf KONCA	Erciyes Üniv. Seyrani Ziraat Fak. Zootečni Böl. Kayseri
Prof.Dr. Ahmet KORKMAZ	KSÜ Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Aslı KORKUT	Tekirdağ NKÜ Güzel Sanatlar Tasarım ve Mimarlık Fak. Tekirdağ
Prof.Dr. Mehmet KOYUNCU	Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. Bursa
Doç.Dr. Zübeyde KUMBIÇAK	Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Nevşehir
Doç.Dr. Ahmet Metin KUMLAY	Iğdır Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Iğdır
Prof.Dr. Birhan KUNTER	Ankara Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Ankara
Doç.Dr. Akif KURT	Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Tıp Fak. Dahili Tıp Bilimleri Böl. Bolu
Doç.Dr. Akif KURT	Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Tıp Fak. Dahili Tıp Bilimleri Böl. Bolu
Doç.Dr. Kemal KURT	Gümüşhane Üniv. Şiran Mustafa Beyaz MYO Gümüşhane
Doç.Dr. Şebnem KUŞVURAN	Çankırı Karatekin Üniv. Kızılırmak MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Çankırı
Prof.Dr. Esra MARTİN	Necmettin Erbakan Üniv. Fen Fak. Biyoteknoloji Böl. Konya
Dr.Öğr. Üyesi Yusuf NİKPEYMA	KSÜ Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Ahmet ONAY	Dicle Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Diyarbakır
Prof.Dr. Hikmet ORHAN	Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak. Temel Tıp Bilimleri Böl. Isparta
Dr.Öğr. Üyesi Selçuk ÖZDEMİR	Atatürk Üniv. Veteriner Fak. Zootečni ve Hayvan Besleme Böl. Erzurum
Doç.Dr. Abdülhabip ÖZEL	Harran Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Şanlıurfa
Doç.Dr. Abdülhabip ÖZEL	Harran Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Şanlıurfa
Prof.Dr. Emin ÖZKÖSE	KSÜ Ziraat Fak. Zootečni Böl. Kahramanmaraş
Doç.Dr. Gölgen Bahar ÖZTEKİN	Ege Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. İzmir
Prof.Dr. Lütfi PIRLAK	Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Konya
Prof.Dr. Lütfi PIRLAK	Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Konya
Doç.Dr. Rıdvan POLAT	Bingöl Üniv. Ziraat Fak. Peyzaj Mimarlığı Böl. Bingöl
Prof.Dr. Ercument Osman SARIHAN	Uşak Üniv. Ziraat ve Doğa Bilimleri Fak. Tarla Bitkileri Böl. Uşak
Prof.Dr. Fatih SATIL	Balıkesir Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Balıkesir
Prof.Dr. Cengiz SAYIN	Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Antalya
Prof.Dr. Cengiz SAYIN	Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. Antalya



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Prof.Dr. Selami SELVİ	Balıkesir Üniv. Altınoluk Meslek Yüksekokulu Balıkesir
Prof.Dr. Osman SEYYAR	Niğde Ömer Halisdemir Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Niğde
Prof.Dr. Hüseyin Özkan SİVRİTEPE	Konya Gıda ve Tarım Üniv. Tarım ve Doğa Bilimleri Fak. Konya
Prof.Dr. Zerrin SÖĞÜT	Çukurova Üniv. Mimarlık Fak. Peyzaj Mimarlığı Böl. Adana
Dr.Öğr.Üyesi Ferit SÖNMEZ	Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Ziraat ve Doğa Bilimleri Fak. Bolu
Dr.Öğr.Üyesi Burak ŞEN	Niğde Ömer Halisdemir Üniv. Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fak. Niğde
Prof.Dr.Suat ŞENSOY	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Van
Prof.Dr.Suat ŞENSOY	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Van
Prof.Dr. Turgay TAŞKIN	Ege Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. İzmir
Prof.Dr. Ali TOPAL	Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Konya
Prof.Dr. Salih Levent TURAN	Hacettepe Üniv. Eğitim Fak. Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Böl. Ankara
Prof.Dr. Ece TURHAN	Eskişehir Osmangazi Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Eskişehir
Dr. Öğr.Üyesi. Zühal Ünalp ÇEPEL	Dokuz Eylül Üniv. İşletme Fak. Uluslararası İlişkiler Böl. İzmir
Prof.Dr. Mehmet YAĞMUR	Kırşehir Ahi Evran Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Kırşehir
Doç.Dr. Gülsüm YALDIZ	Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Ziraat ve Doğa Bilimleri Fak. Tarla Bitkileri Böl. Bolu
Prof.Dr. Fikret YAŞAR	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Van
Doç.Dr. Kemal YAZGAN	Harran Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. Şanlıurfa
Dr. Cem YALAZA	Toros Üniv. Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Böl. Mersin
Prof.Dr. Halit YETİŞİR	Erciyes Üniv. Seyrani Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Kayseri
Prof. Dr. İsmet YILDIRIM	Düzce Üniv. Ziraat ve Doğa Bilimleri Fak. Bitki Koruma Böl. Düzce
Dr.Öğr.Üyesi Hakan YILMAZ	Ordu Üniversitesi Akkuş MYO Ordu
Prof.Dr. Kadir YILMAZ	KSÜ Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Bes.Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Kadir YILMAZ	KSÜ Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Bes.Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Kadir YILMAZ	KSÜ Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Bes.Böl. Kahramanmaraş
Doç.Dr. Sevil Sağlam YILMAZ	Kırşehir Ahi Evran Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji Böl. Kırşehir
Doç.Dr. Mustafa YORGANCILAR	Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Konya
Dr.Öğr.Üyesi Cengiz YÜRÜRDURMAZ	KSÜ Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Kahramanmaraş
Prof.Dr. Murat ZENCİRKIRAN	Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Peyzaj Mimarlığı Böl. Bursa

Gibberellik Asit Ön Uygulamasına Tabi Tutulmuş Triticale (*x Triticosecale* Wittmack)' de Tuz (NaCl) Stresinin Çimlenme Üzerine Etkisi

Fevzi ALTUNER^{1*}, Erol ORAL², Rüveyde TUNÇTÜRK³, İshak BARAN⁴

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

¹<https://orcid.org/0000-0002-2386-2450>, ²<https://orcid.org/0000-0001-9413-1092>, ³<https://orcid.org/0000-0002-3759-8232>,

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

✉: faltuner@gmail.com

ÖZET

Bu araştırma, tritikale (*x Triticosecale* Wittmack) tohumlarına çimlenme öncesi uygulanan GA3'ün tuzlu koşullarda çimlenme ve ilk gelişme dönemi üzerine etkilerinin incelenmesi amacıyla yürütülmüştür. Araştırmada Mikham-2002 tritikale çeşidine dört farklı GA3 (0, 100, 200 ve 300 ppm) ve tuz (0, 50, 100 ve 200 mM NaCl) konsantrasyonu uygulanmıştır. Deneme, Tesadüf Parselleri Deneme Deseni' ne göre faktöriyel düzende 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Araştırmada çimlenme gücü (%), çimlenme oranı (%), çimlenme indeksi (%), ortalama çimlenme süresi (gün), hassaslık indeksi (%), kök uzunluğu (cm), gövde uzunluğu (cm), kök yaş ve kuru ağırlığı (mg), gövde yaş ve kuru ağırlığı (mg) değerleri incelenmiştir. Araştırmanın sonucuna göre artan tuz dozlarının tritikale (*x Triticosecale* Wittmack)' çimlenme ve büyüme parametrelerini engellediği tespit edilmiştir. Artan GA3 (Giberellik asit) dozlarının, tuz stresi altındaki tritikale tohumlarının çimlenme ve büyüme parametreleri üzerine olumlu ve önemli etki yaptığı görülmüştür. Triticale tohumunda en iyi çimlenme özellikleri 300 ppm giberellik asit + 0 mM (kontrol) tuz kombinasyonundan elde edilmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 15.04.2019

Kabul Tarihi : 05.07.2019

Anahtar Kelimeler

Triticale
Gibberellik Asit (GA3)
Çimlenme
Tuz Stresi

Effect of Salt Stress (NaCl) in the Triticale (*x Triticosecale* Wittmack) Applied Pretreatment of Gibberellic Acid

ABSTRACT

The research was conducted to determine the properties of gibberellic acid pre-treatments that reducing the negative effects of salt stress on the seeds germination of triticale (*x Triticosecale* Wittmack) plant under salt stress. In the study, four different gibberellic acid (0, 100, 200 and 300 ppm) and salt applications at 0, 50, 100 and 200 mM (NaCl) concentrations, a factorial experiment was conducted in completely randomized design (CRD) with four replications. In research, germination power (%), germination rate (%), germination index (%), average germination time (days), sensitivity index (%), root length (cm), stem length (cm), root fresh and dry weight (mg), shoot fresh and dry weight (mg) values were examined. According to the result of the research; when the salt concentrations increase, the germination and growth parameters of triticale were inhibited. It was seen that increasing doses of gibberellic acid pre-treatments have significant and positive effects on the germination and growth parameters of triticale seeds under salt stress. The best germination properties of triticale seeds were obtained from 300 ppm gibberellic acid + 0 mM (control) salt combination.

Research Article

Article History

Received : 15.04.2019

Accepted : 05.07.2019

Keywords

Triticale
Gibberellic Acid (GA3)
Germination
Salt Stress

GİRİŞ

Tarımsal üretimde kalite ve verimi kısıtlayan bir çok ekolojik faktör bulunmaktadır. Bu kısıtlayıcı faktörlerin elemine edilmesinde ilk adım iyi bir tohum yatağı ve çimlenme şartlarının sağlanmasıdır (Yıldız ve ark., 2007). Bu şartların sağlanmasında; tohum kabuğu, tohumun yaşı, dormansi, sıcaklık, nem, ışık gibi bir çok bitkisel ve çevresel faktör rol oynamaktadır (Hartmann ve ark., 1990; De Villiers ve ark., 1994; Khan ve Ungar, 1997). Bitkiler açısından çevresel faktörlere karşı en hassas oldukları dönem çimlenme, çıkış ve erken fide dönemidir. Bu çevresel faktörlerin tamamına stres faktörleri denir. Bu faktörlerin bitki üzerindeki etkileri çoğu zaman tek tek ya da birlikte ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle kaynağına göre abiyotik ve biyotik olmak üzere iki başlıkta incelenmektedir (Anonim, 2015). Bu çalışmada ele alınan abiyotik stres faktörlerinden birisi de tuzluluktur (Yılmaz ve ark., 2011). Topraktaki tuzluluk probleminin kısa vadede çözülemediği durumlarda izlenmesi gereken en temel yaklaşım tuza dayanıklı türlerin belirlenmesidir (Kara ve ark., 2011). Özellikle basınçlı sulama sistemlerinin yetersiz olduğu bölgelerde uygulanan vahşi sulama uygulamaları bu problemin büyümesine neden olmuştur. Dünya üzerinde sulu tarım alanlarının yaklaşık 1/3'lik kısmında (950 milyon/ha), ülkemizde ise 1.5-2 milyon hektarda bu tehlikenin olduğu tahmin edilmektedir. En başta buğday tarımının yapıldığı bölgeler olmak üzere bozuk drenaj ve yanlış sulama sistemlerinin kullanıldığı yerlerde çok acil tedbir alınması gerekmektedir. Bu yanlış uygulamanın sonucu olarak topraklarımızda alkalilik ve tuzluluk problemi ortaya çıkmıştır. Toprakta oluşan tuzluluk bitkilerde transpirasyon, solunum, su alımını olumsuz etkilerken, kök ve gövde gelişiminin azalmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda hormonal dengesizlik, transpirasyon bozukluğu, yetersiz su ve nitrat alımını meydana gelmektedir (Leopold ve Willing, 1984; Dölarşlan ve Gül, 2012). Bir diğer problem ise tuzlu topraklarda bulunan Na⁺ ve Cl⁻ iyonları nedeniyle oluşan toksik etkiler ve iyon dengesinin bozulmasıdır. (Siegel ve ark., 1980; Flowers ve Yeo, 1981; İnal ve ark., 1995).

Bu amaçla çeşitli bitkilerde yürütülecek araştırmalarla bu zararın bitkiler üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi gerekmektedir. (Gupta ve Srivastava, 1989; Pessarkli ve ark., 1991; Van Hoorn 1991). Bu nedenle tuza dayanıklılığın belirlenmesinde çeşitlere ait tohumların tuzlu ortamlarda bekletilerek çimlenme kriterleri üzerine etkileri dikkate alınır (Begum et al., 1992). Tuzluluk çalışmalarında en fazla bitkilerin çimlenme ve fide gelişim dönemleri incelenmiştir. Bunun temel sebebi ise bitkilerin erken çimlenme ve fide dönemlerinin tuzluluğa dayanıklılık bakımından en hassas dönem olmasıdır (Shannon,

1984). Ayrıca her bitkinin tuza tolerans eşiği de dönemsel olarak farklılık göstermektedir (Shannon,1985). Bitkisel üretimde verimliliği sınırlayan tuzluluk probleminden kaynaklı verim kayıplarını en aza indirecek uygun çeşitlere ve uygulamalara ihtiyaç duyulmaktadır (Şenay ve ark., 2005). Bitkisel üretimde ekilen tohumlarda çimlenmeyi hızlandırarak homojen çıkış yapmayı sağlayacak çeşitli araştırmalar yürütülmektedir (Duman ve Eşiyok, 1998). Bu amaçla Primining uygulamaları (katlama, suda ıslatma, asitle aşındırma, büyüme gelişme düzenleyicileri ve hormonlarla muamele vb.) yapılmaktadır. (Ercişli ve ark., 1999; Yıldız ve ark., 2017). Bunların içerisinde hormonlar ve özellikle de GA3 (Gibberellik asit) yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada tritikale tohumuna GA3 (Gibberellik asit) uygulanarak tuzlu topraklardaki tuzun olumsuz etkilerinin azaltılması amaçlanmıştır (Zheng ve ark., 2009; Kayış, 2014).

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma, 2019 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Tohum Fizyolojisi Laboratuvarında Faktöriyel düzende Tesadüf Parselleri Deneme Deseni' ne göre 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Araştırmada Mikhame-2002 tritikale çeşidi Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir. Araştırmada dört farklı GA3 (0, 100, 200 ve 300 ppm) ve tuz seviyeleri (0, 50, 100 ve 200 mM NaCl) kullanılmıştır. Tritikale tohumları % 2,5 (v/v) sodyum hipoklorid ile 5 dk yüzey sterilizasyonu yapılmış ve saf sudan geçirilerek fazla nemi alınmıştır. Tohumlar 9 cm çapında steril petrilere 20 adet tohum olacak şekilde yerleştirilmiştir. Hazırlanan farklı dozlardaki NaCl solüsyonlarından (0, 50 ,100 ve 200 mM) her petriye 5 ml ilave edilmiştir. Kontrol uygulamaları için aynı miktarda saf su kullanılmıştır. Bu uygulamalar sonrasında petrilereki tohumlar 20±1 °C sıcaklık koşullarında ve 16:8 saatlik aydınlık: karanlık fotoperiyotta çimlenme ve çıkış testi için inkübatöre yerleştirilmiştir (Resim 1). Tohumlardaki başlangıç testleri ISTA (1996) kurallarına göre belirlenmiştir.

Bu çalışmada; çimlenme gücü (%), çimlenme oranı (%), çimlenme indeksi (%), ortalama çimlenme süresi (cm), hassaslık indeksi (%), kök uzunluğu (cm), gövde uzunluğu (cm), kök yaş ağırlığı (mg), kök kuru ağırlığı (mg), gövde yaş ağırlığı (mg) ve gövde kuru ağırlığı (mg) değerleri incelenmiştir. Çimlenme gücü ve çimlenme oranı tohumların 7. ve 14. günde elde edilen çimlenen tohum sayısının toplam ekilen tohum sayısına oranlanması sonucu elde edilmiştir (Akıncı ve Çalışkan, 2010). Çimlenme indeksi değeri aşağıdaki eşitlik kullanılarak elde edilmiştir.



Resim-1: Petri kaplarındaki tritikale tohumları

$\bar{Cİ} = \Sigma (Gi / Tt)$ (Wang ve ark, 2004),

Çİ: i.ci gün tohum çimlenme oranı; Tt: gün sayısı

Ortalama çimlenme süresi (OÇS) aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır, $\bar{CİS} = \Sigma (fx) / \Sigma f$

f: Çimlenen tohum sayısı; x: çimlenme günü (Ellis ve Roberts, 1980),

Hassaslık indeksi (Hi) hesaplamalarında aşağıdaki formül kullanılmıştır (Foolad ve Lin, 1997).

$H_i = \text{tuz uygulamasında OÇS} / \text{kontrol uygulamasında OÇS}$.

Kök uzunluğu, gövde uzunluğu, kök ve gövde yaş ağırlıkları, denemenin sonlandırıldığı 14. gün yapılmış, ancak kuru kök ve gövde ağırlıkları ise 70 °C sıcaklık ayarı yapılmış etütte 24 h süresince bekletilen bitkisel materyaller hassas terazide tartılarak mg olarak ifade edilmiştir.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri COSTAT (sürüm 6.3) paket programına ile verilerin çoklu karşılaştırma testleri ise Duncan testine göre yapılmıştır (Düzgüneş ve ark. 1987).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Tritikale (*Triticosecale* x Wittmack) bitkisinde GA3 ve tuz (NaCl) uygulamaları sonucu elde edilen veriler Çizelge 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre GA3 ön uygulaması sonucu tuz dozlarının ortalama çimlenme süresi dışında incelenen tüm çimlenme parametreleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek çimlenme gücü ve oranı sırasıyla % 90.6- % 69.2 olarak kontrol uygulamalarından elde edilirken, en düşük değerler sırasıyla; % 71.9-13.6) 200 mM tuz (NaCl) konsantrasyonundan elde edilmiştir (Çizelge 1). Çalışmada gibberellik asit uygulamalarının çimlenme gücü ve oranı üzerine etkisi ise istatistiksel

olarak önemli olup, en yüksek çimlenme gücü ve oranı ise % 82.7 ve % 41.8 değerleri ile 300 ppm GA3 uygulamasından elde edilmiştir. Çimlenme oranı üzerine 200 ve 300 ppm GA3 uygulamaları arasında istatistiksel bir farklılığın olmadığı aynı duncan grubunda yer aldığı Çizelge 1'de görülmektedir. Her iki parametrenin kontrol uygulamalarında bu değerlerin en düşük olduğu görülmektedir. (% 77.7-35.4). Çalışmamız ile benzer bulguların elde edildiği araştırma sonuçları incelendiğinde; gibberellik asit dozları artmasının çimlenme özellikleri üzerinde tuzun tersine yönünde bir etkiye neden olduğu belirlenerek tuz stresine maruz bırakılan tohumlardaki çimlenme gücü ve oranının artan dozlarla paralel olarak azaldığını belirtmişlerdir. (Sharma ve ark. 2004; Khan ve ark. 2005; Kızılgeci ve ark. 2010).

Çalışmada, ortalama çimlenme süresi üzerine GA3 uygulamalarının etkisi istatistiksel olarak olumlu ve önemli (P<0.01) bulunmuştur (Çizelge 1). Artan GA3 dozlarına bağlı olarak tohumlarda ortalama çimlenme süresinin kısaldığı tespit edilmiştir. En uzun ortalama çimlenme süresi 4.8 gün ile kontrol uygulamalarından elde edilirken en kısa çimlenme süresi 3.7 gün ile 300 ppm GA3 dozundan tespit edilmiştir. Benzer araştırmalarda bazı bitki tohumları GA3 ön uygulamasına tabi tutulduğunda artan dozlarla bağlı olarak ortalama çimlenme süresinin kısaldığını tespit etmişlerdir (Topçu ve ark., 2016; Öztürk ve ark., 1994; Ghoulam ve Fores, 2001; Gulzar ve Khan, 2002; Çavuşoğlu ve ark., 2007).

Araştırmada, çimlenme indeksi üzerine tuz ve GA3 uygulamalarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. (Çizelge 1).

Tuz uygulamaları bakımından en yüksek çimlenme indeksi değeri % 8.36 ile kontrolden, en düşük çimlenme indeksi değeri ise (% 4.02) 200 mM

konsantrasyonundan elde edilmiştir. 100 and 200 mM tuz dozları aynı duncan grubunda yer almaktadır. Gibberellik asit uygulamaları bakımından en yüksek Çimlenme indeksi değeri (% 6.62) 300 ppm GA3 dozundan elde edilirken, diğer tüm GA3 uygulamaları ile aynı duncan grubunda yer aldığı Çizelge 1' de

görülmektedir. En düşük Çimlenme indeksi değeri ise kontrol (% 5.55) dozundan elde edilmiştir. Yuonesi and Moradi (2015) tarafından buğdayda yapılan bir çalışmada GA3 ön uygulamalarına tabi tutulan tohumların bitki gelişimi üzerinde olumlu ve önemli katkı sağladığı belirtilmiştir.

Çizelge 1. Gibberellik asit uygulamasına tabi tutulan tritikale (*xTriticosecale* Wittmack) tohumlarında tuz stresinin çimlenme özellikleri üzerine etkisi

Stres Uygulamaları		Çimlenme Gücü (%)	Çimlenme Oranı (%)	Ortalama Çimlenme Süresi (gün)	Çimlenme İndeksi (%)	Hassaslık İndeksi (%)
Tuz Dozları	GA3					
Kontrol (T ₀)	GA ₀	89.0	68.3	3.2	7.93	-
	GA ₁₀₀	90.0	68.5	2.4	8.05	1.02
	GA ₂₀₀	90.2	70.0	1.4	8.25	1.05
	GA ₃₀₀	93.3	70.2	1.2	9.21	0.95
T ₀ Ortalama		90.6 A	69.2 A	2.1	8.36 A	0.75 B
50 mM (T ₅₀)	GA ₀	78.8	36.5	4.2	6.32	1.23
	GA ₁₀₀	80.6	37.7	4.2	5.98	1.15
	GA ₂₀₀	80.5	45.9	3.8	6.35	1.10
	GA ₃₀₀	88.2	53.2	3.5	6.87	1.08
T ₅₀ Ortalama		80.1 B	43.3 B	3.9	6.38 B	1.14 A
100 mM (T ₁₀₀)	GA ₀	73.0	25.6	5.5	4.12	1.32
	GA ₁₀₀	74.5	27.4	5.3	5.78	1.25
	GA ₂₀₀	74.6	27.4	5.0	4.65	1.12
	GA ₃₀₀	75.5	27.8	4.5	5.45	1.10
T ₁₀₀ Ortalama		74.4 C	27.1 C	5.1	5.00 C	1.19 A
200 mM (T ₂₀₀)	GA ₀	70.1	11.2	6.2	3.85	1.29
	GA ₁₀₀	70.2	11.9	5.7	4.05	1.08
	GA ₂₀₀	73.4	15.4	5.6	3.25	0.98
	GA ₃₀₀	74.0	15.8	5.5	4.95	0.85
T ₂₀₀ Ortalama		71.9 C	13.6 D	5.8	4.02 C	1.05 A
GA ₃ Doz Ort.	GA ₀	77.7 D	35.4 B	4.8 A	5.55 B	0.96 B
	GA ₁₀₀	78.8 C	36.4 B	4.4 A	6.00 A	1.15 A
	GA ₂₀₀	79.7 B	39.7 A	3.9 B	5.70 A	1.06 A
	GA ₃₀₀	82.7 A	41.8 A	3.7 B	6.62 A	1.00 B
CV (%)		14.7	12.5	6.8	7.9	10.8

GA: Gibberellik asit, GA₀: Kontrol dozu T₀: Kontrol Tuz Dozu

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

** Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark önemsizdir (%5).

Hassaslık indeksi üzerine tuz ve GA3 uygulamalarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek hassaslık indeksi değeri (% 1.19) 100 mM tuz uygulamasından elde edilirken diğer tuz uygulamaları ile aralarında istatistiksel bir farklılığın olmadığı görülmektedir (Çizelge 1). En düşük hassaslık indeksi değeri ise (% 0.75) kontrol uygulamalarından elde edilmiştir. Gibberellik asit dozları bakımından en yüksek hassaslık indeksi değeri (% 1.15) 100 ppm GA3 uygulamalarından elde edilirken, 200 ppm GA3 uygulamaları ile aynı duncan grubunda yer aldığı görülmektedir (Çizelge 1). En düşük değer ise (% 0.96) kontrolden elde edilerek 300 ppm GA3 dozu ile aynı duncan grubunda yer almıştır. Benzer araştırmalarda olduğu gibi çimlenme indeksi gibi hassaslık indeksi değerleri de artan tuz dozlarına karşı çimlenme özellikleri üzerine olumlu ve önemli

derecede etkili olmuştur (Younesi and Moradi (2015)). Kök uzunluğu üzerine GA3 ve tuz dozları uygulamaları ile GA3 x Tuz interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 2). Tuz uygulamaları bakımından en yüksek kök uzunluğu (2.43 cm) 50 mM tuz konsantrasyonlarından elde edilirken control ile aynı grup içerisinde yer almıştır. En düşük kök uzunluğu değeri (1.26 cm) ile 200 mM tuz uygulamalarından elde edilmiştir. Ancak 100 mM tuz uygulamaları ile aynı duncan grubundadır. Gibberellik asit ön uygulamaları bakımından; en yüksek kök uzunluğu 5.40 cm ile 300 GA3 dozundan elde edilirken en kısa kök uzunluğu 0.77 cm ile 100 ppm GA3 dozundan elde edilmiştir. Kontrol ve 200 ppm GA3 uygulamaları ile aralarında istatistiksel bir farklılığın olmadığı Çizelge 2' de görülmektedir. Tuz x

GA3 interaksyonunu yönünden en fazla kök uzunluğu 7.44 cm ile 300 ppm GA3 ve tuzun kontrol uygulamasından elde edilmiştir. Ancak, 300 ppm GA3 ve 50 mM tuz uygulamaları ile aynı duncan grubundadır. Yüksek dozlarda tuzluluğa maruz kalan bitkilerde osmotik basıncın yüksek olmasından dolayı tohumların su absorbe etme kabiliyetlerinde azalmalar meydana gelmektedir. . Düşük tuz dozlarında , kök uzunluğunun azaldığını tespit etmişlerdir (Kızılgöçü ve ark., 2010). Kök uzunluğu bu bakımdan önemli olmakla beraber tuza dayanıklılık ıslahında bir seleksiyon kriteri olarak değerlendirilmektedir (Atak ve ark., 2006; Saboor ve Kriarostami 2006).

GA3 ve NaCl uygulamaları ile GA3 X Tuz interaksyonunun gövde uzunluğu üzerine etkileri istatistiksel önemli bulunmuştur (Çizelge 2). Tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak en uzun gövde uzunluğu (7.34 cm) 50 mM tuz dozundan, en kısa gövde uzunluğu ise 2.21 cm (200 mM) olarak

ölçülmüştür. GA3 uygulamaları açısından en uzun gövde boyu (8.03 cm) 300 ppm GA3' ten ve en az gövde boyu (0.33 cm) kontrolden sağlanmıştır. GA3 x tuz interaksyonu yönünden ise, en uzun gövde boyu (10.77 cm) GA300 x 0 mM uygulamalarından elde edilmiştir. 100, 200 ve 300 ppm GA3 ile 50 mM tuz uygulamaları bakımından istatistiksel bir farklılık gözlemlenmemiştir (Çizelge 2). Artan tuz konsantrasyonları ile bitkilerin ilk gelişim dönemlerinin inhibe edildiği belirlenmiştir (Sadat Noori ve McNeilly, 2011). Bu çalışmada, tuzun gelişim parametrelerini baskılayıcı özelliğine rağmen artan gibberellik asit dozlarının fide büyümesi üzerine olumlu etkide bulunduğu tespit edilmiştir.

Ortalamalar arasındaki fark Duncan çoklu karşılaştırma metoduyla $P<0.05$ ve $P>0.01$ seviyesinde değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre yaş ve kuru kök ağırlıkları üzerine GA3 ve tuz (NaCl) uygulamaları ile GA3 x Tuz interaksyonu istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 2).

Çizelge 2. Gibberellik asit ön uygulamasına tabi tutulan tritikale (*xTriticosecale* Wittmack) tohumlarında tuz stresinin çimlenme özellikleri üzerine etkisi

Stres Uygulamaları		Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Yaş kök ağırlığı (mg)	Yaş gövde ağırlığı (mg)	Kuru kök ağırlığı (mg)	Kuru gövde ağırlığı (mg)
Kontrol (T ₀)	GA ₀	0.36 d	1.34 d	0.00 c	2.00 c	0.00 b	0.01 d
	GA ₁₀₀	0.11 d	4.45 b	1.00 c	9.00 c	0.02 b	0.03 d
	GA ₂₀₀	1.31 c	8.56 b	5.00 b	25.00 b	0.04 b	6.54 c
	GA ₃₀₀	7.44 a	10.77 a	36.00 a	85.00 a	3.20 a	22.20 a
T ₀ Means		2.31 A	6.28 B	10.05 B	30.25 A	0.81 A	7.19 A
50 mM (T ₅₀)	GA ₀	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 d
	GA ₁₀₀	1.58 c	8.94 a	5.00 b	15.00 b	0.03 c	0.03 d
	GA ₂₀₀	1.57 c	10.26 a	29.00 a	29.00 b	1.70 b	3.90 c
	GA ₃₀₀	6.57 a	10.17 a	35.00 a	77.00 a	3.60 a	19.20 a
T ₅₀ Means		2.43 A	7.34 A	17.25 A	30.25 A	1.33 A	5.80 B
100 mM (T ₁₀₀)	GA ₀	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 d
	GA ₁₀₀	0.50 d	3.97 c	4.00 b	13.00 b	0.01 b	0.02 d
	GA ₂₀₀	0.66 d	4.35 b	4.00 b	14.00 b	0.01 b	0.02 d
	GA ₃₀₀	4.79 b	8.47 b	35.00 a	42.00 a	3.30 a	11.20 b
T ₁₀₀ Means		1.48 B	4.19 C	10.75 B	17.25 B	0.83 A	2.81 C
200 mM (T ₂₀₀)	GA ₀	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 b	0.00 d
	GA ₁₀₀	0.92 d	2.52 c	2.00 c	6.00 c	0.00 b	0.01 d
	GA ₂₀₀	1.31 c	3.61 c	5.00 b	17.00 a	0.01 b	0.02 d
	GA ₃₀₀	2.82 c	2.71 c	15.00 b	13.00 c	0.03 a	0.03 a
T ₂₀₀ Means		1.26 B	2.21 D	5.50 C	9.00 C	0.02 B	0.02 D
GA3 Doz Ort.	GA ₀	0.90 B	0.33 C	0.00 B	0.05 B	0.00 C	0.00 C
	GA ₁₀₀	0.77 B	5.06 B	3.00 B	10.75 B	0.02 B	0.03 C
	GA ₂₀₀	1.21 B	6.69 B	9.75 B	21.25 B	0.44 B	2.62 B
	GA ₃₀₀	5.40 A	8.03 A	30.25 A	54.25 A	2.53 A	13.20 A
CV (%)		11.6	13.2	9.1	9.3	6.2	13.7

GA: Gibberellik asit, GA₀: Kontrol dozu, T₀: Kontrol tuz dozu

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

** Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark önemsizdir (%5).

En yüksek yaş ve kuru kök ağırlıkları sırasıyla 17.25 ve 1.33 mg ile 50 mM (NaCl) uygulamalarından elde edilirken, en düşük değerler ise (5.50, 0.02 mg) 200 mM tuz (NaCl) konsantrasyonu uygulamalarından elde edilmiştir. Çalışmamız ile benzer sonuçların elde edildiği başka bir araştırmada, artan tuz konsantrasyonlarının yaş ve kuru kök ağırlıklarını azalttığı tespit edilmiştir. (Kızılgücü ve ark., 2010). Gibberellik asit uygulamaları bakımından en yüksek yaş ve kuru kök ağırlıkları (15.0 ve 0.03 mg) 300 ppm GA3 uygulamalarından elde edilirken, en düşük değerler 0.0 mg olarak kontrolden sağlanmıştır. Ancak kuru kök ağırlığı bakımından 300 ppm GA3 hariç diğer tüm uygulamalar aynı grupta yer almıştır. GA3' ün 0 ppm dozunda ise yaş ve kuru kök ağırlığı ölçülemezdir. Bu sonuçlara göre gibberellik asitin çimlenme üzerindeki etkisinin değerli olduğu düşünülmektedir. GA3 x Tuz interaksyonları bakımından en yüksek yaş ve kuru kök ağırlıkları (36.0 ve 3.60 mg ile kontrol ve T50 tuz dozlarının 300 ppm GA3 ön uygulamalarından elde edilmiştir. yaş kök ağırlığı interaksyonunda 50 ve 100 mM tuz dozunda 200 ve 300 GA3 uygulamaları ile aynı Duncan grubunda iken, kuru kök ağırlığı bakımından ise 50, 100 ve 200 mM tuz uygulaması ile 300 ppm GA3 uygulamaları aynı Duncan grubundadır. Araştırmamızda elde edilen sonuçlara göre GA3 uygulamalarının yaş ve kuru kök ağırlığını nispeten artırdığı görülmüştür. Shahzad ve ark., (2012), yerel ekmeleklik buğday çeşitleri ile yürüttükleri bir çalışmada; tuzun yaş ve kuru kök ağırlığını azalttığını belirtmişlerdir. Yaş ve kuru kök ağırlıkları önemli bir parametre olup, klasik ve modern ıslah metodları ile oluşturulacak gen havuzlarında ıslah materyali seçiminde kullanılabilir.

Araştırma sonucunda elde edilen verilere göre; yaş ve kuru gövde ağırlıkları üzerine tüm uygulama faktörleri ve interaksyonlarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 2). En yüksek yaş ve kuru gövde ağırlıkları sırasıyla 30.25 ve 7.19 mg ile kontrolden elde edilirken, en düşük değerler ise (9.00, 0.02 mg) 200 mM tuz (NaCl) konsantrasyonlarından elde edilmiştir. Yaş gövde ağırlığı bakımından kontrol ile 50 mM tuz uygulamaları arasında istatistiksel bir farklılık görülmemektedir (Çizelge 2). Artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak yaş ve kuru gövde ağırlıklarının azaltıldığına dair araştırmacı bulguları (Kızılgücü ve ark., 2010; Öztürk ve ark., 1994) ile çalışma sonuçlarımız benzerdir. Gibberellik asitin dozları bakımından en yüksek yaş ve kuru kök ağırlıkları (17.0 ve 0.03 mg) sırasıyla 200 ve 300 ppm GA3' ten elde edilirken, hiçbir verinin alınmadığı kontrol uygulamalarından en olumsuz sonuçlar elde edilmiştir. Yağ gövde ağırlığı için kontrol, 100 ve 200 ppm GA3 uygulamaları aynı duncan grubunda yer almıştır. GA3 ve Tuz interaksyonu bakımından ise

en yüksek değerler sırasıyla; 85.0 ve 22.20 mg olarak kontrol (NaCl) ve 300 ppm GA3 uygulamalarından elde edilmiştir. Yaş gövde ağırlığında kontrol uygulamaları ile 50 ve 100 mM tuz ve 300 ppm GA3 dozu aynı grupta, kuru gövde ağırlığında ise kontrol ile 50 mM tuz ve 300 ppm GA3 uygulamaları aynı Duncan grubunda yer almıştır. en mli olup, en yüksek yaş ve kuru kök ağırlıkları 54.25 ve 13.20 mg ile 300ppm uygulamasından elde edilmiştir. En düşük değerler ise 0.05 ve 0.00 mg ile 0 ppm dozundan tespit edilmiştir. Tritikale tohumları üzerine tuz x GA3 interaksyonlarında istatistiksel olarak önemli çıkmıştır. En yüksek yaş ve kuru gövde ağırlıkları 85.00 ve 22.20 mg ile 0 mM ve 300 ppm GA3 kontrasyonundan elde edilmiştir. Tuz dozlarının 50, 100 ve 200 nM ile 0 ppm GA3 uygulamalarından yaş ve kuru gövde ağırlıkları çok düşük çıktığından dolayı ölçülemezdir. Benzer araştırmalarda artan tuz konsantrasyonlarının bitkilerde yaş ve kuru gövde ağırlıklarını azalttığı belirtilmiştir (Muhammad ve Hussain 2012; Akbari ve ark., 2007).

SONUÇ

Bu araştırma sonucuna göre, tritikale tohumlarında GA3 ön uygulamalarının artan tuz (NaCl) dozlarına karşı önemli ve olumlu etkisinin olduğu görülmüştür. Bitkinin çimlenme özelliklerine ait tüm parametrelerde tuz stresinin fizyolojik baskısı somut olarak tespit edilmiştir. Özellikle yüksek tuz konsantrasyonlarında su alınımları inhibe edilmiş ve enzimatik aktivitelerin yavaşlamasına bağlı olarak büyüme gelişiminin gerilediği görülmüştür. Tuz dozlarının baskılayıcı bu etkisine karşı GA3 ön uygulamalarının çimlenme özellik ve parametreleri üzerinde olumlu ve önemli katkı sağladığı görülmüştür. Sonuç olarak; en iyi sonuçların; 0 mM (kontrol) tuz konsantrasyonunda 300 ppm GA3 ön uygulamalarından elde edilmiştir. Tritikale tohumlarına GA3 ön uygulamalarının tuzun (NaCl) çimlenme üzerindeki etkilerini hafiflettiği tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Anonim 2015. Bitkilerde Stress. (www.agri.ankara.edu.tr/fcrops/1289__Bitkilerde_Stres.pdf). (Erişim tarihi 15.05.2015).
- Akbari G, Sanavy SAMM, Yousafzadeh S 2007. Effect of auxin and salt stress (NaCl) on seed germination of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L). Pak.J.Biol.Sci., 10(15): 2557-2561.
- Akinci, IE, Caliskan, U 2010. Effect of lead on seed germination and tolerance levels in some summer vegetables. Ekoloji Dergisi, 19: 164-172.
- Atak M, Kaya MD, Kaya G, Kılıç, Çiftci CY 2006. Effects of NaCl on the germination, seedling growth and water uptake of triticale. Turkish J. Agric. Foresty, 30: 39-47.
- Begum F, Karmoker JL, Fattah QA, Maniruzzaman

- AFM 1992. The effect of salinity and Its correlation with K⁺, Na⁺, Cl accumulation in germinating seeds of *Triticum aestivum* L. cv. Akbar. *Plant Cell Physiol*, 33 (7): 1009-1114.
- Çavuşoğlu K, Kılıç S, Kabar K 2007. Arpa tohumlarının çimlenmesi sırasında giberellik asit, kinetin ve etilen ile tuz stresinin hafifletilmesinde bazı morfolojik ve anatomik gözlemler. *SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi (E-Dergi)*, 2(1): 27-40.
- Demircioğlu G, Çelen AE, Kuru E, Özkan ŞS 2016. Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Kamışsı Yumak (*Festuca arundinacea*) ve Mavi Ayrık (*Agropyron intermedium*) Bitkilerinin Çimlenme ve Erken Gelişme Dönemindeki Etkileri Üzerine Araştırma, Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 2016, 25 (Özel Sayı-2):219-224.
- Dölarıslan M, Gül E 2012. Toprak bitki ilişkileri açısından tuzluluk. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5 (2): 56-59.
- Duman İ, Eşiyok D 1998. Ekim öncesi PEG ve KH₂PO₄ uygulamalarının havuç tohumlarının çimlenme ve çıkış oranı ile verim üzerine etkileri. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 22: 445-449.
- Düzgüneş O, Kesici T, Kavuncu O, Gürbüz F 1987. Research and experimental methods. *Statistical Methods-II*. Ankara University, Agr. Fac. Press, 1:1021-1295.
- Ellis RH, Roberts EH 1980. Towards a rational basis for testing seed quality. In *Seed Production* (Ed: P.D. Hebbleth waite), 1: 605-635.
- Ercişli S, Eşitken A, Güleriyüz M 1999. The effect of vitamins on the seed germination of apricots. *Acta Hort.*, 488: 437-440.
- Flowers TJ, Yeo AR 1981. Variability in the resistance of sodium chloride salinity within rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *New Phytology*, 88: 363-373.
- Foolad MR, Lin GY 1997. Genetic potential for salt tolerance during germination in *Lycopersicon* species. *Hort. Science*, 32: 296-300.
- Ghoulam C, Fores K 2001. Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Seed Science Technology*, 29:357-364.
- Gupta SC, Srivastava JP 1989. Effect of salt stress on Morpho Physiological parameters in wheat. *Indian J. Plant Physiol*, 32 (2): 169-171.
- Gulzar S, Khan MA 2002. Alleviation of salinity-induced dormancy in perennial grasses. *Biologia Plantarum*, 45(4): 617-619.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies FT 1990. Plant propagation. principles of propagation by seed. 1:647.
- ISTA 1996. International rules for seed testing, Edition 1996/6. International Seed Testing Association, Zurich. Switzerland, 196 p.
- İnal A, Güneş A, Aktaş M 1995. Effects of chloride and partial substitution of reduced forms of nitrogen for nitrate in nutrient solution of the nitrate, total nitrogen and chlorine contents of onion. *Journal of Plant Nutrition*, 18: 2219-2227.
- Kara B, Akgün İ, Altındal D 2011. Tritikale genotiplerinde çimlenme ve fide gelişimi üzerine tuzluluğun (NaCl) etkisi. *Selçuk Gıda ve Tarım Bilimleri Dergisi*, 25 (1):1-9.
- Kayış SU 2014. Bazı mercimek (*Lens culinaris* Medic.) çeşitlerinin çimlenme ve fide dönemi tuza toleransı. *Konya Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı* 54s.
- Khan MA, Ungar IA 1997. Effects of light, salinity and thermoperiod on the seed germination of halophytes, *Can. J. Botanic*, 75: 835-541.
- Khan BA, Khan AN, Khan TH 2005. Effect of salinity on the germination of fourteen wheat cultivars. *Gomal University Journal of Research*, 21: 31-33.
- Kızılgöçü F, Yıldırım M, Akıncı C 2010. Bazı ekmeklik buğday genotiplerinin tuzluluğa tepkilerinin belirlenmesi. *Diyarbakır 1. Uluslararası Katılımlı Kamu-Üniversite-Sanayi İşbirliği Sempozyumu ve Mermercilik şurası*, 24-26 Mayıs 2010: 301-307s.
- Leopold AC, Willing RP 1984. Evidence of toxicity effects of salt on membranes. In: *Salinity Tolerance in Plants*, (eds. R.C. Staples and G.H. Toenniessen), pp. 67-76.
- Muhammad Z, Hussain F 2012. Effect of NaCl salinity on the germination and seedling growth of seven wheat genotypes. *Pak. J. Botanic* 44(6): 1845-1850.
- Özkaldı A, Boz B, Yazıcı V 2004. GAP'ta drenaj sorunları ve çözüm önerileri. *Sulanan Alanlarda Tuzluluk Yönetimi Sempozyumu*, 20-21 Mayıs 2014, Ankara, s: 97-105.
- Öztürk M, Gemici M, Özdemir F, Keyikçi . 1994. Tohum çimlenmesi olayında bitkisel hormonların ve çimlenme simülatörünün tuz stresini azaltmadaki rolü. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Edirne, s. 44-48.
- Pessarakli M, Tucker TC, Nakabayashi K 1991. Growth response of barley and wheat to salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 14(4): 331-340.
- Saboora A, Kriarostami K 2006. Salinity (NaCl) tolerance of wheat genotypes at germination and early seedling growth. *Pakistan J. of Bio. Sci.*, 9(11): 2009-2021.
- Sadat Noori SA, McNeilly T 2000. Assessment of variability in salt tolerance based on seedling growth wheat (*Triticum durum* Desf.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47:285-291.
- Sharma AD, Thakur M, Rana M, Singh K 2004. Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphoaphatase activities in *Sorghum bicolor* (L.)

- moench seeds. Afr. J. Biotechnol., 3: 308-312.
- Shannon MC 1984. Breeding selection and the genetics of salt tolerance. Salinity Tolerance in Plant Strategies for Crop Improvement. A Wiley-Interscience Pub., 231-254.
- Shannon MC 1985. Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. Plant and Soil, 89: 227-241.
- Siegel SM, Siegel BZ, Massey J, Lahne P, Chen J 1980. Growth of corn in saline water. Physiology Plant, 50: 71-73
- Şenay A, Kaya MD, Atak M, Çiftçi CY 2005. Farklı tuz konsantrasyonlarının bazı ekmeklik buğday çeşitlerinin çimlenme ve fide gelişimi üzerine etkileri. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 14.(1-2): 50-55.
- Van Hoorn JW 1991. Development of soil salinity during germination and early seedling growth and its effect on several crops. Agricultural Water Management. 20:17-28.
- Wang YR, Yu L, Nan ZB, Liu YL 2004. Vigor tests used to rank seed lot quality and predict field emergence in four forage species. Crop Sci., 44 (2):535-541.
- Villiers DE, Van Rooyen AJ, Theron MW, Van De DK, Venter HA 1994. Germination of three Namaqualand pioneer species, as influenced by salinity, temperature and light, Seed Sci. Technology, 22: 427-433.
- Yıldız S, Karagöz FP, Dursun A 2017. Giberellik asit ön uygulamasına tabi tutulmuş hüsnüyusuf (*Dianthus barbatus* L.) tohumlarının tuz stresinde çimlenmesi. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 48 (1): 1-7.
- Yıldız M, Kasap E, Konuk M 2007. Tuzluluk sıcaklık ve ışığın tohum çimlenmesi üzerine etkileri. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 7(1): 225-243.
- Yılmaz E, Tuna M, Bürün B. 2011. Bitkilerin tuz stresi etkilerine karşı geliştirdikleri tolerans stratejileri. C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, 7(1): 47-66.
- Yıldız S, Karagöz FP, Dursun A 2017. Giberellik asit ön uygulamasına tabi tutulmuş hüsnüyusuf (*Dianthus barbatus* l.) tohumlarının tuz stresinde çimlenmesi. Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi, 48 (1): 1-7.
- Younesi O, Moradi A (2015). Effect of different priming methods on germination and seedling establishment of two medicinal plants under salt stress conditions. Cercetari Agronomice în Moldova 48(3): 43-51.
- Zheng C, Jiang D, Liu F, Dai T, Liu W, Jing Q, Cao W 2009. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. Environment Exp., Bot., 67: 222-227.

Biberiye Ekstraktlarının Buğday Çimlenmesi ve Tahıl Depo Zararlıları Üzerine Etkileri

Cennet YAMAN¹, Şeyda ŞİMŞEK²

¹Bozok Ünv., Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Yozgat, ²Bozok Ünv., Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Yozgat

¹<https://orcid.org/0000-0002-2364-8171>, ²<https://orcid.org/0000-0002-0096-8949>

✉: cennet.yaman@bozok.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ekstraktlarının depolanmış önemli bir tahıl olan buğday (*Triticum aestivum* L.) tohumlarının çimlenmesi üzerindeki fitotoksik etkisi ve tahıl zararlıları olan *Sitophilus oryzae* (L.) ve *Rhyzopertha dominica* (F.) türleri üzerindeki insektisidal aktiviteleri araştırılmıştır. Biberiye bitkisinin yaprak kısımlarından ekstrakt elde edilmesi için farklı çözücüler (etanol, metanol ve aseton) kullanılmış ve en yüksek ekstrakt verimi %10.5 ile aseton çözücüsünden elde edilmiştir. Aseton ekstraktının 250 µg/ml (A₂₅₀) ve 500 (A₅₀₀) µg/ml konsantrasyonları buğday tohumlarının çimlenmesinde en yüksek değere (sırasıyla %96.7 ve %95.6) sahip olurken, kontrol (%98.9) uygulamaları ile aralarında istatistiki fark olmadığı tespit edilmiştir. Hatta A₂₅₀ ekstraktı (85±0.6 mg) ile kontrol (92±0.6 mg) uygulamalarında istatistiki olarak en yüksek bitki taze ağırlığı saptanmıştır. Tüm ekstraktlar buğday bitkisinin radikula ve plumula uzunlukları üzerinde negatif etkiye sahip olmuştur. Biberiye ekstraktlarının artan konsantrasyonları tüm parametrelerde negatif etkiyi artırmıştır. Ayrıca ekstraktların depo tahıl zararlısı türler üzerindeki insektisidal etkisi incelendiğinde, 72 saat sonunda en yüksek değer *R. dominica* için aseton ekstraktında (%68.33), *S. oryzae* için ise etanol ekstraktında (%58.33) bulunmuştur. Sonuç olarak, biberiye ekstraktlarının depolanmış tahıl zararlılarının mücadelesinde kullanılabilceği tartışılmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 03.04.2019

Kabul Tarihi : 11.09.2019

Anahtar Kelimeler

Rosmarinus officinal
Sitophilus oryzae
Rhyzopertha dominica
Fitotoksisite
Buğday

The Effects of Rosemary Extracts on Wheat Germination and Grain Storage Pests

ABSTRACT

In this study, the phytotoxic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts on the germination of wheat (*Triticum aestivum* L.) and insecticidal effects on the *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Sitophilus oryzae* (L.) species were investigated. Different solvents (ethanol, methanol and acetone) were used to obtain extract from leaves of rosemary, and the highest extract yield was obtained from acetone solvent with 10.5%. The 250 µg / ml (A₂₅₀) and 500 (A₅₀₀) µg/ml concentrations of acetone extract sustained the highest seed germination of wheat as 96.7% and 95.6%, respectively, and there was no statistical difference between the controls (98.9%). In addition, control (92±0.6 mg) and A₂₅₀ extract (85±0.6 mg) resulted in the highest fresh weight of wheat statistically. All the extracts had a negative effect on the radicle and plumula length of wheat. Moreover, as efficacy of the extracts on stored grain pests was examined, after 72 hours exposure. The highest mortality was found as 68.33% in acetone extract for *R. dominica*, whereas this ratio was 58.33% in ethanol extract for *S. oryzae*. In conclusion, it was seen that rosemary extracts can be used in controlling the pests of stored grains.

Research Article

Article History

Received : 03.04.2019

Accepted : 11.09.2019

Keywords

Rosmarinus officinal
Sitophilus oryzae
Rhyzopertha dominica
Phytotoxicity
Wheat

GİRİŞ

Buğdaygiller (Poaceae) familyasının üyesi olan buğday (*Triticum aestivum* L.), kültür bitkileri içerisinde insan beslenmesinde yer alan, dünyada ekiliş alanı ve üretimi bakımından önemli bir yere sahip olan bir bitkidir. Göstermiş olduğu varyasyondan dolayı dünya genelinde yaygın olarak tarımı yapılan buğday, birçok ülkede insanların temel ihtiyaç maddelerinden biridir. Dünyada 2017 yılında 218.5 milyon hektar alanda 771.71 milyon ton buğday üretimi gerçekleşmiş olup, Türkiye’de ise 7.6 milyon hektar alanda ve 21.5 milyon ton üretim elde edilmiştir (FAO, 2019).

Tahılların üretiminden tüketimine kadar meydana gelen tüm kayıplar yetiştirme, hasat, depolama, işleme ve tüketim aşamalarında meydana gelmektedir. Bunlar içerisinde ise depodaki kayıplar önemli bir yer tutmaktadır. Bu aşamada depo zararlıları önemli oranda ürün kaybına sebebiyet vermektedir (Kumar ve Kalita, 2017). Depolama döneminde böcek zararlıları tahıllara hem niteliksel hem de niceliksel olarak zarar vermekte, bu da tohum, yiyecek veya yem için uygun olmamalarına sebep olmaktadır. Ayrıca, gıda kontaminasyonu nedeniyle gıda endüstrisi için ciddi problemler oluşturmaktadır (Rajendran, 2002). *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) ve *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) tahıl depolarında rastlanan en önemli böcek zararlıları arasındadır (Hardman, 1978).

Depolanmış tahıl zararlılarının etkin kontrolü için sentetik kimyasal pestisitler aktif olarak yıllardır kullanılmaktadır. Fakat sentetik kimyasalların memeliler için potansiyel risk oluşturması, işlenmiş ürünlerdeki kimyasal kalıntıların tüketiciler için endişe oluşturması, böcek popülasyonlarında kimyasallara karşı dayanıklılık oluşması, ekolojik dengenin değişmesi, kimyasal maliyetlerinin artışı gibi sebeplerden dolayı bilim adamları depolanmış ürün zararlılarına karşı mücadele için yeni ve doğal ürünler araştırmaya başlamıştır (Aslam ve ark., 2002; Salem ve ark., 2007; Mahdian ve Rahman, 2008). Günümüzde kimyasal böcek ilaçlarına karşı güvenli alternatiflerin kullanılmasına duyulan büyük ihtiyaç, dünyanın pek çok yerinde güçlü bir şekilde savunulmaktadır. Öncelikle çevreye ve insan sağlığına daha az zararlı ve ucuz organik kaynaklar araştırılmak istenmiştir. Özellikle son zamanlarda birçok biyolojik aktivitesi olduğu bilinen tıbbi bitkilerin insektisidal, herbisidal vb. aktivitelerine yönelik birçok araştırma yapılmış ve yapılmaktadır (Guru-Pirasanna-Pandi ve ark., 2018; Chen ve ark., 2018; Trivedi ve ark., 2018; Ito ve ark., 2018; Khan ve ark., 2019). Tıbbi bitkiler doğal ürün olmalarından dolayı daha güvenli tarım ürünleri için zemin hazırlamakta ve daha az kirliliğe neden olmaktadır (Sodaeizadeh ve ark., 2010).

Tıbbi ve aromatik bitkiler grubunda yer alan ve birçok biyolojik aktiviteye sahip olan biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.; Lamiaceae familyası), tipik olarak Akdeniz bölgesinde bulunan çok yıllık bir bitkidir (Alipour ve Saharkhiz, 2016). Antioksidan aktivitesinin yüksek olması ve geleneksel tıpta kullanılmasından dolayı insan sağlığı için şifalı bir bitki olarak bilinmektedir (Vicente ve ark., 2013; Rajendran ve ark., 2014; Ablat ve ark., 2016; Yeddes ve ark., 2018). Ayrıca biberiye ekstraktının antibakteriyel (Amaral ve ark., 2018; Keikhaie ve ark., 2018), antifungal (Ksouri ve ark., 2017; Sepehri ve ark., 2016) ve insektisidal (Isman ve ark., 2008; Pavela, 2006; Papachristos ve ark., 2004) gibi aktivitelere sahip olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.

Bu nedenle bu çalışmada, insan sağlığına zararlı olmayan doğal bir insektisit elde edebilmek amacıyla, biberiye ekstraktlarının tahıl zararlıları olan *Sitophilus oryzae* (L.) ve *Rhyzopertha dominica* (F.) türleri üzerine insektisit etkisi ile önemli bir tahıl olan buğday tohumlarının çimlenmeleri üzerine fitotoksik etkileri incelenmiştir.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Bu çalışmada Bozok Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden ekmeçlik buğday (*Triticum aestivum* L.) tohumları (Tosun bey, 2017) ve Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsünden (40°39’32 N, 29°16’55 E, 6 m) kültür olarak yetiştirilen ve ikinci yılında hasat edilen biberiye (*Rosmarinus officinalis*) bitkisinin yaprak kısımları kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan böcekler (*Sitophilus oryzae* ve *Rhyzopertha dominica*) Ankara Ziraat Araştırma Enstitüsünden alınarak Yozgat Bozok Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde stok kültürü oluşturulmuş ve denemelerde kullanılmıştır.

Ekstraksiyon

Biberiye bitkisinin yaprak kısımları gölgede kurutulup blenderda (Waring-8011 EB) öğütülmüştür. Elde edilen örneklerden 4 g tartılıp üzerine 40 ml çözücü (etanol, metanol ve aseton) eklenmiştir. Her örnek için uygulamalar 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Çözeltiler etüvde 40 °C’de 1 gün (24 saat) süre ile bekletilmiştir. Elde edilen çözeltiler santrifüj cihazında (Hettich 1401-01) toprak üstü çözeltileri 4.500 rpm’de santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısımları alınmış ve evaporatör yardımı ile organik çözücü ayrıştırılmıştır. Elde edilen ekstraktların miktarı belirlenmiş ve +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Fitotoksik Etki

Buğday tohumlarının çimlenmesi testi Dikshit ve ark. (1979) tarafından belirtilen metodu modifiye edilerek uygulanmıştır. Ekstraktlardan 250, 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyonlarda solüsyonlar hazırlanmıştır. Solüsyonlar A(250, 500, 1000) aseton ekstakları, E(250, 500, 1000) etanol ekstakları, M(250, 500, 1000) metanol ekstakları olarak ifade edilmiştir. Ayrıca kontrol olarak saf su (Kontrol 1) ve aseton (Kontrol 2) kullanılmıştır. Önceden steril edilmiş 9 cm çaplarındaki petri kaplarına steril kurutma kağıtları konulmuş ve üzerine % 15 hipoklorit (%50 NaOCl içeren HES çamaşır suyu) ile steril edilmiş tohumlardan 30 adet yerleştirilmiştir. Her bir petri kabına 5 ml örnek solüsyonlardan eklenmiş ve 48 saat boyunca petri kapları parafinli olarak tutulmuştur. Tohumlar petri kapları içinde kurutma kağıtları arasında 8 saat karanlık, 22±2 °C ve 16 saat ışıklı ortamda 27±2 °C'de iklim odasında tutularak çimlenmeye bırakılmıştır. Çimlenme oranı 24, 48, 72, 96 ve 120 saat sonunda belirlenmiştir. Kökçük (radikul)'ün 2 mm'lik çıkışı çimlendirme kriteri olarak ele alınmış ve çimlenme oranları (%) tespit edilmiştir. Ayrıca 6 günün sonunda radikula uzunluğu, plumula uzunluğu ve bitki yaş ağırlığı da ölçülmüştür. Her bir deneme 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Kontak Etki Testi

Kontak etkinin belirlenmesinde Gökçe ve ark. (2010)'nın kullandığı yöntem takip edilmiştir. Kontak etki denemelerinde, *S. oryzae* ve *R. dominica* erginleri yaş ve cinsiyet gözetmeden her bir petri kabına 10 adet olacak şekilde stok kültürlerinden transfer edilmiştir. Çalışmada metanol, etanol ve asetonla elde edilen ekstraktların %10'luk ağırlık/hacim (w/v) konsantrasyonları aseton çözücüsü ile hazırlanmıştır. Hazırlanan konsantrasyonlar mikro-aplikatör (Hamilton, Pb-600-1 Repeating Dispenser, 50 µl Gastight & Microliter Syringe), yardımıyla %10'luk ekstrakt çözeltilerinden her bir böceğe 1 µl topikal olarak böceğin ventral kısmına uygulanmıştır. Kontrolde ise böceklere aynı şekilde aseton uygulaması yapılmıştır. Deneme iki tekrarlı olmak üzere 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve her uygulamada toplamda 60 adet böcek kullanılmış, petri kabı içerisine besin (3g buğday tanesi) ilave edilerek 27±2 °C'de inkübe edilmiştir. Ölüm sayıları 24 saat arayla 3 gün boyunca kayıt altına alınmıştır.

İstatistik Analizi

Biberiye ekstraktlarının buğday tohumları üzerine fitotoksik etkileri ve *S. oryzae* ve *R. dominica* erginleri üzerindeki kontak toksisitelerinin belirlenmesi amacıyla elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Verilerin yüzde değerleri istatistiki analizden önce arcsin açı değerlerine dönüştürülerek (Snedecor ve Cochran, 1967), varyans analizine (ANOVA) tabi

tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar %5'lik önem seviyesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi ile ortaya konulmuştur (Düzgüneş ve ark., 1983). Kuru 4g biberiye bitkisinden farklı çözücülerden elde edilen ekstraktları mg cinsinden hesaplanmış ve aralarındaki farklılık %5'lik önem seviyesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi ile ortaya konulmuştur.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Ekstrakt verimi

Yapılan çalışma sonucunda biberiye ekstrakt veriminde kullanılan çözücü (metanol, etanol, aseton) türünün etkili olduğu tespit edilmiştir. En yüksek ekstrakt verimi %10.5 ile aseton çözücüsünden, en düşük ekstrakt ise verimi %9.1 ile etanolden elde edilmiş ve aralarındaki farkın (mg bazında) istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 1).

Çizelge 1. Biberiye bitkisinin farklı çözücülerdeki ekstrakt verimi

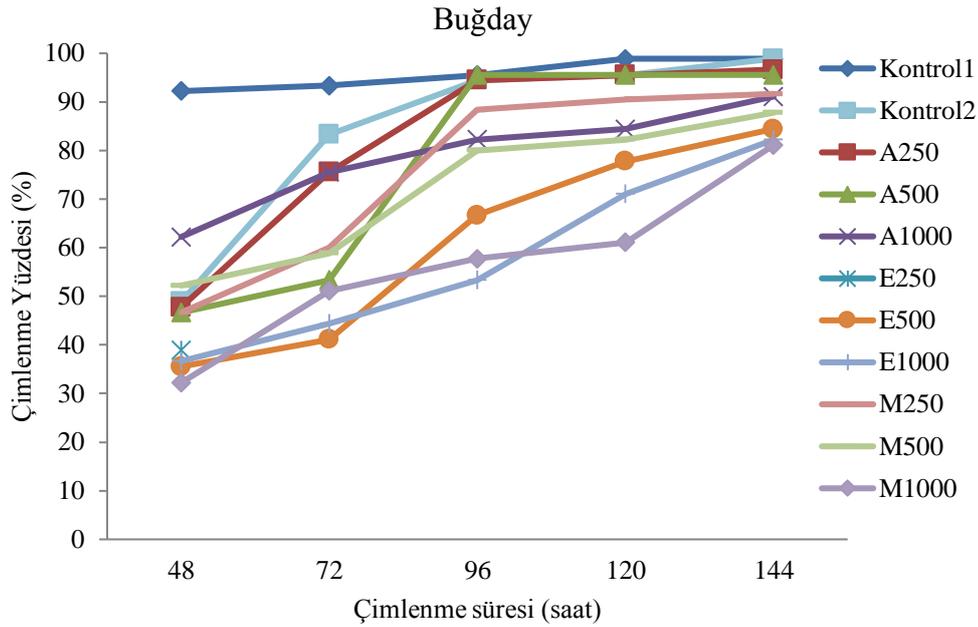
Çözücü	Ekstrakt verimi	
	Ekstrakt miktarı (mg) ¹	% Ekstrakt oranı
Aseton	0.43±0.01a	10.5
Metanol	0.39±0.01ab	9.6
Etanol	0.37±0.02b	9.1

¹4g kuru madde içerisinde mg ekstrak miktarı

Birçok araştırmacı ekstrakt verimini çözücü, sıcaklık, ekstraksiyon yöntemi, pH gibi parametrelerinin etkilediğini bildirmiştir (Lu ve ark., 2011; Prasad ve ark., 2012). Rodríguez-Rojo ve ark. (2012) yağı çıkartılmış biberiye yapraklarının etanol ekstrak verimini %2.4 olarak belirlemiştir. Sánchez-Camargo ve ark. (2014) biberiye yapraklarından %7 etanolde 40 °C ve 150 bar basınçta yüksek ekstrakt verimini %6.50 olarak tespit etmiştir. Tavassoli ve ark. (2011) biberiye yapraklarından mikrodalga fırınında %60 metanol çözücüsünde %21.5 ekstrakt verimi elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmalardan da anlaşılacağı gibi ekstraksiyon yöntemi ve çözücülerin bitki ekstraktlarının verimine oldukça etkili olduğu ve nitekim mevcut çalışmada da benzer şekilde çözücünün biberiye bitkisinin ekstrak verimine etki ettiği görülmüştür.

Biberiye ekstraktlarının buğday çimlenmesi üzerine etkisi

Biberiye bitkisinden farklı çözücü ve farklı konsantrasyonda ekstraktlar hazırlanmış ve buğday (*T. aestivum* L.) tohumlarının çimlenmesi ve fide büyümesi üzerine etkileri incelenmiştir (Çizelge 2). Her bir uygulama için çimlenme yüzdesi beş farklı zamanda değerlendirilmiştir (48, 72, 96, 120 ve 144 s) (Şekil 1).



Şekil 1. Farklı çözücü ve konsantrasyonundaki biberiye ekstraktlarının buğday çimlenmesi üzerine etkisi

Şekil 1'de görüldüğü gibi ekstraktların artan konsantrasyonlarının buğday çimlenmesi üzerindeki olumsuz etkisinin olduğu, fakat bu etkinin az olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, 144 saatin sonunda, tüm uygulamalar incelendiğinde en düşük çimlenme oranının % 80'in üzerinde olduğu tespit edilmiştir. 72 saat sonunda, etanol ekstraktları hariç diğer ekstrakt uygulamalarında %50'den fazla çimlenme saptanmıştır. 96 saat sonunda, A₅₀₀ ekstraktı %95.6 ile maksimum çimlenme oranına ulaşmış ve Kontrol 1 ile aynı olduğu gözlenmiştir. 144 saat sonunda, en yüksek çimlenme %98.9 ile Kontrol 1, Kontrol 2, A₂₅₀ (%96.7) ve A₅₀₀ (%95.6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p<0.05$) (Çizelge 2). En düşük çimlenme ise % 81.1 ile M₁₀₀₀'den elde edilmiştir. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde etanol ve metanol ekstraktlarının tümü ile A₁₀₀₀ aseton ekstraktının çimlenme üzerinde olumsuz etki yaptığı

ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu kaydedilmiştir ($p<0.05$).

Biberiye ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki uygulamalarının bitki çimlenmesi üzerine etkilerinin yanı sıra bitki ağırlığı ile radikula ve plumula büyümesini önlediği de tespit edilmiştir. Uygulamalar sonucu elde edilen bitki ağırlığının 73 ile 92 mg arasında değiştiği ve A₂₅₀ ekstraktı uygulaması (85 mg) ile Kontrol 1 (92 mg) uygulaması arasında istatistiksel bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p<0.05$). Ekstraktlar arasında A₂₅₀ ekstraktı yüksek çimlenme sergilediği gibi bitki ağırlığı açısından da diğer ekstraktlara oranla daha az negatif etki sergilemesine rağmen, istatistiksel olarak sadece E₁₀₀₀ ile farklı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca tüm ekstraktların artan dozları bitki ağırlığında azalmaya neden olmuştur. Aseton çözücüsü bitki ağırlığı üzerinde etanol ve metanole göre daha az inhibitör etki göstermesine karşın bu farklılık istatistiksel açıdan önemli çıkmamıştır.

Çizelge 2. Biberiye ekstraktlarının buğdayın çimlenme ve fide büyümesi üzerine etkileri

Ekstraktlar	Çimlenme yüzdesi ¹ (%)	Radikula uzunluğu (cm)	Plumula uzunluğu (cm)	Bitki taze ağırlığı (mg)
Kontrol1	98.9±0.16a	5.28±0.35a	4.01±0.66a	92±0.6a
Kontrol2	98.9±0.16a	1.85±0.30cd	1.94±0.08cde	62±0.4d
A ₂₅₀	96.7±0.20ab	2.03±0.46cd	1.85±0.27de	85±0.6ab
A ₅₀₀	95.6±0.07abc	1.22±0.11d	1.18±0.26de	82±0.8bc
A ₁₀₀₀	91.1±0.15bcd	2.54±0.84c	2.83±0.58bc	80±0.5bc
E ₂₅₀	91.1±0.15bcd	1.56±0.50cd	1.51±0.39de	81±0.9bc
E ₅₀₀	84.4±0.14d	1.35±0.30d	1.17±0.40de	80±0.9bc
E ₁₀₀₀	82.2±0.10d	1.20±0.09d	1.01±0.06e	73±0.2c
M ₂₅₀	91.7±0.16bcd	3.56±0.00b	2.98±0.00b	77±0.0bc
M ₅₀₀	87.8±0.21cd	2.13±1.05cd	2.13±1.03bcd	74±0.2bc
M ₁₀₀₀	81.1±0.07d	1.83±0.85cd	1.77±0.82de	75±0.5bc

¹Buğday tohumlarının 144 saat sonundaki çimlenme yüzdeleri

Aseton ekstraktları buğday tohumlarının çimlenme yüzdesi ve bitki ağırlığı üzerinde düşük etki gösterirken, radikula ve plumula uzunluğu üzerinde yüksek inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Fakat bunun aksine, M₂₅₀ ekstraktları plumula ve radikula uzunlukları üzerinde diğer çözücü ekstraktlarına göre daha düşük inhibitör etki göstermiştir. Çözücü ekstraktlarının artan konsantrasyonları ile (aseton uygulaması hariç) inhibitör etkinin arttığı tespit edilmiştir. Benzer olarak, Hassannejad ve Garbi (2013) biberiye sulu ekstraktlarının artan konsantrasyonlarının kusküt otu tohumlarının çimlenmesi üzerine daha düşük inhibitör etki (en az % 60 çimlenme) gösterdiği, ayrıca çimlenen tohumların taze ve kuru bitki ağırlığı üzerine etkisinin hiç yok denecek kadar az olduğunu bildirmişlerdir. Fakat biberiye uçucu yağının artan konsantrasyonlarının kültür buğday çeşitlerinin çimlenmeleri, bitki taze ağırlığı ile sürgün ve kök uzunluğuna üzerine kuvvetli inhibitör etki sergilediği tespit edilmiştir (Atak ve ark., 2016). Begum ve ark. (2017) tarafından *Thuja orientalis* L. ve *Thevetia peruviana* (Pers.) Schum türlerinin metanol ekstraktlarının artan konsantrasyonlarının buğday tohumlarının çimlenmesi, kök ve sürgün gelişimi üzerinde negatif etki yaptığı bildirilmiştir.

Biberiye ekstraktlarının *S. oryzae* ve *R. dominica* erginlerine karşı kontak etkisi

Yapılan çalışmada biberiye bitkisinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlarının *S. oryzae* ve *R. dominica* erginleri üzerindeki kontakt toksisitesi test edilmiştir. Çalışma sonucunda 24 saatte *S. oryzae*'ye karşı en yüksek toksisiteyi %16.67 ölüm oranı ile etanol ekstraktı uygulamasında belirlenmiştir. 48 saat (%30) ve 72 (%58.33) saat sonunda en yüksek ölüm oranını yine etanol ekstraktı göstermiştir (Çizelge 3). 72 saat sonunda etanol ekstraktından sonra en yüksek toksisiteyi %33.3 ölüm oranı ile metanol ekstraktı göstermiştir (Çizelge 3). Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde yetmiş 72 sonunda etanol ekstraktının etkinliği istatistiksel olarak kontrolden ve diğer muamelelerden farklı bulunmuştur ($p<0.05$).

Biberiye bitkisinden elde edilen ekstraktların *R. dominica*'ya karşı test edilmesi sonucunda ise ilk 24 saatte en yüksek ölüm oranı %46.67 ile aseton ekstraktında gözlemlenirken en düşük ölüm oranı ise %33.33 ölüm oranı ile metanol ekstraktında gözlemlenmiştir (Çizelge 4). Çalışmanın 72. saatinde ise en yüksek ölüm sırasıyla aseton (%68.33) ve etanol (%45.00) ekstraktlarında gözlemlenmiştir. 72 saat sonunda tüm muameleler istatistiki olarak karşılaştırıldığında aseton ekstraktının kontrolden ve diğer muamelelerden farklı olduğu, metanol ve etanol ekstraktının ise istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı, aseton ve kontrolden ise farklı olduğu

bulunmuştur ($p<0.05$).

Yapılan çalışmalarda daha çok biberiye bitkisinden elde edilen uçucu yağın zararlılar üzerindeki etkinliği test edilmiştir. Bitkiden elde edilen ekstraktların bu iki zararlı üzerindeki etkinliğini araştıran çalışmaların kısıtlı olduğu görülmektedir.

Çizelge 3. Farklı çözücülerden elde edilen biberiye ekstraktlarının *Sitophilus oryzae* üzerindeki kontak etkisi

Örnekler	% ölüm oranı ±S.hata		
	24 saat	48 saat	72 saat
Kontrol	0b	5.00±4.12b	9.17±3.29c
Metanol	8.33±5.47ab	23.33±3.49a	33.33±2.09b
Aseton	13.33±5.84a	18.33±4.86a	26.67±2.46b
Etanol	16.67±6.80a	30.00±2.57a	58.33±1.80a

Aynı sütundaki ortalamaları takip eden farklı küçük harfler, ortalamaların istatistiksel olarak önemli derecede farklı olduğunu gösterir (Anova $P<0.05$, Duncan test)

Çizelge 4. Farklı çözücülerden elde edilen biberiye ekstraktlarının *Rhizopertha dominica* üzerindeki kontak etkisi

Örnekler	% ölüm oranı±S.hata		
	24 saat	48 saat	72 saat
Kontrol	0c	0c	3.33±3.88c
Metanol	33.33±3.41b	35.00±3.02b	43.33±3.25b
Aseton	46.67±2.88a	55.00±4.57a	68.33±3.62a
Etanol	26.67±2.13b	38.33±1.00b	45.00±1.97b

Aynı sütundaki ortalamaları takip eden farklı küçük harfler, ortalamaların istatistiksel olarak önemli derecede farklı olduğunu gösterir (Anova $P<0.05$, Duncan test)

Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar ile *R. officinalis*'in birçok zararlı böcek üzerinde farklı şekillerde etkili olduğu ortaya konulmuştur (Isıkber ve ark., 2006; Saeidi ve ark. 2013; Salman ve ark., 2014; Shalaby ve Khater, 2005). Yıldırım ve ark. (2011) elde ettikleri biberiye uçucu yağının *Sitophilus granarius* L. üzerinde %93 oranında ölüme neden olduğunu belirtmiştir. Biberiye uçucu yağının *S. oryzae* üzerinde test eden Kiran ve Prakash (2015) uçucu yağın 72 saat sonunda %75 oranında ölüme sebep olduğunu tespit etmiştir. Bunun sebebinin biberiye uçucu yağlarında yüksek miktarda 1,8 cineole, α -pinene ve β -caryophyllene bulunmasından (Bertoli ve ark., 2011; Rojht ve ark., 2012; Kiran ve Prakash, 2015) kaynaklanmaktadır. Rozman ve ark. (2007) biberiye uçucu yağ bileşeni olan 1,8 cineole'nin *R. dominica* ve *S. oryzae* üzerine fumigant etkinliğini test etmişler ve *S. oryzae* üzerinde %100, *R. dominica* üzerinde ise %97 oranında ölüme neden olduğunu bildirmişlerdir.

Biberiye ekstraktları uçucu yağ ve uçucu yağın birleşikleri kadar depo zararlıları üzerinde etkili olmasada, *Piper nigrum*, *Schizonepeta tenuifolia*, *Artemisia princeps* var. *orientalis* gibi birçok bitki ekstraktlarına göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Kim ve ark., 2003; Manzoor ve ark., 2011; Lucie ve ark., 2013).

SONUÇ

Yapılan çalışmada biberiye bitkisinden farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktların *R. dominica* ve *S. oryzae* üzerinde kullanılma potansiyeli olduğu görülmüştür. Özellikle aseton ekstraktının *R. dominica* üzerinde etkili olması ve diğer ekstraktlara göre buğday tohumları üzerinde daha az negatif etki sergilemesi (düşük dozlarda) kullanılabilirlik açısından değerlendirilebilir. İleride biberiye ekstraktlarının tahılların kalitesi üzerindeki etkileri hakkında yapılacak daha detaylı çalışmalar bu zararlılarla mücadelede kullanılabilirliğini daha net ortaya çıkartabilir.

TEŞEKKÜR

Çalışmalar esnasında yardımlarından dolayı Bozok Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü öğrencisi Osman KELEŞ'e teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

Ablat N, Lv D, Ren R, Xiaokaiti Y, Ma X, Zhao X, Sun Y, Lei H, Xu J, Ma Y, Qi X, Ye M, Xu F, Han H, Pu X 2016. Neuroprotective effects of a standardized flavonoid extract from safflower against a rotenone-induced rat model of Parkinson's Disease. *Molecules*, 21(9): E1107.

Alipour M, Saharkhiz J 2016. Phytotoxic activity and variation in essential oil content and M composition of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) during different phenological growth stages. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7: 271-278.

Amaral GP, Mizdal CR, Stefanello ST, Mendez ASL, Puntel RL, Campos MMA, Soares FAA, Fachineto R 2018. Antibacterial and antioxidant effects of *Rosmarinus officinalis* L. extract and its fractions. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 9(4): 383-392.

Aslam M, Khan KA, Bajwa MZH 2002. Potency of some spices against *Callosobruchus chinensis* L. *Online Journal of Biological Sciences*, 2(7): 449-452.

Atak M, Mavi K, Üremiş I 2016. Bio-Herbicidal Effects of Oregano and Rosemary Essential Oils on Germination and Seedling Growth of Bread Wheat Cultivars and Weeds. *Romanian Biotechnological Letters*, 21(1): 11149- 11159.

Begum P, Khan AM, Ullah I, Ahmad N 2017. Phytotoxic effects of *Thuja orientalis* L. and *Thevetia peruviana* (Pers.) Schum crude extracts on wheat seed germination. *Pure and Applied Biology*, 6(3): 805-813.

Bertoli A, Conti B, Mazzoni V, Meini L, Pistelli L 2012. Volatile chemical composition and bioactivity of six essential oils against the stored food insect *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Dryophthoridae). *Natural Product Research*, 26(22): 2063-2071.

Chen Z, Guo S, Cao J, Pang X, Geng Z, Wang Y, Zhang

Z, Du S 2018. Insecticidal and repellent activity of essential oil from *Amomum villosum* Lour. and its main compounds against two stored-product insects. *International Journal of Food Properties*, 21(1): 2265-2275.

Dikshit A, Singh AK, Tripathi RD, Dixi SN 1979. Fungitoxic and phytotoxic studies of some essential oil. *Biological Bulletin of India* 1: 45-51

Düzgüneş O, Kesici T, Gürbüz F 1983. İstatistik Metotları 1. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, No: 862, Ankara.

FAO 2009. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. 28.03.2019

Gökçe A, Stelinski LL, Whalon ME, Gut L 2010. Toxicity and antifeedant activity of selected plant extracts against larval obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana* (Harris). *The Open Entomology Journal*, 4 (1): 18-24.

Guru-Pirasanna-Pandi G, Adak T, Gowda B, Patil N, Annamalai M, Jena M 2018. Toxicological effect of underutilized plant, *Cleistanthus collinus* leaf extracts against two major stored grain pests, the rice weevil, *Sitophilus oryzae* and red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 154: 92-99.

Hardman JM 1978. A logistic model simulating environmental changes associated with the growth of populations of rice weevils, *Sitophilus oryzae*, reared in small cells of wheat. *Journal of Applied Ecology*, 15: 65-87.

Hassannejad S, Ghafarbi SP 2013. Allelopathic effects of some Lamiaceae on seed germination and seedling growth of dodder (*Cuscuta campestris* Yunck.). *International Journal of Biosciences*, 3(3): 9-14.

Isikber AA, Alma MH, Kanat M, Karci A 2006. Fumigant toxicity of essential oils from *Laurus nobilis* and *Rosmarinus officinalis* against all life stages of *Tribolium confusum*. *Phytoparasitica*, 34(2): 167. <https://doi.org/10.1007/BF02981317>

Isman MB, Wilson JA, Bradbury R 2008. Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*.) against larvae of *Pseudaletia unipuncta*. And *Trichoplusia ni*. in relation to their chemical compositions. *Pharmaceutical Biology*, 46 (1-2): 82-87.

Ito E, Ukpohwo R, Okiriguo I 2018. Insecticidal activity of *Xylopiia aethiopica* (Family; Annonaceae) against *Callosobruchus maculatus* (F) (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Biological Studies*, 1(3): 106-115.

Keikhaie KR, Fazeli-Nasab B, Jahantigh HR, Hassanshahian M 2018. Antibacterial Activity of Ethyl Acetate and Methanol Extracts of *Securigera securidaca*, *Withania sominefra*, *Rosmarinus officinalis* and *Aloe vera* Plants against Important Human Pathogens. *Journal of Medical*

- Bacteriology, 7(1-2):13-21.
- Khan SA, Ranjha MH, Khan AA, Sagheer M, Abbas A, Hassan Z 2019. Insecticidal Efficacy of Wild Medicinal Plants, *Datura alba* and *Calotropis procera*, against *Trogoderma granarium* (Everts) in Wheat Store Grains. Pakistan Journal of Zoology, 51 (1):289-294.
- Kiran S, Prakash B.2015. Toxicity and biochemical efficacy of chemically characterized *Rosmarinus officinalis* essential oil against *Sitophilus oryzae* and *Oryzaephilus surinamensis*. Industrial Crops and Products, 74: 817–823. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.073>.
- Kim S, Roh J, Kim D, Lee H, Ahn Y 2003. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. Journal of Stored Products Research, 39 (3): 293-303.
- Ksouri S, Djebir S, Bentorki AA, Gouri A, Hadeif Y, Benakhla A 2017. Antifungal activity of essential oils extract from *Origanum floribundum* Munby, *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus ciliatus* Desf. against *Candida albicans* isolated from bovine clinical mastitis. Journal de Mycologie Médicale, 27 (2): 245-249.
- Kumar D, Kalita P 2017. Reducing postharvest losses during storage of grain crops to strengthen food security in developing countries. Foods, 6(1): 8.
- Lu CL, Li YM, Fu GQ, Yang L, Jiang JG, Zhu L, Lin FL, Chen J, Lin QS 2011. Extraction optimisation of daphnoretin from root bark of *Wikstroemia indica* (L.) C.A. and its anti-tumour activity tests. Food Chemistry 124: 1500–1506. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.002>.
- Lucie AT, Dogo S, Béranger LDP, Florent BOS, Talla GM, Anna T, Salomon N, Kandiora N, Mbacké S, Jean-Laurent S 2013. Chemical Characterization and Insecticidal Activity of Ethyl Acetate and Dichloromethane Extracts of *Drypetes gossweileri* against *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica*. Journal of Life Sciences, 7(10): 1030-1040.
- Mahdian SHA, Rahman MK 2008. Insecticidal effect of some spices on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) in black gram seeds, University Journal of Zoology Rajshahi University, 27: 47-50.
- Manzoor F, Nasim G, Saif S, Malik SA 2011. Effect of ethanolic plant extracts on three storage grain pests of economic importance. Pakistan Journal of Botany, 43(6): 2941-2946.
- Papachristos DP, Karamanoli KI, Stamopoulos DC, Menkissoglu-Spiroudi U 2004. The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). Pest Management Science, 60 (5): 514-520.
- Pavela R 2006. Insecticidal Activity of Essential Oils Against Cabbage Aphid *Brevicoryne brassicae*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 9 (2): 99-106.
- Prasad KN, Kong KW, Ramanan RN, Azlan A, Ismail A 2012. Determination and Optimization of Flavonoid and Extract Yield from Brown Mango using Response Surface Methodology. Separation Science and Technology 47: 73–80.
- Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasiah U, Gopas J, Nishigaki I 2014. Antioxidants and human diseases. Clinica Chimica Acta, 436: 332–347.
- Rajendran S 2002. Postharvest pest losses. D. Pimentel (Ed.), Encyclopedia of Pest Management, Marcel Dekker, Inc, New York, p.654-656.
- Rodríguez-Rojo S, Visentin A, Maestri D, Cocero MJ 2012. Assisted extraction of rosemary antioxidants with green solvents. Journal of Food Engineering, 109 (1): 98-103.
- Rojht H, Košir IJ, Trdan S 2012. Chemical analysis of three herbal extracts and observation of their activity against adults of *Acanthoscelides obtectus* and *Leptinotarsa decemlineata* using a video tracking system. Journal of Plant Diseases and Protection, 119(2):59–67. <https://doi.org/10.1007/BF03356421>
- Rozman V, Kalinovic I, Korunic Z 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 43(4): 349–355. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2006.09.001>
- Saeidi M, Moharramipour S 2013. Insecticidal and repellent activities of *Artemisia khorassanica*, *Rosmarinus officinalis* and *Mentha longifolia* essential oils on *Tribolium confusum*. Journal of Crop Protection, 2(1): 23–31.
- Salem SA, Abou-Ela RG, Matter MM El-Kholy MY 2007. Entomocidal effect of *Brassica napus* extracts on two stored pests, *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (Fab.) (Coleoptera). Journal of Applied Sciences Research, 3(4): 317-322.
- Salman S, Sarıtaş S, Kara N, AY R 2014. Acaricidal and Ovicidal Effects of Sage (*Salvia officinalis* L.) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) (Lamiaceae) Extracts on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) Tarım Bilimleri Dergisi, 20: 358-367
- Sánchez-Camargo AP, Valdés A, Sullini G, García-Cañas V, Cifuentes A, Ibáñez E, Herrero M. 2014. Two-step sequential supercritical fluid extracts from rosemary with enhanced anti-proliferative activity. Journal of Functional Foods, 11: 293-303.
- Sepehri Z, Javadian F, Khammari D, Hassanshahian M 2016. Antifungal effects of the aqueous and ethanolic leaf extracts of *Echinophora platyloba* and *Rosmarinus officinalis*. Curr Med Mycol., 2(1): 30–35.

- Shalaby AA, Khater HF 2005. Toxicity of certain solvent extracts of *Rosmarinus officinalis* against *Culex pipiens* larvae. Journal of Egyptian-German Society of Zoology, (48E): 69- 80.
- Snedecor GW, Cochran WG 1967. Statistical Methods. The Iowa State University.
- Sodaeizadeh H, Rafieiolhossaini MV, Damme P 2010. Herbicidal activity of a medicinal plant, *Peganum harmala* L., and decomposition dynamics of its phytotoxins in the soil. Industrial Crops and Products, 31: 385-394
- Tavassoli S, Mousavi SM, Emam-Djomeh Z, Razavi SH 2011. Comparative Study of the Antimicrobial Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil and Methanolic Extract. Middle-East Journal of Scientific Research, 9 (4): 467-471.
- Trivedi A, Nayak N, Kumar J 2018. Recent advances and review on use of botanicals from medicinal and aromatic plants in stored grain pest management. Journal of Entomology and Zoology Studies, 6(3): 295-300.
- Vicente G, Molina S, González-Vallinas M, García-Risco MR, Fornari T, Reglero G, Molina AR 2013. Supercritical rosemary extracts, their antioxidant activity and effect on hepatic tumor progression. The Journal of Supercritical Fluids, 79: 101–108.
- Yeddes W, Wannes WA, Hammami M, Smida M, Chebbi A, Marzouk B, Tounsi MS 2018. Effect of Environmental Conditions on the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from *Rosmarinus officinalis* L. Growing Wild in Tunisia, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21:4, 972-986.
- Yıldırım E, Kordalı S, Yazıcı G 2011. Insecticidal effects of essential oils of eleven plant species from Lamiaceae on *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Romanian Biotechnological Letters, 16(6): 6702-6709.

Batı Anadolu Fasulye Genetik Kaynaklarının Biyolojik Çeşitliliğinin Araştırılması ve Karakterizasyonu

Huseyin CANCI¹, Murat BOZKURT², Faik KANTAR³, Mehmet Zahit YEKEN⁴, Goksel OZER⁵
Vahdettin CİFTÇİ⁶

¹Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Antalya, ^{2,3}Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya, ^{4,6}Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Bolu, ⁵Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bolu

¹<https://orcid.org/0000-0001-8963-850X>, ²<https://orcid.org/0000-0001-8609-8288>, ³<https://orcid.org/0000-0003-3102-1181>,

⁴<https://orcid.org/0000-0003-0490-371X>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-3385-2520>, ⁶<https://orcid.org/0000-0003-0547-9527>

✉: yekenmehmetzahit@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada, Batı Anadolu Bölgesi'nde 10 ilde üretilen 156 önemli yerel fasulye ekotipi 2015 yılında toplanmış ve ekotipler arasındaki biyolojik çeşitliliği araştırmak ve karakterize etmek için 2016 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde tarla denemesi yürütülmüştür. İncelenen karakterler açısından en belirgin değişim kuru sap ve tane veriminde kaydedilirken bunu bitkide bakla sayısı, baklada tane sayısı, bitki boyu ve yüz tane ağırlığı takip etmiştir. En yüksek bitki başına tane verimi MGL-30 (145.6 g), MGL-38 (101.7 g), ANT-43 (87.8 g) ve MGL-26 (81.9 g) genotiplerinden elde edilmiştir. Temel bileşen analizinde, 17 bileşen yerel fasulye genetik kaynaklarındaki varyasyonun %74.9'unu izah etmiştir. Bakla rengi, bitki tipi ve sarılma özelliği en fazla katkı sağlayan özellikler olmuştur. Bitki boyu ve olgunlaşma gün sayısı, biplot analizinde tane verimi ile aynı yönde ve en dar açıya sahip vektörler olmuştur. Morfolojik özellikler kullanılarak üretilen benzerlik dendogramı genotipleri iki ana gruba (A ve B) ve dört alt gruba (A1, A2, B1 ve B2) ayrılmıştır. Morfolojik özellikler açısından en uzak gruplarda yer alan MGL-01, KTH-01, MNS-01 ve ANT-13 ile UŞK-01, ANT-01, MGL-05 ve AYD-02 ekotipleri kullanılarak melezleme ıslahı ile yeni çeşitler geliştirilebilir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 18.06.2019

Kabul Tarihi : 22.08.2019

Anahtar Kelimeler

Phaseolus sp.,
Morpholojik özellikler,
Yerel ekotipler,
Genetik kaynaklar

Investigation and Characterization of *Phaseolus* bean bio-diversity in Western Anatolia

ABSTRACT

In this study, 156 important local bean ecotypes produced in 10 provinces in the Western Anatolia Region were collected in 2015, and field trial was conducted in 2016 at Akdeniz University, Faculty of Agriculture in order to investigate and characterize biodiversity. The highest variation was recorded for straw yield and seed yield per plant followed by pod number per plant, seed number per pod, plant height and 100 seed yield. MGL-30 (145.6 g), MGL-38 (101.7 g), ANT-43 (87.8 g) and MGL-26 (81.9 g) gave the highest seed yields per plant. In principle component analysis, 17 components explained 74.9% of genetic variation in local bean genetic resources. Pod color, plant growth and speed of climbing were the most important traits contributing to diversity. In biplot vector analysis, plant height and days to maturity were of the closest and parallel vector angle to seed yield. Hierarchical constellation cluster analysis on the bases of morphological traits produced two main groups (A and B) and 4 sub-groups (A1, A2, B1, and B2). Most distant landraces of MGL-01, KTH-01, MNS-01, and ANT-13 to the genotypes of UŞK-01, ANT-01, MGL-05 and AYD-02 may be used in a hybridization program.

Research Article

Article History

Received : 18.06.2019

Accepted : 22.08.2019

Keywords

Phaseolus sp.,
Morphologic traits,
Landraces,
Germplasm

GİRİŞ

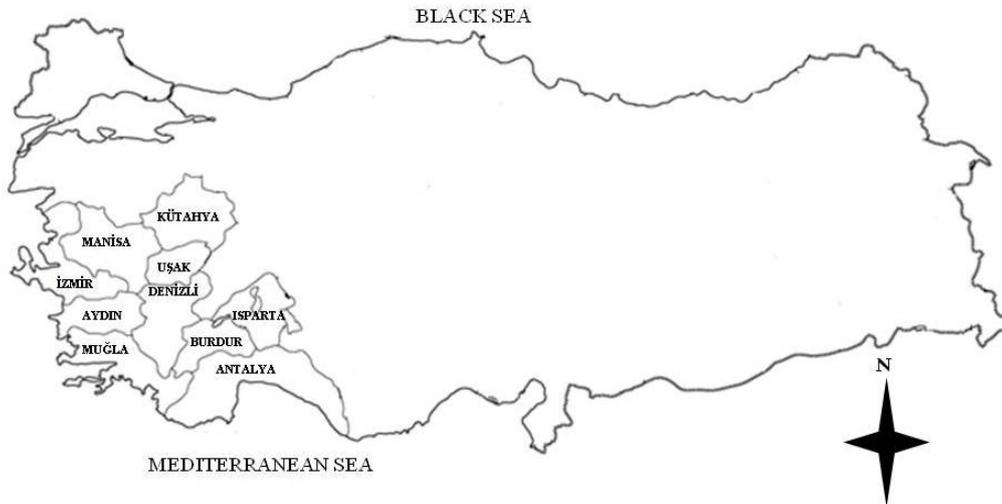
Fasulye, dünyada en fazla yetiştirilen yemeklik tane baklagil bitkisidir (Singh et al., 2007). Günümüzde fasulye bitkisinin; Orta Amerika (Mesoamerica) ve Güney Amerika (Andean) bölgeleri olmak üzere iki gen havuzuna sahip olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Blair et al., 2012; Bitocchi et al., 2013). Orta Amerika (Mesoamerica) gen havuzu, Meksika'dan Kolombiya'ya, Güney Amerika (Andean) gen havuzu ise, Güney Peru'dan Kuzeybatı Arjantin'e uzanmaktadır (Kwak et al., 2009; De la Fuente et al., 2012). Durango, Jalisco ve Mesoamerica Orta Amerika gen havuzunda, Peru, Nueva Granada ve Şili Güney Amerika gen havuzunda yer almaktadır (Nadeem et al., 2018). Fasulye, protein, karbonhidrat, lif, vitamin ve mineral maddeler açısından zengin bir besin kaynağıdır (Aquino-Bolaños et al., 2016). 2016 yılı itibariyle dünya üzerinde kuru fasulye ekim alanı 29 M hektarı geçerken 1.5 M hektar da taze fasulye üretimi yapılmıştır (Anonim, 2018a). Üretim ise sırasıyla kuru fasulyede 26.8 M ton ve taze fasulyede 23.5 M tonu geçmiştir (Anonim, 2018a). Türkiye'de kuru fasulye, nohut ve mercimekten sonra üçüncü sırada bulunmaktadır (Anonim, 2018b). Yine tarla ve sera şartlarında önemli miktarda taze fasulye üretimi bulunmaktadır. 2013 yılında 85.000 ton kuru fasulyenin yanında 632.000 ton taze fasulye üretimi yapılmıştır. Ticari üretimin yanında genellikle kırsal kesimde her hanede küçük bahçe ve tarlada üretim yapılmaktadır. Türkiye çok zengin fasulye genetik çeşitliliğine sahip bulunmaktadır (Elkoca et al., 2010; Khaidizar et al., 2012). Coğrafik çeşitlilik, farklı iklim tipleri ve zengin toprak yapısı yanında farklı tarım teknikleri ve değişen taleplere göre yapılan doğal seleksiyon (Scarano et al., 2014) sonucu Anadolu'da zengin bitki çeşitliliği oluşmuştur. Batı Anadolu Bölgesi'nde birçok üründe yaygınlaşmış yoğun ticari tarımsal uygulamalara rağmen fasulye üretimi esas

itibariyle geleneksel yerel tohumlarla yapılmaktadır. Yerel tohumlar üstün lezzetleri ve yüksek adaptasyon yetenekleri dolayısıyla üretici ve tüketiciler tarafından tercih edilmektedir. Bir bölge ve lokasyonda o civara özgü fasulye tipi ve yerel çeşidi bulunmaktadır (İspir fasulyesi, Çandır fasulyesi vb.). Bölgeye özgü yerel tipler tüketici tarafından tercih edildiği için çiftçiler yerel fasulye üretimine devam etmektedir. Ancak, yüksek verimli yeni fasulye çeşitlerinin üretime girmesi, ekim alanlarının azalması ve ithalatın artması yerel fasulye tipleri üzerinde baskı oluşturmaktadır. Yerel tohumların toplanması, karakterizasyonu, muhafazası ve ıslahta kullanılması biyolojik çeşitliliğin korunması için gerekli görülmektedir. Birçok özellik bakımından karakterize edilmiş fasulye genetik kaynakları mevcut ve gelecekte yapılacak ıslah programlarında yüksek adaptasyon yeteneği, üstün kalite özellikleri ve stres faktörlerine toleransa sahip çeşitlerin geliştirilmesi için kullanılabilir. Bu çalışma, Batı Anadolu Bölgesi'nde 10 ilde yerel fasulye tohumlarının toplanması, morfolojik özelliklerinde çeşitliliğin incelenmesi ve yerel tiplerin karakterizasyonu amacıyla yürütülmüştür.

MATERYAL ve YÖNTEM

Bitki Materyali

Batı Anadolu Bölgesi'nde bulunan Antalya, Isparta, Burdur, Muğla, Denizli, Aydın, İzmir, Manisa, Uşak ve Kütahya illerinden (Şekil 1) 2015 Ekim ve 2016 Mart aylarında toplanan 156 yerel fasulye (*Phaseolus*) gen kaynağı çalışmada materyal olarak kullanılmıştır. Yerel fasulye ekotiplerine toplanıldığı bölgeyi göstermesini kolaylaştırmak amacıyla kod ve numara verilmiştir (Örn. Antalya= ANT, Burdur=BRD, Isparta=ISPT, Denizli=DZL, Muğla=MGL, Aydın=AYD, İzmir=IZM, Manisa=MNS, Uşak=UŞK ve Kütahya=KTH.)



Şekil 1. Yerel fasulye gen kaynaklarının toplandığı bölge ve iller

Araştırma Sahasının İklim ve Toprak Özellikleri

Araştırma yerinin denizden yüksekliği yaklaşık 24 m olup, 36°53.933' kuzey enlemi ve 30°38.557' doğu boylamında yer almaktadır. Denemenin yürütüldüğü aylara ait meteorolojik veriler Çizelge 1' de verilmiştir. Ortalama sıcaklık değerleri uzun yıllar ortalaması ile benzerlik gösterirken, 2016 yılındaki toplam yağış miktarının uzun yıllar ortalamasından oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Uygulama alanının toprak

özellikleri kumlu-killi-tınlı yapıda olup, alkalilik özelliği göstermektedir (pH:7.96). Deneme alanı toprakları organik madde yönünden düşük (%1.87), alınabilir potasyum (0.61 meq/100 g) bakımından iyi, fosfor bakımından (9.37 ppm) yeterli bulunmuştur. Yapılan analizlerde deneme alanı topraklarının tuz içeriği 0.93 mS/cm (tuzluluk tehlikesi yok), kireç içeriği ise %26.5 (aşırı kireçli) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 1. Antalya ilinin araştırmanın yürütüldüğü yıl ile uzun yıllar ortalamasına ait bazı iklim verileri.

	Yıl	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos
Ortalama Sıcaklık (°C)	2016	19.38	20.37	26.90	29.86	30.46
	UYO**	17.50	21.20	26.0	29.1	29.6
Toplam Yağış Miktarı (kg/m ²)	2016	0.63	0.90	0.81	0.01	0.00
	UYO	44.27	38.23	7.51	0.24	5.99
Ortalama Nisbi Nem (%)	2016	68.76	72.36	61.79	59.70	65.08
	UYO	63.9	67.9	61.0	60.2	59.8

*T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü ve Meteoroloji 4. Bölge (Antalya) Müdürlüğü,

**UYO: Uzun Yıllar Ortalaması

Çizelge 2. Deneme yerinin toprak analiz sonuçları.

Ölçülen Parametreler	Bulunan Değerler	Değerlendirme
pH	7.96	Alkali
E.C (mS/cm)	0.93	Tuzluluk tehlikesi yok
CaCO ₃ (%)	26.5	Aşırı kireçli
Kum (%)	45.08	
Kil (%)	31.28	
Silt (%)	23.64	
Bünye		Kumlu-Killi-Tınlı
Organik Madde (%)	1.87	Düşük
Toplam N (%)	0.10	Orta
P (ppm)	9.37	Yeterli
K (meq/100 g)	0.61	İyi
Na (meq/100 g)	0.15	Düşük
Ca (meq/100 g)	37.71	İyi
Mg (meq/100 g)	7.12	İyi
Fe (ppm)	3.56	Noksanlık gösterebilir
Zn (ppm)	0.74	Noksanlık gösterebilir
Mn (ppm)	23.15	Yeterli
Cu (ppm)	1.36	Yeterli

İncelenen Özellikler

Araştırmada, Türkiye'nin Batı Anadolu Bölgesi'nden toplanan 156 yerel kuru fasulye genotipi 8 Nisan 2016 tarihinde 2 m uzunluğundaki sıralara, bodur tiplerde 45 cm sıra arası 10 cm sıra üzeri, sarılıcı tiplerde ise 70 cm sıra arası 20 cm sıra üzeri olacak şekilde tek sıra halinde markörle çiziler açılarak elle ekilmiştir. Ekimle birlikte dekara 2.7 kg azot ve 6.9 kg fosfor dozlarında Diamonyum Fosfat (DAP) formunda gübre verilmiştir. Bitki gelişme mevsimi boyunca ihtiyaca göre yağmurlama sulama ve insektisit uygulaması yapılmıştır. Yabancı ot mücadelesi elle yolunarak yapılmıştır. Bitki gelişme dönemi süresince her sıradan seçilen 5 temsili bitki üzerinde IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute) and

EU-CPVO (European Union Community Plant Variety Office) tarafından belirlenen ve Çizelge'3 de verilen gözlem ve ölçümler yapılmıştır.

İstatistik Analizler

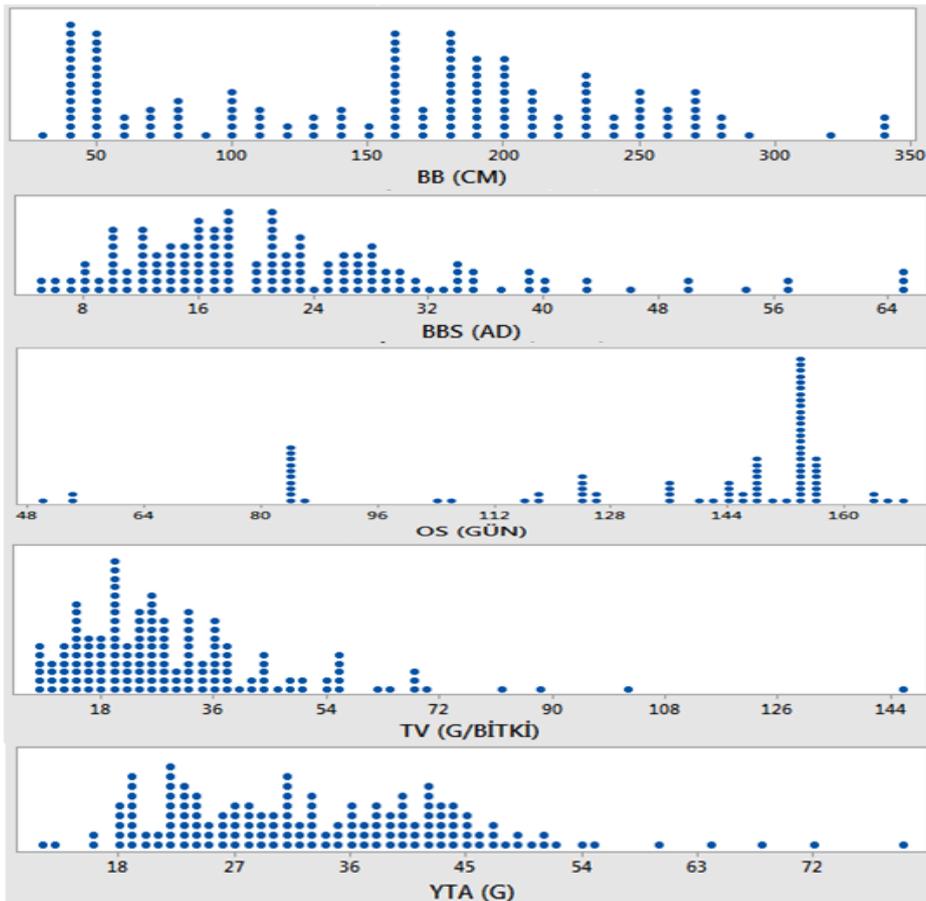
Temel istatistik analizler ve korelasyon Minitab version 17 istatistik programı kullanılarak yapılmıştır. Temel Bileşen Analizi XLSTAT software (2016.2 version) programı ile yapılmıştır. Eigen değeri >1 olan bileşenler analize dahil edilmiştir. İncelenen karakterlerin dağılımı ve ekotiplerin dağılımı ilk iki bileşen kullanılarak görsel hale getirilmiştir. Ekotiplere ait benzerlik takımıyıldızı grafiği JMP 13.2.0 istatistik programı kullanılarak oluşturulmuştur.

BULGULAR ve TARTIŞMA

156 yerel fasulye ekotiplerini üzerine yapılan bu çalışma incelenen genetik kaynağı içinde nitel (görsel-kalitatif) ve nicel (ölçülebilir-kantitatif) özellikler açısından önemli oranda varyasyon bulunduğunu göstermiştir (Çizelge 3). Fide, yaprak, sap, çiçek ve bakla gibi görsel olarak değerlendirilen morfolojik özellikler ilgili skala değerine göre değişim göstermiştir (Çizelge 3). Ölçülebilir (kantitatif) değerler açısından da ekotipler arasında önemli oranda varyasyon tespit edilmiştir (Çizelge 3). Salkımda çiçek tomurcuğu sayısı 1-14, çıkış %10-%100, çiçeklenme gün sayısı 38-59 gün, bitki boyu 33.8-340.0 cm, bitkide bakla sayısı 5-65 adet, yüz tane ağırlığı 12.4-79.4 g, bitki başına tane verimi 7.1-145.6 g, bitki başına kuru sap verimi 10.6-680.3 g, olgunlaşma süresi 50.0-168.0 gün ve baklada tane sayısı 3-9 adet arasında değişim göstermiştir (Çizelge 3). En yüksek değişim kuru sap ve tane veriminde kaydedilirken bunu bitkide bakla sayısı, baklada tane sayısı, bitki boyu ve yüz tane ağırlığı takip etmiştir (Şekil 2, Çizelge 3).

Verim ve bazı önemli verim unsurları açısından genotip ortalama değerlerinde kaydedilen değişim Şekil 2'de görülmektedir. Bitki boyu 10 misli değişim göstermiştir (33.8-340.0 cm, ortalama 158.8 cm (Std.

sapma=79.02)). Bitki başına bakla sayısı 10 katı değişim göstermiştir (Ortalama=22.4 adet, St. sapma 12.13). Olgunlaşma gün sayısı 3 katı değişim göstermiştir (Ortalama =135.5, Std. sapma=27.97). Yüz tane ağırlığı ise 12.44 g ile 79.35 g arasında değişmiş ve ortalama 33.53 g (Std. sapma =11.73) olmuştur. PKS-01 (79.4 g), ANT-42 (71.9 g), ANT-07 (68.0 g), KTH-18 (64.1 g), MGL-10 (60.1 g), BRD-03 (55.3 g) ve AYD-16(54.5 g) en yüksek yüz tane ağırlığına sahip genotipler, ANT-24 (17.9 g), ANT-15 (17.8 g), ANT-13 (17.6 g), ANT-21 (16.4 g), ANT-44 (16.1 g), MGL-01 (13.4 g) ve MGL-32 (12.4 g) ise en düşük yüz tane ağırlığına sahip genotipler olarak kaydedilmiştir. Ortalama yüz tane ağırlığı 33.5 g olmuştur. Bitki başına tane verimi ortalama 30.04 g (Std. sapma=18.91) olup 6.38 katı değişim göstermiştir (7.1-145.6 g). MGL-30 (145.6 g), MGL-38 (101.7 g), ANT-43 (87.8 g) ve MGL-26 (81.9 g) genotipleri en yüksek verime sahip olurken diğer genotiplerin ortalama tane verimi 72 g bitki⁻¹ altında gerçekleşmiştir. Bitki boyu 100 cm'nin altında bulunan 43 bodur fasulye genotipinin tane verimi ortalaması 22.9 g olarak hesaplanmıştır. Bodur gelişme formuna sahip KTH-04 (69.3 g), KTH-31 (38.5 g), BRD-24 (38.0 g), AYD-06 (37.5 g) ve KTH-29 (35.4 g) en yüksek tane verimi üreten genotipler olarak ortaya çıkmıştır.



Şekil 2. Yerel fasulye genetik kaynakları içinde bitki boyu (BB), bitki başına bakla sayısı (BBS), olgunlaşma süresi (OS), yüz tane ağırlığı (YTA) ve bitki başına tane verimi (TV) değerlerinin değişimi.

Çizelge 3. Batı Anadolu Bölgesi'nde 10 ilden toplanılan 156 fasulye ekotipi üzerinde tarla şartlarında yapılan gözlem ve ölçümler

Özellik (Kısaltma)	Min.-Maks.	Özellik (Kısaltma)	Min.-Maks.
Bitki Tipi: Sarılcı 0 – Bodur 1 (S·B)	0-1	2.Rengin yoğunluğu (3= Zayıf, 5= Orta, 7= Yoğun) (2.R.K.)	3-7
Fide Antosiyenin (1=Yok, 9=Var) (A)	1-9	Olgunlaşmamış Tanenin Kabuk Rengi (1= Beyaz, 2= Yeşil) (OTKR)	1-2
Sarıлма Başlangıcı (3=Erken, 5=Orta, 7=Geç) (SB)	3-7	Kılçıklılık (1=Yok, 9= Var) (K)	1-9
Sarıлма Hızı (3=Yavaş, 5=Orta, 7=Hızlı) (SH)	3-7	Bakla Kesit Şekli (1=Eliptik, 2=Cordate, 3= Dairesel, 4= 8 şekilli) (BKŞ)	1-3
Sarıлма Gücü (3=Az, 5=Orta, 7=Güçlü) (SG)	3-7	Baklanın Bitkideki Durumu (Bodur Tiplerde) (1=Altta, 2= Ortada, 3=Üstte, 4=Uçta, 5=Diğer) (BBD)	2-3
Sarıлма Eğilimi (3=Erken, 5=Orta, 7=Geç) (SE)	3-7	Bakla Ucunun Gaga Uzunluğu (1=Çok kısa, 3=Kısa, 5=Orta, 7=Uzun, 9=Çok uzun) (BUGU)	1-9
Yaprak Rengi (1=Çok açık yeşil, 3=Açık yeşil, 5=Orta yeşil, 7=Koyu yeşil, 9=Çok koyu yeşil) (YR)	1-9	Bakla Genişliği (3= Dar, 5= Orta, 7= Geniş) (BG)	3-7
Pürüzlülük (3= Zayıf, 5= Orta, 7= Fazla) (P)	3-7	Gaganın Kıvrılması (1=Çok güçsüz, 3=Güçsüz, 5=Orta, 7=Güçlü, 9=Çok güçlü) (GK)	1-9
Orta Yaprakçığın Büyüklüğü (3=Küçük, 5=Orta, 7=Büyük) (OYP)	3-7	Bakla Yüzeyinin Yapısı (3=Düz, 5= Orta, 7= Kıvrık) (BYY)	3-5
Orta Yaprakçığın Şekli (1=Üç köşeli, 2=Üç köşeliden dairesele, 3=Dairesel, 4=Daireselden köşeliye, 5=Köşeli) (OYS)	1-5	Gaganın Oluşum Şekli (1=Güçlü, 2=Orta, 3=Güçsüz) (GOŞ)	1-3
Orta Yaprakçığın Uç Şekli (3=Kısa, 5= Orta, 7= Uzun) (OYUŞ)	3-7	Gaganın Uzunluğu (3=Kısa, 5= Orta, 7=Uzun) (GU)	3-7
Brakte Boyutu (3=Küçük, 5= Orta, 7=Büyük) (BB)	3-7	Baklanın Kıvrım Şekli (1= Düz, 3=Hafif, 5=Orta, 7=Kuvvetli, 9=Çok kuvvetli) (BKŞ)	1-9
Brakte Rengi (1=Yeşil, 2=Açık mor, 3=Koyu mor, 4=Diğer) (BR)	1-2	Bakla Kıvrımının İç bükey Dış bükey Oluşu (1= İç bükey, 2=Güçlü, 3=Dış bükey) (BKİDBO)	1-3
Brakte Şekli (1=Mızrak, 3= Orta, 5=Oval) (BŞ)	1-5	Çıkış (%) (ÇKS)	10-100
Bayrak Yaprak Rengi (1= Beyaz, 2=Pembe, 3=Menekşe, 4=Yeşil) (BYR)	1-3	Çiçeklenme Gün Sayısı (Gün) (ÇGS)	38-59
Kanatçık Rengi (1=Beyaz, 2= Pembe, 3= Mor) (KR)	1-3	Bakla Bağlama Gün Sayısı (Gün) (BBGS)	43-63
Kanatçıkların Açılım Durumu (3=Birbirine Paralel, 5=Birbirinden Ayrılmış, 7=Birbirinden İyice Ayrılmış) (KAD)	3-7	Bitkide Dal Sayısı (Adet) (BDS)	3.0-9.6
Bodur Tiplerde Çiçeğin Bitkide Bulunduğu Yer (1= Yaprak İçinde, 2=Yaprak Kısmında, 3=Yaprak üzerinde) (BTÇBBY)	1-1	İlk Bakla Yüksekliği (cm) (IBY)	7-38
Çiçek Uzunluğu (mm) (ÇU)	10.2-41.3	Bitki Boyu (cm) (BB)	33.8-340.0
Çiçek Sapı Uzunluğu (mm) (ÇSU)	5.3-38.4	Bitkide Bakla Sayısı (Adet) (BBS)	5-65
Çiçek Boyutu (3=Küçük, 5=Orta, 7=Büyük) (ÇB)	3-7	Yüz Tane Ağırlığı (g) (YTA)	12.4-79.4
İlk Çiçek Boğum Sayısı (adet) (İÇBS)	2-7	Tane Verimi (g/bitki) (TV)	7.1-145.6
Salkımda Çiçek Tomurcuğu Sayısı (adet) (SÇTS)	1-14	Olgunlaşma Süresi (Gün) (OS)	50.0-168.0
Baklanın Koyuluğu (3= Hafif, 5= Orta, 7= Koyu) (BK)	3-7	Kuru Sap Verimi (g/bitki) (KSV)	10.5-680.3
Baklada Çift Renk (1= Yok, 9= Var) (BÇR)	1-9	Baklada Tane Sayısı (Adet) (BTS)	3-9
Bakla Kabuğunda 2.RENK (1= Kırmızı, 2= Mor) (BK 2.RENK)	1-2	Tane Dökme(0=Yok, 1=Var) (TD)	0-1

Toplam sayısı 113 olan sarılcı genotiplerin (bitki boyu >100 cm) bitki başına tane verimi ortalama 32.8 g olarak hesaplanmıştır. Sarılcı bitki gelişme özelliğine sahip MGL-30 (145.6 g), MGL-38 (101.7 g), ANT-43 (87.8 g), MGL-26 (81.9 g) ve ANT-29 (68.75) en yüksek

dane verimine sahip genotiplerdir. Bodur tipler içinde en yüksek tane verimine sahip KTH-04 (69.3 g), KTH-31 (38.5 g), BRD-24 (38.0 g), AYD-06 (37.5 g), KTH-29 (35.4 g) ve MNS-05 (35.2 g) en yüksek verime sahip olmuştur.

Verim ve önemli verim unsurları arasında hesaplanan korelasyon katsayıları incelendiğinde (Çizelge 4) tane verimi, bitki başına bakla sayısı ile önemli oranda ilişkili ($r=0.545$, $P<0.01$) bulunurken kuru sap verimi bitki boyu ile ($r=0.521$, $P<0.01$) ilişkili bulunmuştur. Tane verimi ile kuru sap verimi arasındaki ilişki önemli, fakat düşük korelasyon katsayısı değerine ($r=0.371$, $P<0.01$) sahip olmuştur. Diğer verim ve evrim unsurları arasında tespit edilen korelasyon katsayıları genellikle düşük ($r<0.6$) bulunmuştur (Çizelge 4).

Genetik kaynaklara ait incelenen karakterler üzerinde temel bileşen analizi yapılmıştır. Yerel fasulye genetik kaynakları temel bileşen analizinde 17 bileşen 1> eigen değerleri vermiştir (Çizelge 5). Eigen değeri 1 ve üzeri olan 17 bileşen varyasyonun %74.9'unu izah etmiştir (Çizelge 5). En yüksek Eigen değerleri sırasıyla 8.50, 4.48 ve 2.98 ile F1, F2 ve F3 bileşenlerinden elde edilmiştir (Çizelge 5). En yüksek Eigen değerine sahip 5 bileşen Çizelge 6'da verilmiştir. F1 ekseninde en yüksek değerler bitki tipi (S-B) (0.94), BTÇBBY (0.94), BBD (0.93), sarılma hızı (SH) (-0.90), sarılma gücü (SG) (-0.90), sarılma eğilimi (SE) (-0.76) ve sarılma başlangıcı (SB) (-0.75) özelliklerine ait olmuştur. F1 eksenini bitki tipi ve sarılma özelliklerini açıklamakta olup 8.50 ile en yüksek Eigen değerini vermiştir (Çizelge 6). Fasulye genotiplerinde ölçülen morfolojik özellikler bakımından varyasyona en yüksek katkıyı, bitki tipi, sarılma ve ilk fide gelişmesine ait değerler vermiştir (Çizelge 6). İkinci en yüksek Eigen değerine sahip bileşen olan F2 ekseninde ise bayrak yaprak rengi (BYR) (0.66), kanatçık rengi (KR), (0.65), baklada çift renk (BÇR) (0.77), bakla kabuğunda 2.renk (0.77) ve 2.rengin yoğunluğu (0.73) en yüksek değerlere sahip olmuştur (Çizelge 6). Fasulye genetik kaynaklarına ait morfolojik özellikler içinde çiçek ve bakla rengi, varyasyona en fazla katkı sağlayan ikinci önemli özellikler olarak ortaya çıkmıştır. Baklada çift renk (BÇR) (0.45), bakla kabuğunda 2.renk (0.43), 2.rengin yoğunluğu (0.42), bakla ucunun gaga uzunluğu (BUGU) (0.50) ve bakla genişliği (BG) (-0.45) özellikleri aynı zamanda F3 ekseninde en yüksek Eigen değerini veren (2.98) bileşenler olarak ortaya çıkmıştır. Bakla rengi ve bakla özellikleri varyasyona üçüncü derecede katkı sağlayan özellikler olmuştur (Çizelge 6). F4 ekseninde olgunlaşmamış tanenin kabuk rengi (OTKR) (-0.44) ve kılçıklılık (K) (0.57) ve F5 ekseninde çiçek uzunluğu (ÇU) (0.62), çiçek sapı uzunluğu (ÇSU) (0.49), SÇTS (0.43), BYY (0.42), TD (0.41) ve çiçek boyu (ÇB) (0.40) sırasıyla 4. ve 5. en yüksek Eigen değerlerine sahip bileşenlerdir (Çizelge 6). İncelenen temel bileşenlerin kısmi katkıları Şekil 2'de verilmiştir. İkinci bileşene ait baklada çift renk (BÇR), bakla kabuğunda 2.Renk (BK 2. Renk) ve baklada ikinci renk (2. Renk) en yüksek kısmi katkı değeri (11.0-12.5) verirken bunu I. temel bileşeni oluşturan

bitki tipi (sarılıcı-bodur) (S-B), sarılma başlangıcı (SB), sarılma hızı (SH), sarılma gücü (SG), sarılma eğilimi (SE), bodur tiplerde çiçeğin bitkide bulunduğu yer (BTÇBBY), baklanın bitkideki durumu (bodur tiplerde) (BBD) ve bitki boyu (BB) özelliklerine ait katkı değerleri takip etmiştir (Şekil 3). İkinci temel bileşenleri BYR ve KR katkısı yine I. temel bileşen faktörlerine yakın olmuştur (Şekil 3). III. temel bileşenlerinden Bakla ucunun gaga uzunluğu (BUGU), bakla genişliği (BG), gaganın kıvrılması (GK), İlk çiçek boğum sayısı (İÇBS), gaganın oluşum şekli (GOŞ), ilk bakla yüksekliği (İBY) ve Gaga Uzunluğu (GU) azalan oranlarda 7.5 ile 5.0 arasında kısmi katkı değerlerine sahip olmuştur (Şekil 3). İncelenen morfolojik ve fenolojik karakterlerin vektör uzunlukları ve tane verimi dahil karşılıklı ilişkilerini gösteren Biplot grafiği Şekil 4'te verilmiştir. Bodur tiplerde çiçeğin bitkide bulunduğu yer (BTÇBBY), baklanın bitkideki durumu (bodur tiplerde) (BBD), bitki tipi (sarılıcı-bodur) (S-B), kuru sap verimi (KSV), bakla Kabuğunda 2.renk (BK 2.RENK), 2.Rengin yoğunluğu (2.R.K.), sarılma eğilimi (SE) ve sarılma başlangıcı (SB) en yüksek vektör uzunluklarına sahip olmuştur (Şekil 4). Bitki boyu (cm), olgunlaşma gün sayısı (OG), çiçek sapı uzunluğu (ÇSU), çiçek boyutu (ÇB), ilk çiçek boğum sayısı (İÇBS), orta yaprakçığın büyüklüğü (OYB) ve ilk bakla yüksekliği (İBY) özellikleri tane verimi ile aynı yönde ve en dar açıya sahip vektör değerlerine sahip özellikler olarak ortaya çıkmıştır (Şekil 4). Bakla ucunun gaga uzunluğu (BUGU), gaga uzunluğu (GU), gaganın oluşum şekli (GOŞ), baklanın kıvrım şekli (BKŞ), baklada kılçıklılık (K), bakla kesit şekli (BKŞ) ve yaprak rengi (YR) özellikleri tane verimine en geniş açıyla ve zıt yönde vektörler olarak ortaya çıkmıştır (Şekil 4). Erken sarılma başlangıcı (SB=3), hızlı sarılma (SH=7), güçlü sarılma (SG=7) ve erken sarılma eğilimi (SE=3) özellikleri ölçü olarak alındığında bitki boyu 129.6 cm ile 340 cm boya sahip sarılıcı 22 genotip öne çıkmaktadır (Çizelge 7). 22 genotipten ANT-43 (87.8 g), MGL-18 (68.4 g), DZL-09 (56.2 g), MGL-24 (49.0 g) ve PKS-01 (36.3 g) en yüksek tane verimine sahip olmuştur (Ort. 29.8 g) (Çizelge 7). Bayrak Yaprak Rengi (BYR) özelliği Baklada Çift Renk (BÇR) ($r=0.414$, $P<0.01$), Bakla Kabuğunda 2.Renk (BK 2.RENK) ($r=0.397$, $P<0.01$), 2.Rengin yoğunluğu (2 R.K) ($r=0.381$, $P<0.01$), Olgunlaşmamış Tanenin Kabuk Rengi (OTKR) ($r=0.189$, $P<0.05$) ve Kılçıklılık (K) ($r=0.420$, $P<0.01$) özelliği ile ilişkili bulunmuştur.

Ayrıca, Kanatçık Rengi (KR) özelliği Baklada Çift Renk (BÇR) ($r=0.414$, $P<0.01$), Bakla Kabuğunda 2.Renk (BK 2.RENK) ($r=0.397$, $P<0.01$), 2.Rengin yoğunluğu (2 R.K) ($r=0.381$, $P<0.019$), Olgunlaşmamış Tanenin Kabuk Rengi (OTKR) ($r=0.219$, $P<0.05$) ve Kılçıklılık (K) ($r=-0.420$, $P<0.01$) özelliği ile ilişkili bulunmuştur.

Çizelge 4. Batı Anadolu Fasulye Genetik Kaynakları Verim ve Verim Bileşenleri Arasındaki korelasyon katsayıları

	ÇGS	BBGS	BDS	İBY	BB	BBS	YTA	TV	OS	KSV	BTS
ÇKŞ%	-0.018	-0.014	-0.118	0.127	0.005	0.061	0.120	0.206**	0.054	0.059	-0.086
ÇGS(gün)	1	0.987**	0.137	0.042	0.305**	0.165*	-0.357**	0.031	0.202*	0.276**	0.283**
BBGS(gün)		1	0.129	0.026	0.309**	0.162*	-0.364**	0.039	0.192*	0.279**	0.302**
BDS(adet)			1	0.002	0.078	0.043	-0.137	0.016	0.058	0.204*	0.024
İBY(cm)				1	0.121	0.003	0.066	0.034	0.118	0.062	0.142
BB(cm)					1	0.121	-0.041	0.179*	0.283**	0.521**	0.15
BBS(adet)						1	-0.32**	0.545**	0.226**	0.252**	0.219**
YTA (g)							1	-0.038	-0.118	-0.01	-0.224**
TV(g bitki ⁻¹)								1	0.235**	0.371**	0.192*
OS(gün)									1	0.26**	0.083
KSV(g bitki ⁻¹)										1	0.159*
BTS(adet)											1

*P < % 0.05 seviyesinde önemli, ** P<0.01 seviyesinde önemli

Çizelge 5. Yerel Fasulye genetik kaynakları temel bileşen analizine ait eigen değerleri, yüzde varyasyon ve kümülatif değerleri

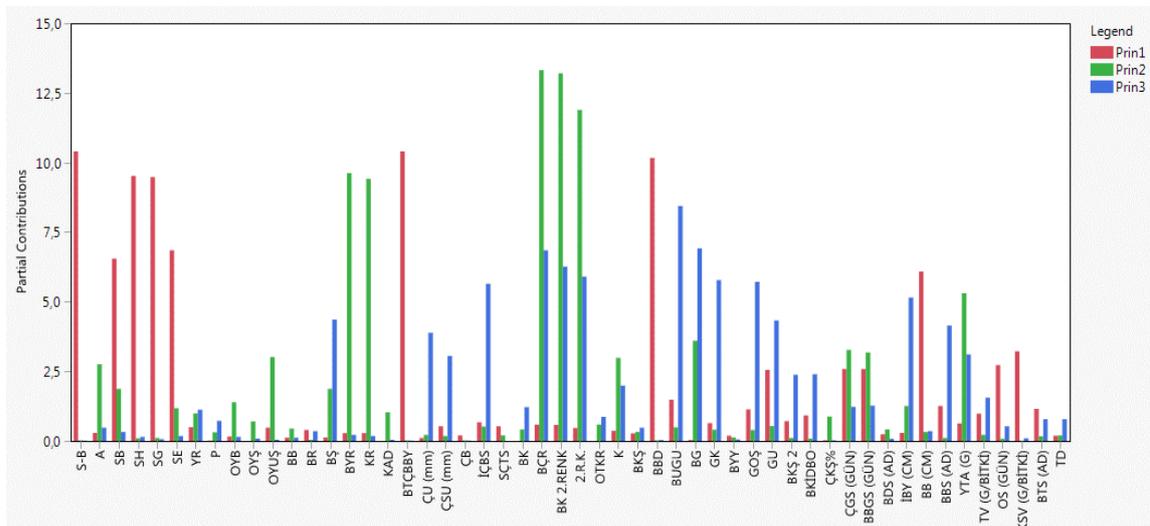
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15	F16	F17
Eigen değeri	8.50	4.48	2.98	2.67	2.52	2.13	2.03	1.88	1.71	1.56	1.42	1.36	1.29	1.19	1.15	1.09	1.03
Varyasyon (%)	16.3	8.6	5.7	5.1	4.8	4.0	3.9	3.6	3.2	3.0	2.7	2.6	2.4	2.2	2.2	2.1	1.9
Kümülatif %	16.3	24.9	30.7	35.8	40.6	44.7	48.6	52.2	55.5	58.5	61.2	63.8	66.3	68.6	70.8	72.9	74.9

Çizelge 6. Yerel Fasulye genotiplerine ait temel bileşen analizi

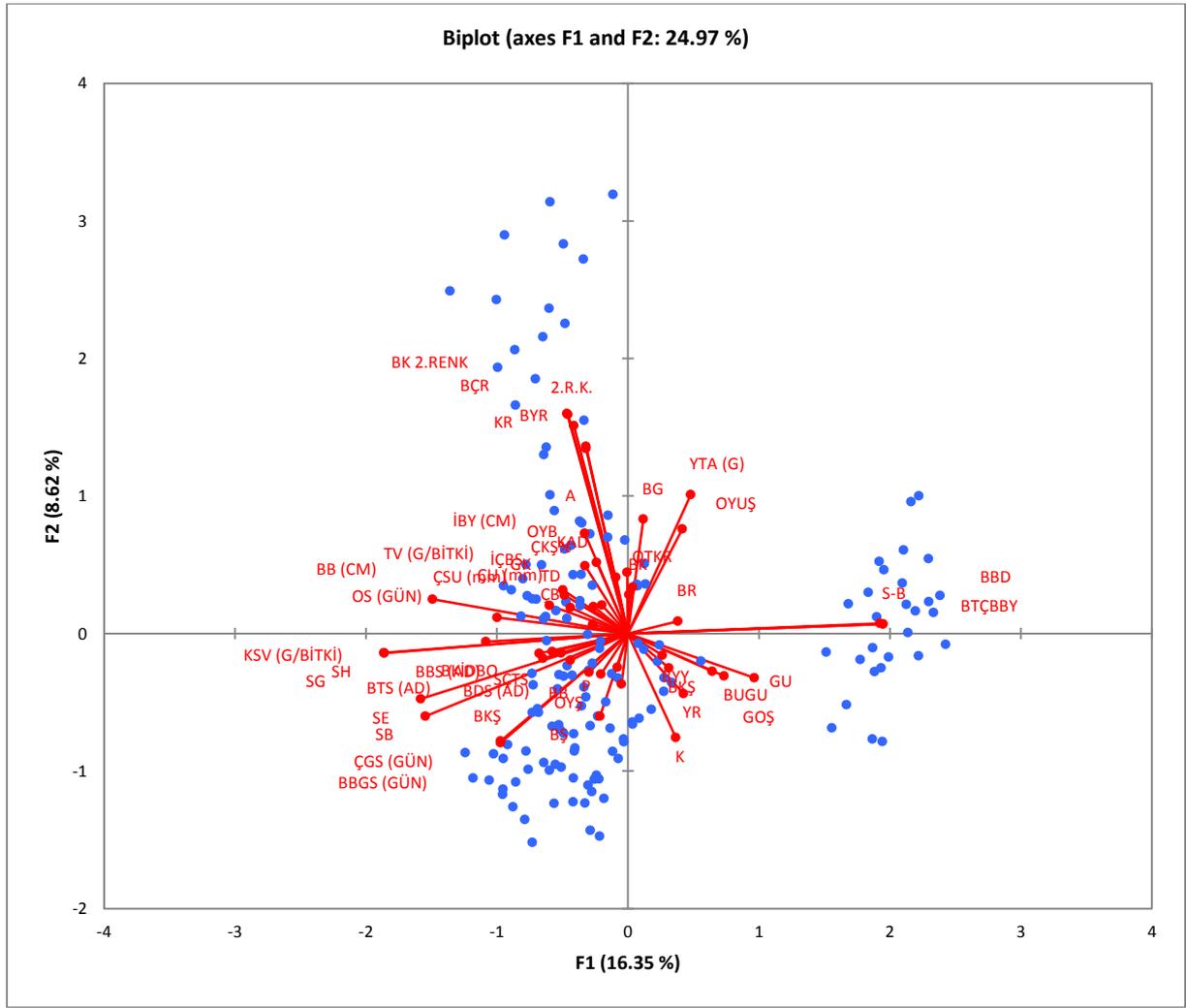
Özellik	F1	F2	F3	F4	F5	Özellik	F1	F2	F3	F4	F5
S-B	0.94	0.03	0.02	0.12	-0.03	K	0.18	-0.37	0.24	0.57	0.03
A	-0.16	0.35	0.12	0.17	-0.16	BKŞ	0.15	-0.12	-0.12	-0.09	-0.16
SB	-0.75	-0.29	0.10	0.11	-0.01	BBD	0.93	0.04	0.03	0.10	-0.02
SH	-0.90	-0.07	-0.07	-0.12	0.08	BUGU	0.36	-0.15	0.50	-0.21	0.18
SG	-0.90	-0.07	-0.05	-0.11	0.08	BĞ	0.06	0.40	-0.45	-0.20	0.33
SE	-0.76	-0.23	0.07	-0.03	0.05	GK	-0.23	0.13	-0.41	0.55	0.08
YR	0.21	-0.21	0.18	0.06	-0.31	BY	0.13	-0.08	-0.04	0.02	0.42
P	-0.04	-0.12	0.15	-0.16	0.02	GOŞ	0.31	-0.13	0.41	-0.50	0.03
OYB	-0.12	0.25	-0.07	-0.16	-0.12	GU	0.47	-0.16	0.36	-0.27	0.13
OYŞ	-0.02	-0.18	0.05	-0.16	0.06	BKŞ	-0.25	-0.07	-0.27	0.12	0.06
OYUŞ	0.20	0.37	-0.04	-0.06	0.05	BKİDBO	-0.28	-0.06	-0.27	0.24	0.09
BB	-0.10	-0.14	0.06	0.07	0.04	ÇKŞ	-0.04	0.20	-0.03	0.18	-0.02
BR	0.18	0.04	0.10	-0.24	0.04	ÇGS	-0.47	-0.38	0.19	-0.28	-0.21
BŞ	-0.10	-0.29	0.36	0.16	-0.06	BBGS	-0.47	-0.38	0.19	-0.28	-0.23
BYR	-0.15	0.66	0.08	-0.38	-0.16	BDS	-0.14	-0.14	0.05	-0.08	0.10
KR	-0.16	0.65	0.07	-0.38	-0.18	İBY	-0.16	0.24	-0.39	-0.05	-0.29
KAD	-0.00	0.21	0.04	0.21	-0.18	BB	-0.72	0.12	-0.10	-0.15	0.12
BTÇBBY	0.94	0.03	0.02	0.12	-0.03	BBS	-0.33	-0.07	0.35	0.44	-0.15
ÇU	-0.10	0.10	0.34	-0.10	0.62	YTA	0.23	0.49	-0.30	-0.06	0.39
ÇSU	-0.21	0.09	0.30	-0.08	0.49	TV	-0.29	0.10	0.22	0.29	-0.02
ÇB	-0.13	0.03	0.02	-0.11	0.40	OS	-0.48	0.06	0.13	0.14	-0.03
İÇBS	-0.24	0.15	-0.41	-0.07	-0.32	KSV	-0.52	-0.03	0.05	0.02	0.20
SÇTS	-0.21	-0.09	0.02	0.04	0.43	BTS	-0.31	-0.09	0.15	-0.06	-0.38
BK	0.00	0.14	0.19	0.18	-0.11	TD	-0.13	0.09	-0.15	0.15	0.41
BÇR	-0.22	0.77	0.45	0.21	-0.07	Eigen değeri	8.50	4.48	2.98	2.67	2.52
BK 2.RENK	-0.22	0.77	0.43	0.20	-0.05	Varyasyon (%)	16.35	8.62	5.72	5.13	4.84
2.R.K.	-0.20	0.73	0.42	0.16	-0.04	Kümülatif (%)	16.35	24.97	30.70	35.83	40.67
OTKR	0.02	0.16	-0.16	-0.44	-0.22						

Çizelge 7. Batı Anadolu Bölgesi illerinden toplanılan yerel fasulye genotipleri, bitki boyu (cm) ve bitki başına tane verimleri (g bitki⁻¹)

Genotip No	Bitki boyu	Tane verimi	Genotip No	Bitki boyu	Tane verimi	Genotip No	Bitki boyu	Tane verimi	Genotip No	Bitki boyu	Tane verimi
MGL-30	200.0	145.6	MGL-25	190.0	35.6	MGL-04	41.4	25.3	KTH-30	72.7	17.3
MGL-38	180.0	101.7	KTH-29	81.0	35.4	IPT-10	220.0	25.2	KTH-25	50.2	17.0
ANT-43	270.0	87.8	BRD-14	120.0	35.3	DZL-06	112.0	25.0	MGL-36	100.0	16.8
MGL-26	210.0	81.9	MNS-05	41.7	35.2	ANT-47	199.0	24.8	ANT-38	250.0	16.5
KTH-04	56.2	69.3	MGL-13	41.0	35.0	ANT-10	250.0	24.5	ANT-07	177.5	16.3
ANT-29	164.0	68.8	KTH-21	280.0	34.9	ANT-15	215.0	24.0	MGL-11	260.0	16.3
MGL-18	260.0	68.4	ANT-50	103.0	34.8	BRD-20	270.0	23.9	MGL-33	270.0	16.3
ANT-24	194.0	67.8	KTH-18	160.0	34.7	DZL-02	126.3	23.5	BRD-03	80.0	15.9
ANT-04	200.0	64.5	AYD-11	193.0	33.5	IPT-01	143.0	23.3	KTH-32	270.0	15.7
KTH-03	181.0	62.9	ANT-02	240.0	32.7	MGL-01	240.0	23.3	ANT-09	135.0	14.7
ANT-08	190.0	56.8	ANT-48	45.0	32.6	UŞK-01	42.8	23.2	IPT-03	46.4	14.5
DZL-09	160.0	56.2	BRD-29	210.0	32.5	KTH-01	183.3	23.1	MNS-07	46.3	14.0
AYD-15	190.0	55.8	KTH-16	42.0	32.4	BRD-07	153.0	23.1	MGL-07	66.0	13.9
ANT-40	230.0	55.7	ANT-21	82.0	32.0	MGL-09	72.0	22.6	KTH-05	280.0	13.8
MGL-27	270.0	55.5	IZM-01	155.3	31.8	BRD-18	142.0	22.5	MGL-05	41.6	13.5
ANT-13	183.0	53.7	IPT-09	290.0	31.6	MNS-08	48.6	22.4	BRD-02	42.6	13.5
KTH-02	183.0	53.6	ANT-26	109.0	31.5	ANT-22	129.6	22.3	AYD-04	38.0	13.2
KTH-11	144.0	49.4	AYD-07	200.0	31.3	MGL-43	38.0	21.6	AYD-02	39.8	13.2
MGL-24	260.0	49.0	ANT-42	190.0	31.2	BRD-25	96.7	21.1	IZM-02	41.4	13.1
MGL-40	179.0	48.4	MGL-19	250.0	31.0	ANT-01	167.4	21.0	MGL-39	170.0	13.1
ANT-25	207.0	47.6	ANT-30	162.0	29.8	MNS-03	233.7	20.9	KTH-08	214.0	12.9
MGL-29	201.0	46.2	MGL-08	340.0	29.6	MGL-10	235.0	20.8	MGL-32	245.0	12.9
ANT-14	192.0	44.7	ANT-44	160.0	29.0	DZL-03	50.7	20.7	AYD-05	42.4	12.8
KTH-09	105.0	44.3	DZL-05	160.0	28.8	IPT-07	225.0	20.6	MNS-01	95.7	12.1
MGL-21	120.0	43.8	ANT-37	179.0	28.5	IPT-05	210.3	20.5	AYD-01	39.0	12.1
ANT-49	157.0	43.8	MNS-04	200.0	28.1	ANT-06	68.3	20.4	MGL-16	180.0	11.2
IZM-04	245.0	43.1	BRD-26	114.0	28.0	KTH-28	50.0	20.3	ANT-32	100.0	10.2
IPT-11	225.0	42.3	KTH-24	53.8	27.9	MNS-06	46.3	20.2	ANT-05	59.6	10.1
AYD-16	197.0	42.0	IPT-04	260.0	27.7	MGL-15	77.0	19.9	ANT-41	195.0	9.7
ANT-35	170.0	39.1	KTH-06	40.2	27.4	AYD-08	187.0	19.9	ANT-36	153.0	9.4
KTH-31	50.0	38.5	BRD-28	220.0	27.2	ANT-39	230.0	19.6	BRD-09	195.0	8.8
BRD-24	86.7	38.0	ANT-45	183.3	26.3	BRD-13	180.0	19.5	MGL-17	230.0	8.3
MGL-22	165.0	38.0	BRD-19	230.0	26.3	KTH-27	49.2	19.3	KTH-19	340.0	8.2
AYD-06	51.6	37.5	BRD-16	103.0	26.1	BRD-17	190.0	19.2	BRD-15	320.0	7.3
KTH-26	160.0	37.4	ANT-18	205.2	26.1	MGL-14	160.0	19.2	BRD-22	178.0	7.2
DZL-01	130.0	37.3	AYD-03	49.3	26.0	ANT-23	248.0	19.0	KTH-17	156.0	7.1
MGL-20	160.0	36.8	IPT-08	162.0	25.8	KTH-33	60.0	18.8	Ortalama	158.7	30.0
PKS-01	340.0	36.3	BRD-10	195.0	25.7	AYD-09	190.3	18.0	St. Hata	6.32	1.51
IPT-02	227.0	36.1	MGL-42	265.0	25.5	KTH-15	78.3	17.4	St. Sapma	79.01	18.90
MGL-03	178.0	35.9	AYD-14	281.0	25.4	IPT-06	33.8	17.3	N	156	156



Şekil 3. Yerel fasulye genetik kaynaklarına ait incelen morfolojik özelliklerin varyasyona nisbi katkısı

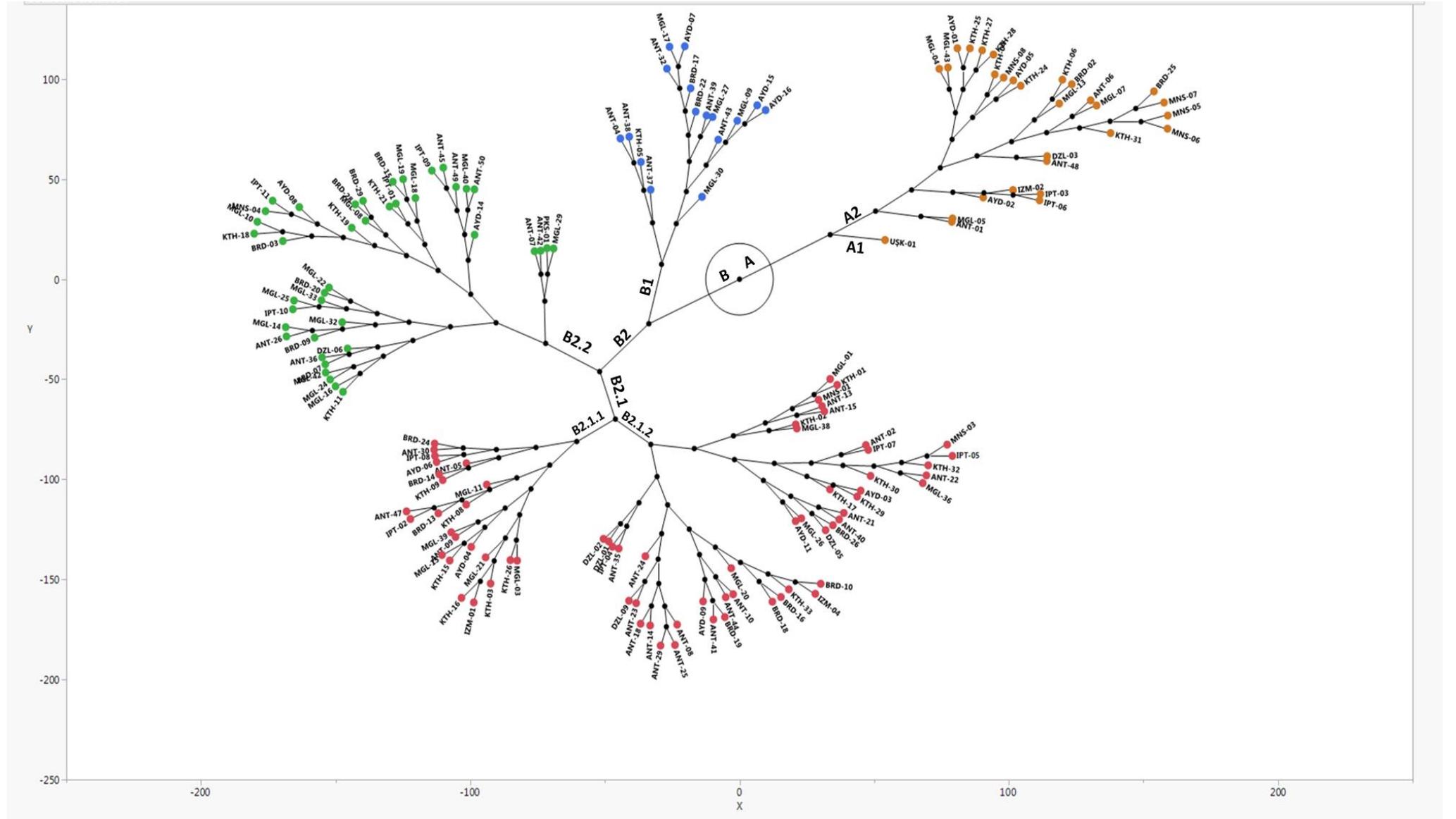


Şekil 4. Yerel fasulye genetik kaynaklarının morfolojik özelliklerine ait temel bileşen analizi biplot grafiği

Yerel fasulye genetik kaynaklarına ait morfolojik özelliklere ait veriler kullanılarak üretilen benzerlik takımyıldızı grafiği (dendogram) Şekil 5'te verilmiştir. Takımyıldızı grafiği UPGMA benzerlik dendogramına göre daha az yer tutmakta ve genotipler daha net olarak okunabilmektedir. Benzerlik takımyıldızı dendogramı ekotipleri önce iki ana gruba ayırmıştır (A ve B). Grafiğin sağ üst köşesinde UŞK-1 ile başlayan A kümesi iki alt kümeye ayrılmıştır. MGL-30 genotipi ile başlaya ve MGL-01 ile biten B kümesi ise önce B1 ve B2 şeklinde iki alt kümeye ayrılmış ve her bir alt küme iki alt-alt kümeye ayrılmıştır (Şekil 5). Benzerlik takımyıldızı grafiğine göre B.2.1.2 grubunda yer alan MGL-01, KTH-01, MNS-01, ANT-13, ANT-15, KTH-02 ve MGL-38 genotipleri A1 ve A2 grubunda yer alan UŞK-01, ANT-01, MGL-05, AYD-02, IPT-06, IPT-03 ve IZM-02 genotipleri ile en yüksek farklılık (en uzak benzerlik) oranına sahip olmuşlardır (Şekil 5). A2 grubunda yer alan MGL-04, MGL-43, AYD-01, KTH-25, KTH-27 ve KTH-28 genotipleri B1 grubuna giren MGL-30, AYD-16, AYD-15, MGL-09, ANT-43 ve MGL-27 genotipleri ile en yüksek benzerlik oranına sahip olmuşlardır. Her bir alt grup içinde aynı grup içinde yer alan genotipler arasında benzerlik oranı yüksek

bulunmaktadır.

156 yerel ekotipi içeren fasulye genetik kaynağı ile yürütülen bu çalışma Batı Anadolu Bölgesi'nin yerel fasulye genetik kaynakları açısından zengin bir çeşitliliğe sahip olduğunu göstermektedir. Üstün kalite özelliklerine ve yerel şartlara uzun süreli adaptasyon kapasitesine sahip yerel ekotiplerin toplanması, karakterizasyonu, ıslah programlarında kullanarak yeni çeşitlerin ıslahı fasulye tarımının geliştirilmesi açısından oldukça önemlidir. Diğer ürünlerde görülen yoğun tarım uygulamalarının ve ticari çeşitlerin kullanımının yaygınlaşmasına rağmen fasulye tarımında yerel ekotiplerin kullanımı devam etmektedir. Önceki çalışmalar da bu bölgedeki çeşitliliğin varlığını teyit etmektedir (Çancı, 2016). Türkiye genel anlamda fasulye biyoçeşitliliği açısından zengin kabul edilmektedir. Batı Karadeniz Bölgesi (Sözen et al., 2012), Karadeniz Bölgesi (Pekşen and Gülümser (2005), Doğu Akdeniz Bölgesi (Anlarsal et al. 2000) ve Doğu Anadolu Bölgesi (Elkoca and Çınar, 2015) genetik kaynakları üzerinde yürütülen çalışmalar zengin yerel çeşitliliğe işaret etmektedir.



Şekil 5. Yerel fasulye genetik kaynaklarına ait benzerlik takımyıldızı grafiği

Yüzyıllardan beri hemen hemen her hanede devam eden fasulye üretimi, lezzet açısından üreticiler tarafından yapılan seleksiyon ve yerel ekotiplere olan tüketici talebi yerel biyoçeşitliliğin oluşmasında önemli faktörler olarak ortaya çıkmaktadır. Bu makale, kapsamlı tarama, toplama ve morfolojik karakterizasyon çalışması ile Batı Anadolu Bölgesi fasulye biyoçeşitliliğinden istifade edilebilmesi için gerekli alt yapıyı hazırlamaktadır. Benzerlik analizi sonucu üretilen genotiplere ait takım grafiği Batı Anadolu Bölgesi fasulye genetik kaynakları içinde morfolojik özellikler bakımından polimorfizm olduğunu göstermektedir.

Doğu Anadolu Bölgesi'nden toplanılan fasulye genetik kaynakları üzerinde Simple Sequence Repeat (SSR) DNA belirteçleri ile yapılan analizlerde yüksek oranda polimorfizm tespit edilmiştir (Khaidizar et al., 2012). Benzer şekilde, ülkemiz fasulye genetik kaynakları ile yapılan çalışmalarda da, fasulyenin Türkiye orjinli olmamasına rağmen genotipler arasındaki genetik çeşitliliğin yüksek olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Balkaya and Yanmaz, 2002; Sarikamis et al., 2009; Erdinc et al., 2017; Ekincialp ve Şensoy, 2018; Nadeem et al., 2018). Bölgesel, toprak ve iklim şartları, farklı yetiştirme teknikleri ve farklı tüketici talepleri doğrultusunda seleksiyon gibi uygulamaları biyolojik çeşitliliğin oluşmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Scarano et al., 2014). Yukarıdaki çalışmalar sonucunda tespit edilen polimorfizimden yararlanılarak yerel ve bölgesel amaçlar için ıslah çalışmaları yapılabilir. Bu çalışmada benzer şekilde tespit edilen polimorfizimden istifade edilerek (örn. MGL-01, KTH-01, MNS-01, ANT-13, ANT-15, KTH-02 ve MGL-38 genotipleri ile UŞK-01, ANT-01, MGL-05, AYD-02, IPT-06, IPT-03 ve IZM-02 genotipleri arasında görülen yüksek polimorfizm) melezleme ıslahı ile yeni çeşitler geliştirilebilir.

Fasulye genetik kaynakları içinde ölçülen morfolojik özellikler açısından çeşitliliğe en yüksek katkıyı bitki tipi, sarılma hızı ve ilk fide gelişmesine ait değerler vermiştir. Bunları çiçek rengi, bakla rengi ve bakla özellikleri takip etmiştir. Fide gelişme hızı ve bitki tipi fasulye üretiminde önemli özellikler olarak ortaya çıkmaktadır. Hızlı çimlenme, hızlı çıkış, hızlı fide gelişimi ve erken kanopi tesisi baklagil bitkilerinde avantaj olarak ortaya çıkmaktadır. Erken kanopi tesisi tarla şartlarında erken yaprak alanı tesisi, güneş ışığından daha fazla istifade edilmesi, evaporasyonun azaltılması, kuraklık stresinden kaçınma ve yabancı otlarla rekabet avantajlarını sağlamaktadır. Erken fasulye çeşitlerinin yüksek verim sağladığı bildirilmiştir (White and Izquierdo, 1991). Erken gelişme özelliğine sahip ANT-43, MGL-18, DZL-09, MGL-24 ve PKS-01 ıslah çalışmalarında kullanılabilir. Çiçek ve bakla rengi ıslah çalışmalarında morfolojik markör olarak değerlendirilebilir.

Bu çalışmada bitki başına tohum verimi, bitki başına

bakla verimi ile önemli ve pozitif korelasyon ($r=0.545$, $P<0.01$) göstermiştir. Fasulye üzerine yapılan Path analizi çalışmaları bitki başına bakla sayısı tohum verimi ile yüksek oranda ilişkili çıkmıştır (Toker and Cagırgan, 2004; Duzdemir, 2009; Petrova and Desheva, 2016). Yürütülen bu çalışmalarda bitki başına bakla sayısı ve tane ağırlığı en önemli verim unsurları olarak belirlenmiştir. *Vigna mungo* (L.) Hepper bitkisinde tohum verimi, bitki başına bakla sayısı, 100 tane ağırlığı, bitki boyu ve bakla uzunluğu ile ilişkili çıkmıştır (Parveen et al., 2011). İri daneli mercimek bitkisinde ise (*Lens culinaris* Medik.) bitki başına bakla sayısı en az etkili verim unsuru olarak belirlenmiştir (Çancı and Toker, 2006). Kulaz and Çiftçi (2012), bodur kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisinde bu verim unsurlarının yanında toplam biyolojik veriminde de önemli olduğunu bildirmiştir. Taze fasulye verimi üzerine bakla sayısının önemli etkisi olduğu bildirilmiştir (Prakash et al., 2015). Bu çalışmada bitki boyu (cm), olgunlaşma gün sayısı (OG), çiçek sapı uzunluğu (ÇSU), çiçek boyutu (ÇB), ilk çiçek boğum sayısı (İÇBS), orta yaprakçığın büyüklüğü (OYB) ve ilk bakla yüksekliği (İBY) özellikleri tane verimi ile aynı yönde ve en dar açıya sahip vektör değerlerine sahip özellikler olarak ortaya çıkmıştır. Bakla sayısı yanında tane veriminin yukarıdaki özelliklerle ilişkisinin daha detaylı incelenmesi gerekir. Ancak, bütün bahsedilen denemelerden elde edilen sonuçlarla birlikte değerlendirildiğinde bitki başına bakla sayısının önemli bir seleksiyon kriteri olarak kullanılabileceği görülmektedir. Bitki başına tane verimi ortalama 33.53 g (Std. sapma=11.73) olup minimum 7.1 g ile 145.6 g arasında 6.38 katı değişim göstermiştir. Diğer çalışmalarda (Anlarsal ve ark., 2000) bitki başına tohum verimi bodur tiplerde 7.3 g ile 14.3 g arasında, sarılıcı tiplerde 3.6 g ile 9.4 g arasında, Çiftçi ve ark. (2009) ise 9.59-119.28 g arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu çalışmada değişim oranı daha yüksek bulunmuştur. Özellikle yüksek verimli MGL-30 (145.6 g), MGL-38 (101.7 g), ANT-43 (87.8 g) ve MGL-26 (81.9 g) ıslah çalışmalında ileri yol materyali olarak kullanılabilir. Bu çalışmada morfolojik ve fenolojik özellikler açısından tespit edilen değerlerdeki değişim, önceki bazı çalışmalardan (Sözen ve ark., 2012; Pekşen ve Gülümser, 2005; Elkoca ve Çınar, 2015; Çancı, 2016) daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada tespit edilen bitki boyu değerleri (33.8-340.0 cm, ort.158.8 cm), Elkoca and Çınar (2015) (37.7-50.5 cm), Pekşen ve Gülümser (2005) (17.7- 103 cm) ve Sözen ve ark. (2012) (39.2-262.0 cm) tarafından rapor edilen değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Belirtilen farklılık diğer fenolojik ve morfolojik özelliklerde de görülmektedir. Bu farklılık, üzerinde çalışılan genetik kaynakların toplama alanlarındaki coğrafi çeşitlilikle ilgili olabilir. Bu çalışmada Akdeniz Bölgesi illeri yanında Batı ve Kuzey Ege Bölgesi illeri gibi farklı iklim ve coğrafya alanlarından toplama yapılmıştır. Kütahya gibi

Marmara, Ege ve İç Anadolu bölgelerinin birleşme alanında yer alan illerin biyolojik çeşitlilik açısından daha zengin olduğu bilinmektedir.

SONUÇ

Batı Anadolu Bölgesi'nde çok farklı iklim ve coğrafik özelliklere sahip 10 ilinden toplanılan 156 yerel fasulye ekotipi üzerinde tarla şartlarında yapılan gözlemlerde fenolojik ve morfolojik özellikler açısından çok zengin bir varyasyon belirlenmiştir. Yerel ekotiplerdeki bu varyasyondan istifade ederek üstün verimli ve adaptasyon yeteneği yüksek fasulye çeşitleri geliştirilebilir. Tespit edilen morfolojik özellikler seleksiyon ve melezleme ıslahında markör olarak kullanılabilir. Yüksek tane verimine sahip sarılıcı MGL-30, MGL-38, ANT-43 ve MGL-26 ve bodur KTH-04, KTH-31, BRD-24 ve AYD-06 ekotipleri ileri ıslah çalışmalarında kullanılabilir. Morfolojik özellikler açısından en uzak gruplarda yer alan MGL-01, KTH-01, MNS-01 ve ANT-13 ile UŞK-01, ANT-01, MGL-05 ve AYD-02 ekotipleri kullanılarak melezleme ıslahı ile yeni çeşitler geliştirilebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBITAK) tarafından desteklenmiştir (Proje no. 115R042).

KAYNAKLAR

Anlarsal AE, Yücel C, Özveren D 2000. The Determination of Seed Yield and Yield Components in Some Bean (*Ph. vulgaris*) Cultivars and Correlations Between These Characters Under the Çukurova Conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 24: 19-29 (in Turkish with English summary).

Anonim 2018a. Food and Agricultural Organization. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim tarihi: 17 Ocak 2018).

Anonim 2018b. Turkish Statistical Institute, Ankara, Turkey. http://www.turksat.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001. (Access date: 18 Ocak 2018).

Aquino-Bolaños EN, García-Díaz YD, Chavez-Servia JL, Carrillo-Rodríguez JC, Vera-Guzmán AM, Heredia-García E 2016. Anthocyanin, polyphenol, and flavonoid contents and antioxidant activity in Mexican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces. Emirates Journal of Food and Agriculture, 28: 581-588.

Balkaya A, Yanmaz R 2002. Morphological properties of cultivar nominates selected Black Sea Region bean populations and identification by protein markers. Ankara University Journal of Agricultural Sciences, 9: 182-188.

Bitocchi E, Bellucci E, Giardini A, Rau D, Rodriguez M, Biagetti E, Santilocchi R, Spagnoletti Zeuli P, Gioia T, Logozzo G, Attene G, Nanni L, Papa R 2013. Molecular analysis of the parallel

domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Mesoamerica and the Andes. New Phytologist, 197: 300-313.

- Blair MW, Galeano CH, Tovar E, Muñoz Torres MC, Castrillón AV, Beebe SE, Rao IM 2012. Development of a Mesoamerican intra-genepool genetic map for quantitative trait loci detection in a drought tolerant × susceptible common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. Molecular Breeding, 29(1): 71-88.
- Çancı H, Toker C 2006. Evaluation of selection criteria in large-seeded Lentil (*Lens culinaris* Medik.) Genotypes Using Phenotyping Correlations, Path and Factor Analyses. Turkish Journal of Field Crops, 11:19-27.
- Çancı H 2016. Determination to Phenologic, Morphologic and Agronomic Characters of Bean (*Phaseolus* spp.) Mini- Core Collection in Antalya Conditions. Research Journal of Agricultural Sciences, 9: 26-32 (in Turkish with English summary).
- Çiftçi V, Şensoy S, Türkmen Ö 2009. Van-Gevaş'ta Yaygın Olarak Yetiştirilen Yalancı Dermason Fasulye Populasyonunun Seleksiyon Yöntemiyle Islahı, TOVAG- 106O346 Nolu Proje Sonuç Raporu.
- De La Fuente María, López-Pedrouso M, Alonso J, Santalla M, De Ron A.M, Gonzalo A, Zapata C 2012. In-depth characterization of the phaseolin protein diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. Food Technology and Biotechnology, 50(3): 315-325.
- Duzdemir O 2009. Using Path Coefficient Analysis to Determine the Relationship between Yield and Yield Components of Dry Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Applied Biological Sciences, 3: 45-49.
- Ekinci alp A, Şensoy S 2018. Determination of Genetic Diversity Using Phenotypic and Molecular Methods among Bean Genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.) in Lake Van Basin. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 6(7): 893-902.
- Elkoca E, Çınar T 2015. The adaptation, agronomical and quality characteristics of some dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars and lines under Erzurum ecological conditions. Anadolu Journal of Agricultural Science, 30: 141- 153 (in Turkish with English summary).
- Elkoca E, Haliloglu K, Kantar F, Eken C, Donmez F, Aydın M 2010. Genetic diversity of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in the northeast region of Turkey based on morphological traits. 5th International Food Legumes Research Conference (IFLRC V) & 7th European Conference on Grain Legumes (AEP VII), Legumes for Global Health, Legume Crops and Products for Food, Feed and Environmental Benefits, scientific books, (pp. 36), 26-30 April, 2010, Antalya, Turkey.
- Erdinc C, Turkmen O, Dasgan HY, Sensoy S 2017.

- Phenotypic and molecular genetic diversity among some Turkish bean genotypes. JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences, 27(6):1963-1973.
- Khaidizar MI, Haliloglu K, Elkoca E, Aydin M, Kantar F 2012. Genetic diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces grown in northeast Anatolia of Turkey assessed with simple sequence repeat markers. Turkish Journal of Field Crops, 17(2): 145-150.
- Kulaz H, Çiftçi V 2012. Relationships among yield components and selection criteria for seed yield improvement in bush bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Agricultural Science, 18: 257-262.
- Kwak M, Gepts P 2009. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., *Fabaceae*). Theoretical and Applied Genetics, 118(5): 979-992
- Nadeem MA, Habyarimana E, Çiftçi V, Nawaz MA, Karaköy T, Comertpay G, Ercişli S 2018. Characterization of genetic diversity in Turkish common bean gene pool using phenotypic and whole-genome DArTseq-generated silicoDArT marker information. PloS one, 13(10), e0205363.
- Parveen SI, Sekhar MR, Reddy DM, Sudhakar P 2011. Correlation and path coefficient analysis for yield and yield components in blackgram (*Vigna mungo* (L.) Hepper). International Applied Biology and Pharmaceutical Technology, 2: 619-625.
- Prakash J, Ram RB, Meena ML 2015. Genetic variation and characters interrelationship studies for quantitative and qualitative traits in french bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under Lucknow conditions. Legume Research, 38: 425-433.
- Pekşen E, Gülümser A 2005. Relationships between seed yield and yield components and path analysis in some common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes. The *Journal of Agricultural Faculty of Ondokuz Mayıs University*, 20: 82-87 (in Turkish with English summary).
- Petrova SD, Desheva GN 2016. Path coefficient and correlation analyses of quantitative characters in Chickpea (*Cicer arietinum*). Phytologia Balcanica, 22: 243-246.
- Sarıkamış G, Yaşar F, Bakır M, Kazan K, Ergül A 2009. Genetic characterization of green bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes from eastern Turkey. Genetics and Molecular Research, 8(3): 880-887.
- Scarano D, Rubio F, Ruiz JJ, Rao R, Corrado G 2014. Morphological and genetic diversity among and within common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from the Campania region (Southern Italy). Scientia Horticulturae, 180: 72-78.
- Scarano D, Rao R, Masi P, Corrado G 2015. SSR fingerprint reveals mislabeling in commercial processed tomato products. Food Control, 51: 397-401.
- Singh RJ, Chung GH, Nelson RL 2007. Landmark research in legumes. Genome, 50: 525-537.
- Sözen Ö, Özçelik H, Bozoğlu H 2012. Determination of Biodiversity of Collected Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Populations in Western Black Sea Region, Turkey. Research Journal of Agricultural Sciences, 5: 59-63 (in Turkish with English summary).
- Toker C, Cagırgan MI 2004. The use of phenotypic correlations and factor analysis in determining characters for grain yield selection in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Hereditas, 140: 226-228.
- White JW, Izquierdo J 1991. Physiology of yield potential and stress tolerance. In: A. van Schoonhoven & O. Voysest (Eds.), Common Beans. Research for Cop Improvement, pp. 287-382. CAB Int CIAT, Colombia.

Bazı Makarnalık ve Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Kalite Özelliklerinin Araştırılması

Seydi AYDOĞAN^{1*}, Mehmet ŞAHİN², Aysun GÖÇMEN AKÇACIK³, Berat DEMİR⁴, Sümeyra HAMZAOĞLU⁵
Enes YAKIŞIR⁶

Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Konya

¹<https://orcid.org/0000-0003-0472-1211>, ²<https://orcid.org/0000-0003-2446-5227>, ³<https://orcid.org/0000-0002-8209-0796>

⁴<https://orcid.org/0000-0001-6102-2527>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-0572-3801>, ⁶<https://orcid.org/0000-0002-0161-9206>

✉: seydiaydogan@yahoo.com

ÖZET

Bu araştırma bazı makarnalık buğday ve ekmeklik buğday çeşitlerinin kalite özelliklerinin karşılaştırılması amacıyla yürütülmüştür. Yedi makarnalık ve yedi ekmeklik buğday çeşidinin sulu koşullarda tesadüf blokları deneme desenine göre 2 tekerrürlü olarak kalite ve istatistik analizleri yapılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre; ekmeklik buğday çeşitlerinde ortalama değerlerin değişim aralığı; bin tane ağırlığı 31.10-41.31 g, hektolitre ağırlığı 72.38-78.48 kg, protein oranı % 14.16-16.09, ekmek hacmi 410-570 cm³, farinograf su absorpsiyonu % 62.50-68.20, miksograf gelişme süresi 1.43-2.77 dk., miksograf toplam alanı 358-401 Nm olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde ortalama değerlerin değişim aralıkları; bin tane ağırlığı 37.05-49.41 g, hektolitre ağırlığı 74.12-78.92 kg, protein oranı % 14.46-16.07, ekmek hacmi 390-475 cm³, farinograf su absorpsiyonu % 67.60-71.10, miksograf gelişme süresi 2.18-3.42 dk., miksograf toplam alanı 334-412 Nm olarak bulunmuştur. Ekmeklik buğday çeşitlerinin reolojik hamur özelliklerinin makarnalık buğday çeşitlerinden daha iyi olduğu belirlenmiştir. Fakat kullanım amacına göre hammadde kalite talebinin değişebileceği göz önünde bulundurularak üretim yapılacak çeşit seçimine dikkat edilmelidir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 13.05.2019

Kabul Tarihi : 11.09.2019

Anahtar Kelimeler

Makarnalık buğday

Ekmeklik buğday

Kalite

Research of Quality Traits of Some Durum Wheat and Bread Wheat Varieties

ABSTRACT

This research was carried out to compare the quality traits of some durum wheat and bread wheat varieties. Quality of seven durum and seven bread wheat varieties were analyzed in a randomized block design experiment in irrigated conditions. According to the research results, change range of average values in bread wheat varieties were determined as; 31.10-41.31 g of thousand kernel weight, 72.38-78.48 kg test weight, 14.16-16.09% protein content, 410-570 cm³ bread volume, 62.50-68.20% farinograph water absorption, 1.43-2.77 min farinograph development time, and 358-401 Nm mixograph total area. Range of change of average values in durum wheat varieties were found as; 37.05-49.41 g thousand kernel weight, 74.12-78.92 kg test weight, 14.46-16.07 % protein content, 390-475 cm³ bread volume, 67.60-71.10% farinograph water absorption, 2.18-3.42 min farinograph development time, and 334-412 Nm mixograph total area. It was determined that rheological dough properties of bread wheat varieties were better than durum wheat varieties. Considering the raw material quality demand may change according to the purpose of use, the selection of variety should be paid attention.

Research Article

Article History

Received : 13.05.2019

Accepted : 11.09.2019

Keywords

Durum wheat

Bread wheat

Quality

To Cite : Aydoğan S, Şahin M, Gökmen Akçacık A, Demir B, Hamzaoğlu S, Yakışır E 2019. Bazı Makarnalık ve Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Kalite Özelliklerinin Araştırılması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22(Ek Sayı 2): 264-271. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.563954.

GİRİŞ

İnsan beslenmesindeki en temel besinlerin (unlu

mamuller, makarna, irmik, bisküvi, bulgur) hammaddesi olması sebebiyle buğday diğer tarımsal

ürünlere göre daha fazla önem taşımaktadır. Ülke nüfusunun kalori ve protein ihtiyacının karşılanmasında buğday dünyada olduğu gibi ülkemizde de stratejik bir üründür. Değişen tüketim alışkanlıkları ve gelişen teknolojiye bağlı olarak, buğday ürünleri çeşitlenmekte ve tüketicilerin istekleri de değişmektedir. Dünyada ve ülkemizde buğday ekim alanları çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir. 2017 yılında dünyada buğday ekim alanı 219 milyon hektar üretim 757.7 milyon ton olmuş, ülkemizde ise ekim alanı 7.7 milyon hektar üretim 20.6 milyon ton olup, makarnalık buğdayın üretimdeki oranı ise 2.76 milyon ton olmuştur (Anonymous, 2017). Kalite ve kullanım amacına göre buğdaylar ekmeklik (*Triticum aestivum*), bisküvilik (*Triticum compactum*) ve makarnalık (*Triticum durum*) olarak üç tür içinde yer almaktadır (Morris, 2004). Makarnalık buğdaylar tetraploid (AABB; $2n = 4x = 28$) olup kalite özellikleri heksaploid yapıdaki ($2n=6x=42$, AABBDD) *T. aestivum* ve *T. compactum* buğdaylarından farklıdır. Makarnalık buğdaylar makarna, bulgur, kuskus ve irmik ürünlerinin üretiminde kullanılmaktadır. Sissons ve ark. (2014) makarnalık buğdayların dünyanın bazı ülkelerinde ekmek yapımında kullanıldığını fakat ekmeklik buğday ile karşılaştırıldığında düşük hacim ve tekstür özelliği gösterdiğini belirtmişlerdir. Buğday kalitesini belirleyen ana faktörlerden birisi protein miktarı ve yapısıdır. Protein miktarı çevreden etkilenmesine rağmen protein kalitesi kalıtsal bir özelliktir. Makarnalık buğdaylarda ekmeklik kalitesinin düşüklüğüne, ekmeklik buğdayların kalitesini önemli şekilde etkileyen D-genomu kromozomlarının yokluğunun neden olduğu bilinmektedir (Sapirstein ve ark., 2007). Ayrıca makarnalık buğdaylarda alfa gliadin 42'ye sahip çeşitlerin zayıf glutene, alfa gliadin 45 bandına sahip çeşitlerin ise kuvvetli glutene sahip oldukları ifade edilmiştir (Edwards ve ark., 2007). Makarnalık buğdayların endosperm yapısı çok sert, protein oranları genellikle ekmeklik buğdaylarınkinden daha yüksektir. Buğdayların kullanım alanlarının belirlenmesinde protein miktar ve kalitesi belirleyici faktörlerdir.

Bir buğday genotipinin kalitesinin belirlenmesinde, diğer genotiplerle karşılaştırılmasında, son ürün kalitesinin tahmin edilmesinde; fiziksel, kimyasal özelliklerinin yanında reolojik özelliklerinin de belirlenmesi önemlidir. Farinograf ve miksograf gibi reolojik analiz cihazları ile yapılan analizlerde hamurun yoğurmaya karşı gösterdiği davranışlar, direnç, su absorpsiyonu, gelişme süresi, stabilite, yumuşama değeri gibi özellikler değerlendirilebilmekte, incelenen buğday ununun hangi ürün grubu için uygun olabileceğine karar verilebilmektedir. Bu çalışma ile bazı makarnalık ve ekmeklik buğday çeşitlerinin fiziksel özellikleri (bin tane ağırlığı, hektolitre ağırlığı), protein oranı, bazı

reolojik kalite parametreleri, ekmek hacmi ve ağırlığının belirlenmesi ile farklılıkları tespit edilmeye çalışılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada 2013-2014 üretim yılında, Konya merkez lokasyonunda sulu koşullarda yetiştirilen 7 makarnalık buğday çeşidi (Altıntaş-95, Ç-1252, Dumlupınar, Eminbey, Meram-2002, Selçuklu-97 ve Yelken-2000) ve 7 ekmeklik buğday çeşidi (Ahmetağa, Ekiz, Göksü-99, Gün-91, Konya-2002, Pehlivan ve Tosunbey) materyal olarak kullanılmıştır. 2013-2014 yetiştirme sezonunda Konya merkez lokasyonuna düşen yağış miktarı 320 mm olarak belirlenmiş, iki defa sulama yapılarak 140 mm su verilmiştir. Sulu koşullarda ekimle birlikte her parselde 4 kg/da N ve 9 kg/da P₂O₅ verilmiştir. Üst gübre olarak 8 kg/da N verilmiştir. Çeşitlerde bin tane ağırlığı, protein oranı, reolojik testler (farinograf, miksograf) ve ekmek denemeleri yapılmıştır. Laboratuvar çalışmalarında buğday örnekleri, AACC metot 26-95'e göre (% 14.5 rutubet olacak şekilde) tavlansak, Brabender Junior değirmende AACC metot 26-50'ye göre öğütülmüştür (Anonymous, 2000). Protein oranı AOAC 992.23'e göre (Anonymous, 2009) belirlenmiştir. Miksograf analizleri, 35 g'lık miksograf cihazı (National Mfg.Co. Lincoln. NE) ile AACC 54-40A, farinograf analizleri (Farinograf-AT, Brabender Germany) AACC 54-21'e göre (Anonymous, 2000) yapılmıştır. Ekmekler % 14.5 nem esasına göre 100 g un tartılarak % 3 maya ve % 1.5 tuz katılarak farinograf su absorpsiyon değerine göre hesaplanmış olan su ilavesi ile hamur yoğrulup 30 dk., 30 dk. ve 55 dk.'lık fermantasyon süresi sonucunda 220 °C' de 25 dakika fırında pişirilerek elde edilmiştir. Ekmek hacmi, içinde sorgum tohumu bulunan ekmek hacmi ölçme cihazı ile yer değiştirme metoduna göre belirlenmiştir. Denemelerden elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde, varyans analizi (JMP11) istatistik analiz programına göre yapılmış ve farklılıkları önemli olan özelliklerin ortalama değerleri AÖF (%5) testine göre gruplandırılmıştır (Anonim, 2014).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Konya merkez lokasyonunda 2013-2014 üretim yılında, sulu koşullarda yürütülen bu çalışmada elde edilen bazı kalite özelliklerine ait varyans analiz sonuçları ve önemli görülen farklılıklar ($p < 0.01$, $p < 0.05$) Çizelge'1 de verilmiştir. İncelenen ekmeklik buğday çeşitlerinde bin tane ağırlığı deneme aralığı 31.10-41.31 g arasında değişmiş, deneme ortalaması 36.29 g olarak belirlenmiştir. Ekmeklik buğday çeşitlerinde en yüksek bin tane ağırlığı Pehlivan çeşidinden, en düşük değer ise Göksü-99 çeşidinden elde edilmiştir. İncelenen makarnalık buğday çeşitlerinde bin tane ağırlığı deneme aralığı ise 37.05-49.41 g arasında değişmiş, deneme ortalaması 42.72 g

Çizelge 1. Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinde İncelenen Özelliklerin Varyans Analizi

Ekmeklik Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	F Değeri	P	Makarnalık Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	F Değeri	P
Bin Tane Ağırlığı	174.20724	2438902	<.0001**	Bin Tane Ağırlığı	286.5920	73485.14**	<.0001
Protein Oranı	8.0078857	5547123	<.0001**	Protein Oranı	3.873371	2.772513**	<.0001
Hektolitire Ağırlığı	56.974470	38054.6	<.0001**	Hektolitire Ağırlığı	41.04328	118.6792**	<.0001
Ekmek Ağırlığı	56.908043	1327850	0.0012*	Ekmek Ağırlığı	812.9174	156760.9*	0.0013
Ekmek Hacimi	39485.714	1.50121	<.0001**	Ekmek Hacmi	24285.71	9.148513**	<.0001
F. Gelişme Süresi	43.472443	11146.7	<.0001**	F.Gelişme Süresi	9.405385	50644.38**	<.0001
F. Su Absorbsiyonu	56.004043	16132.8	<.0001**	F. Su Absorbsiyonu	16.88000	3256214**	<.0001
M. Gelişme Süresi	2.1598857	1325655	0.0012*	M. Gelişme Süresi	3.476342	12167.20*	0.0012
M. Pik Yüksekliği	210.08788	1218405	<.0001**	M.Pik Yüksekliği	358.9977	1256492**	<.0001
M.Yumuşama Derecesi	171.69674	2236555	<.0001**	M. Yumuşama Derecesi	61.25028	235652.1**	<.0001
M. Pik Genişliği	69.215527	22513.4	<.0001**	M. Pik Genişliği	120.2238	27405.45*	0.0015
M. Pik Alanı	3689.5759	5041388	<.0001**	M. Pik Alanı	10337.08	2002756**	<.0001
M. Toplam Alan	2893.7346	71343.1	<.0001**	M. Toplam Alan	11655.21	70476.74**	<.0001

*,**: Sırasıyla 0.05 ve 0.01 düzeyinde önemli, F: Farinograf, M: Miksograf

olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde en yüksek bin tane ağırlığı Eminbey çeşidinden, en düşük bin tane ağırlığı ise Altıntaş-95 çeşidinden elde edilmiş olup, genel olarak değerlendirdiğimizde bin tane ağırlığı bakımından 6.43 g farkla makarnalık buğdaylarda daha yüksek değer elde edilmiştir. Szumilo ve ark. (2010), yapmış oldukları bir çalışmada makarnalık buğday genotiplerinde bin tane ağırlığının ekmeklik buğdaylara kıyasla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ekmeklik buğdaylarda hektolitire ağırlığı deneme aralığı 72.38-78.48 kg arasında değişmiş, deneme ortalaması 76.11 kg olarak belirlenmiştir. Ekmeklik buğday çeşitlerinde en yüksek hektolitire ağırlığı Konya-2002 çeşidinde tespit edilmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde hektolitire ağırlığı deneme aralığı ise 74.12-78.92 kg arasında değişmiş, deneme ortalaması 76.55 kg olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde en yüksek hektolitire ağırlığı Yelken-2000, en düşük değer ise Eminbey çeşidinden elde edilmiştir. Ekmeklik ve makarnalık buğdayların ortalama hektolitire ağırlığı arasındaki fark 0.44 kg olup, makarnalık buğdaylarda yüksek değer tespit edilmiştir. Hektolitire ağırlığı hem genotip hem de çevre şartlarından etkilenen fiziksel bir özelliktir. Makarnalık buğday çeşitlerinde hektolitire ağırlığı ve bin tane ağırlığının yüksek olmasından danenin fizyolojik tane dolun dönemini iyi değerlendirdiği anlaşılmaktadır. Tane kalitesi, tanenin fiziksel ve bileşimsel özelliklerinin son kullanım amacına uygunluğudur. Tane protein oranı ve bileşimi, son kullanım kalitesini, reolojik özellikleri (hamur kuvveti, gelişme süresi, uzayabilirlik, yumuşama) ve ekmek hacmini etkileyen önemli bir kalite ölçüsüdür ki bunların hepsi ekmek yapım işleminin etkinliğini ve ürün kalitesini belirler (Nuttall ve ark., 2017). Protein oranı makarna ve ekmek kalitesini belirleyen en önemli faktördür (Sissons, 2004). İncelenen ekmeklik buğday çeşitlerinde protein oranı deneme aralığı % 14.16-16.09 arasında değişmiş, deneme ortalaması % 15.03 olarak belirlenmiştir. Ekmeklik buğday çeşitleri içinde

en yüksek protein oranı Tosunbey, en düşük protein oranı ise Ahmetağa çeşidinden elde edilmiştir. İncelenen makarnalık buğday çeşitleri içinde ise protein oranı deneme aralığı % 14.46-16.07 arasında değişmiş, deneme ortalaması % 15.45 olarak tespit edilmiştir. Makarnalık buğday çeşitleri içinde en yüksek protein oranı Meram-2002, en düşük protein oranı ise Altıntaş-95 çeşidinden elde edilmiştir. Çalışmada incelenen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin protein oranı arasındaki fark % 0.42 olup, makarnalık buğdaylarda yüksek değer tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Buğdayın gerek sanayide gerekse ticari amaçla değer kazanmasında ekmeklik özellikleri etkili olmaktadır. İncelenen ekmeklik buğday çeşitlerinde ekmek ağırlığı deneme aralığı 138.61-143.31 g arasında değişmiş, deneme ortalaması 141.13 g olarak belirlenmiştir. Ekmeklik buğday çeşitlerinde en yüksek ekmek ağırlığı Konya-2002 çeşidinden, en düşük ekmek ağırlığı ise Ekiz çeşidinden elde edilmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde ekmek ağırlığı deneme aralığı 126.40-151.00 g arasında değişmiş, deneme ortalaması 142.56 g olarak tespit edilmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde en yüksek ekmek ağırlığı Dumlupınar çeşidinden, en düşük ekmek ağırlığı ise Altıntaş-95 çeşidinden elde edilmiştir. Ekmeklik ve makarnalık buğdaylar ekmek ağırlığı arasında fark ise 1.43 g olup makarnalık buğdaylarda yüksek değer elde edilmiştir. Makarnalık buğdaylarda tane yapısının sert olmasına bağlı olarak öğütme sırasında zedelenmiş nişasta oranının yükselmesine neden olduğu, buna bağlı olarak hamurun su absorpsiyon değerlerinde artışa neden olduğu düşünülmektedir. İncelenen ekmeklik buğday çeşitlerinde ekmek hacmi deneme aralığı 410-570 cm³ arasında değişmiş, deneme ortalaması 482.14 cm³ olarak belirlenmiştir. Ekmeklik buğday çeşitlerinde en yüksek ekmek hacmi Ahmetağa çeşidinden, en düşük ekmek hacmi ise Pehlivan çeşidinden elde edilmiştir. İncelenen makarnalık buğday çeşitlerinde ekmek hacmi deneme aralığı 390-

475 cm³ arasında değişmiş, deneme ortalaması 430 cm³ olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde en yüksek ekmek hacmi Eminbey, en düşük ekmek hacmi ise Meram-2002 çeşidinden elde edilmiştir. Ekmeklik ve makarnalık buğdaylar ekmek hacmi arasında fark ise 52.14 cm³ olup ekmeklik buğdaylarda yüksek değer tespit edilmiştir (Çizelge 3). Şahin ve ark. (2013) kuru koşullarda yetiştirilen ekmeklik buğday genotiplerinde ortalama ekmek hacmini 473 cm³, sulu koşullarda yetiştirilen genotiplerde 470 cm³ olduğunu ve ortalamalar arasındaki farkın istatistikî bakımından önemsiz bulunduğunu tespit etmişlerdir. Boyacıoğlu ve D'Appolonia (1994) makarnalık buğdayların öncelikle makarna ürünleri üretmek için kullanılacağını ancak ekmek yapımında da potansiyele sahip olduğunu belirtmişlerdir. Makarnalık buğdaydan yapılan

ekmeğin, ekmeklik buğdaydan yapılabildiğine göre daha küçük hacimli olduğu, buna rağmen durum buğdayı ekmeğinin daha sarı renkli, kendine özgü tat ile kokuda olup raf ömrünün daha uzun olduğu belirtilmektedir (Pehlivan ve İkincikarakaya, 2017). İyi bir ekmek yapımunu, hamur oluşumu sırasında geniş bir viskoelastik matris üretebilen güçlü gluteni gerekli kılar (Sissons, 2008). Abecassis ve ark. (2012) iyi bir ekmek yapmak için protein oranı, su absorpsiyonu, hamur kuvveti ve esnekliği özelliklerinin önemli olduğunu, makarnalık buğdaylarda ekmek hacminin genel olarak ekmeklik buğdayınkinden daha düşük olduğunu, makarnalık buğdayda ekmeğin hacim kazanmasında önemli olan hamur elastikiyetinin bir eksiklik olduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 2. Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Bin Tane Ağırlığı, Hektolitire Ağırlığı ve Protein Oranı Ortalama Değerleri

Bin Tane Ağırlığı (g)		Hektolitire Ağırlığı (kg)		Protein (%)	
Ekmeklik	Makarnalık	Ekmeklik	Makarnalık	Ekmeklik	Makarnalık
Ahmetağa	32.31	Altıntaş-95	37.05	Ahmetağa	14.16
Ekiz	36.61	Ç-1252	41.61	Ekiz	14.75
Göksu-99	31.10	Dumlupınar	48.41	Göksu-99	16.02
Gün-91	39.11	Eminbey	49.41	Gün-91	15.49
Konya-2002	39.11	Meram-2002	44.71	Konya-2002	14.55
Pehlivan	41.31	Selcuklu-97	39.51	Pehlivan	14.24
Tosunbey	34.51	Yelken-2000	38.41	Tosunbey	16.09
Ortalama	36.29		42.72		15.03
AÖF _(0.05)	3.14		3.58		1.03
DK _(%)	6.31		5.75		4.17

Çizelge 3. Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Ekmek Ağırlığı ve Ekmek Hacmi Ortalama Değerleri

Ekmek Ağırlığı (g)		Ekmek Hacmi (cm ³)	
Ekmeklik	Makarnalık	Ekmeklik	Makarnalık
Ahmetağa	142.21	Altıntaş-95	126.40
Ekiz	138.61	Ç-1252	137.90
Göksu-99	139.11	Dumlupınar	151.00
Gün-91	142.81	Eminbey	145.20
Konya-2002	143.31	Meram-2002	143.40
Pehlivan	138.81	Selcuklu-97	145.50
Tosunbey	143.11	Yelken-2000	148.50
Ortalama	141.13		142.56
AÖF _(0.05)	1.45		2.20
DK _(%)	6.47		5.75

Farinograf, parametreleri hamurun yoğrulma ve ekmeklik özellikleri hakkında bilgi sağlamaktadır. Farinograf özellikleri gluten proteinlerinin miktar ve kalitesi ile ilgilidir. İncelenen ekmeklik buğday çeşitlerinde farinograf gelişme süresi deneme aralığı 3.59-8.52 dk. arasında değişmiş, deneme ortalaması 6.62 dk. olarak belirlenmiştir. Ekmeklik buğday çeşitlerinde en yüksek farinograf gelişme süresi Ahmetağa, en düşük farinograf gelişme süresi ise Ekiz çeşidinden elde edilmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde farinograf gelişme süresi deneme aralığı 2.05-4.34 dk. arasında değişmiş, deneme ortalaması 2.90 dk. olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday

çeşitlerinde en yüksek farinograf gelişme süresi Eminbey, en düşük farinograf gelişme süresi ise Meram-2002 çeşidinden elde edilmiştir. Ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinde farinograf gelişme süresi arasındaki fark 3.72 dk. olup ekmeklik buğdaylarda yüksek değer elde edilmiştir. Ekmeklik buğdaylarda farinograf gelişme süresinin yüksek olmasının nedeninin gluten proteinlerinin miktarı ve elastikiyetinin makarnalık buğdaylara göre fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ekmeklik buğdaylarda su absorpsiyon değeri deneme aralığı % 62.50-68.20 arasında değişmiş, deneme ortalaması % 66.32 olarak belirlenmiştir. İncelenen

ekmeklik buğday çeşitlerinde en yüksek farinograf su absorpsiyon değeri Pehlivan çeşidinde, en düşük farinograf su absorpsiyon değeri ise Göksu-99 çeşidinde tespit edilmiştir. İncelenen makarnalık buğday çeşitlerinde farinograf su absorpsiyon değeri deneme aralığı % 67.60-71.10 arasında değişmiş, deneme ortalaması % 70.10 olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde en yüksek farinograf su absorpsiyon değeri Dumlupınar, en düşük farinograf su absorpsiyon değeri Altıntaş-95 çeşidinde elde edilmiştir. Ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin farinograf su absorpsiyon değerleri arasındaki fark % 3.78 olup makarnalık buğdaylarda

yüksek değer tespit edilmiştir (Çizelge 4). Makarnalık buğdaylarda su absorpsiyonunun yüksek olması zedelenmiş nişasta oranının yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Benzer bir çalışmada Dexter ve ark. (1994) zedelenmiş nişasta miktarının, farinograf su absorpsiyonunu, gelişme süresini ve kararlılığını etkileyen baskın faktör olduğunu belirtmişlerdir. Szumilo ve ark. (2010) makarnalık buğdaylarda su absorpsiyonunun ekmeklik buğdaylara göre daha yüksek olduğunu belirlemişler, su absorpsiyonunun yüksek olmasının iyi bir teknolojik kalitenin göstergesi olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4. Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Farinograf Gelişme Süresi ve Farinograf Su Absorpsiyonu Ortalama Değerleri

Farinograf Gelişme Süresi (dk.)		Farinograf Su Absorpsiyonu (%)					
Ekmeklik	Makarnalık	Ekmeklik	Makarnalık				
Ahmetağa	8.52	Altıntaş-95	3.55	Ahmetağa	65.10	Altıntaş-95	67.60
Ekiz	3.59	Ç-1252	2.50	Ekiz	66.30	Ç-1252	70.40
Göksu-99	8.04	Dumlupınar	2.11	Göksu-99	62.50	Dumlupınar	71.10
Gün-91	7.37	Eminbey	4.34	Gün-91	67.80	Eminbey	70.20
Konya-2002	4.29	Meram-2002	2.05	Konya-2002	67.70	Meram-2002	69.80
Pehlivan	7.05	Selcuklu-97	2.28	Pehlivan	68.20	Selcuklu-97	70.90
Tosunbey	7.49	Yelken-2000	3.46	Tosunbey	67.10	Yelken-2000	70.70
Ortalama	6.62		2.90		66.32		70.10
AÖF _(0.05)	2.41		1.56		1.02		0.98
DK _(%)	4.75		3.97		5.96		5.21

Miksograf analizinde hamur yoğurma sırasında belirli reolojik ölçümler yapılır ve elde edilen ölçümler son kullanım kalitesinin iyi bir göstergesidir (Bordes ve ark., 2008). Ekmeklik buğdaylarda miksograf gelişme süresi deneme aralığı 1.43-2.77 dk. arasında değişmiş, deneme ortalaması 2.10 dk. olarak belirlenmiştir. İncelenen ekmeklik buğday çeşitlerinde en yüksek miksograf gelişme süresi Tosunbey çeşidinde belirlenmiştir. Aydoğan ve ark. (2010) 2009-2010 yıllarında sulu koşullarda 16 ekmeklik buğday çeşidi ile yaptıkları bir çalışmada denemede yer alan çeşitlerin miksograf gelişme süresinin 1.80-4.98 dk., arasında değiştiğini çeşitlerin ortalama gelişme süresinin 2.94 dk. olduğunu, en yüksek gelişme süresinin 4.98 dk. ile Tosunbey çeşidinden elde edildiğini tespit etmişlerdir. Li ve ark. (2013) hamur reolojik özelliklerindeki varyasyonun genotip ve çevreden etkilendiğini, reolojik özellikler üzerine genotip etkisinin yüksek olduğu bildirmişlerdir. İncelenen makarnalık buğday çeşitlerinde miksograf gelişme süresi deneme aralığı 2.18-3.42 dk. arasında değişmiş, deneme ortalaması 2.63 dk. olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde en yüksek miksograf gelişme süresi Eminbey çeşidinde tespit edilmiştir. İncelenen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin miksograf gelişme süresi

arasındaki fark 0.53 dk. olup makarnalık buğdaylarda yüksek değer elde edilmiştir. Aydoğan ve ark. (2014) makarnalık buğdayda miksograf parametrelerini inceledikleri bir çalışmada gelişme süresinin sulu koşullarda 1.69-3.45 dk., kuru koşullarda ise 1.37-2.37 dk. arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Ekmeklik buğdaylarda miksograf pik yüksekliği deneme aralığı % 69.15-79.34 arasında değişmiş, deneme ortalaması % 74.25 olarak belirlenmiştir. Ekmeklik buğday çeşitlerinde en yüksek pik yüksekliği Konya-2002 çeşidinde, en düşük değer ise Pehlivan çeşidinde belirlenmiştir. Aydoğan ve ark. (2010), 2009-2010 yıllarında yaptıkları bir çalışma sonucunda 16 ekmeklik buğday çeşidinin sulu koşullarda miksograf pik yüksekliği deneme ortalamasının % 60.51 olduğunu, en yüksek pik yüksekliğinin % 70.99 ile Demir-2000 çeşidinden elde edildiğini tespit etmişlerdir. Makarnalık buğdaylarda miksograf pik yüksekliği deneme aralığı % 63.73-79.13 arasında değişmiş, deneme ortalaması % 69.99 olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde en yüksek pik yüksekliği Eminbey çeşidinden, en düşük değer ise Ç-1252 çeşidinden elde edilmiştir. İncelenen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin miksograf pik yüksekliği arasındaki fark % 4.26 olup ekmeklik buğdaylarda yüksek değer tespit edilmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Miksograf Gelişme Süresi ve Miksograf Pik Yüksekliği Ortalama Değerleri

Miksograf Gelişme Süresi (dk.)				Miksograf Pik Yüksekliği (%)			
Ekmeklik		Makarnalık		Ekmeklik		Makarnalık	
Ahmetağa	2.40	Altıntaş-95	2.18	Ahmetağa	77.46	Altıntaş-95	66.61
Ekiz	2.02	Ç-1252	2.48	Ekiz	78.61	Ç-1252	63.73
Göksu-99	1.84	Dumlupınar	2.45	Göksu-99	71.78	Dumlupınar	71.87
Gün-91	1.43	Eminbey	3.42	Gün-91	73.23	Eminbey	79.13
Konya-2002	2.23	Meram-2002	2.71	Konya-2002	79.34	Meram-2002	68.20
Pehlivan	2.06	Selçuklu-97	2.21	Pehlivan	69.15	Selçuklu-97	65.81
Tosunbey	2.77	Yelken-2000	3.01	Tosunbey	70.17	Yelken-2000	74.60
Ortalama	2.10		2.63		74.25		69.99
AÖF _(0.05)	0.45		0.33		2.47		3.10
DK _(%)	5.78		5.14		4.87		5.14

Ekmeklik buğdaylarda pik yüksekliğinin yüksek olması gluten direncinin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Mao ve ark. (2013) genel olarak, güçlü hamurların gelişme sürelerinin uzun, pik değerlerinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir. İncelenen ekmeklik buğday çeşitlerinde miksograf yumuşama derecesi deneme aralığı 7.60-13.14 %/dk. arasında değişmiş, deneme ortalaması 11.18 %/dk. olarak belirlenmiştir. En yüksek yumuşama derecesi Pehlivan çeşidinde, en düşük yumuşama derecesi ise Tosunbey çeşidinden elde edilmiştir. Hamurun gelişme süresinin yüksek olmasının yanında yumuşama derecesinin de düşük olması istenmektedir. Aydoğan ve ark. (2010) yumuşama derecesinin düşük olmasının gluten ağlarının kuvvetli olduğunu ve hamurun paletlere kuvvetli bir direnç göstereceğini ifade etmekte olduğunu, 16 ekmeklik buğday çeşidi ile sulu koşullarda yaptıkları bir çalışmada, en düşük yumuşama derecesinin Tosunbey çeşidinden elde edildiğini belirtmişlerdir. İncelenen makarnalık buğday çeşitlerinde miksograf yumuşama derecesi deneme aralığı 11.24-16.00 %/dk. arasında değişmiş, deneme ortalaması 13.93 %/dk. olarak belirlenmiştir. En yüksek yumuşama derecesi Meram-2002, en düşük yumuşama derecesi ise Eminbey çeşidinden elde edilmiştir. İncelenen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinde miksograf yumuşama derecesi arasında fark 2.75 %/dk. olup makarnalık buğdaylarda yüksek değer elde edilmiştir. İncelenen ekmeklik buğday çeşitlerinde miksograf pik genişliği deneme aralığı % 5.17-9.93 arasında değişmiş, deneme ortalaması % 7.66 olarak belirlenmiştir. Ekmeklik buğday çeşitlerinde en yüksek pik genişliği Ekiz, en düşük pik genişliği ise Pehlivan çeşidinden elde edilmiştir. Pik genişliği hamurun mikser pimlerine gösterdiği direnç olup yüksek olması ekmeklik buğday için istenen bir durumdur. İncelenen makarnalık buğday çeşitlerinde miksograf pik genişliği deneme aralığı % 3.88-7.52 arasında değişmiş, deneme ortalaması % 5.64 olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde en yüksek pik genişliği Eminbey, en düşük pik genişliği ise Selçuklu-97 çeşidinden elde edilmiştir. İncelenen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinde miksograf pik genişliği arasındaki fark % 2.02 olup ekmeklik buğdaylarda yüksek değer tespit

edilmiştir (Çizelge 6).

Ekmeklik buğdaylarda pik genişliğinin yüksek olmasının gluten direncinin yüksek olup analiz sonuna kadar glutenin mukametini korumakta olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Miksograf pik alanının yüksek olması yoğrulmuş hamurun gluten yapısının kuvvetli olduğunu, yoğrulma sırasında hamurun paletlere vermiş olduğu direncin fazla olduğunu göstermektedir. Buna bağlı olarak pik alanının geniş olmasına ve gelişme süresinin de uzun olmasına neden olmaktadır. Ekmeklik buğdaylarda miksograf pik alanı deneme aralığı 77-123 Nm arasında değişmiş, deneme ortalaması 98 Nm olarak belirlenmiştir. İncelenen ekmeklik buğdaylarda en yüksek pik alanı Tosunbey, en düşük pik alanı ise Gün-91 ve Pehlivan çeşitlerinden elde edilmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde pik alanı deneme aralığı 71-111 Nm arasında değişmiş, deneme ortalaması 90 Nm olarak tespit edilmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde en yüksek pik alanı Eminbey çeşidinden, en düşük pik alanı ise Selçuklu-97 çeşidinden elde edilmiştir. İncelenen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitleri pik alanı arasındaki fark 8 Nm olup ekmeklik buğdaylarda yüksek değer elde edilmiştir. Miksograf toplam alan değerinin yüksek olması iyi bir hamur özelliğinin göstergesi olup gelişme süresinin ve pik yüksekliğinin yüksek olmasına bağlıdır. Ekmeklik buğdaylarda miksograf toplam alanı deneme aralığı 358-401 Nm arasında değişmiş, deneme ortalaması 375 Nm olarak belirlenmiştir. Ekmeklik buğday çeşitlerinde en yüksek miksograf toplam alan Ekiz çeşidinden, en düşük miksograf toplam alan ise Pehlivan çeşidinden elde edilmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde miksograf toplam alanı deneme aralığı 334-412 Nm arasında değişmiş, deneme ortalaması 365 Nm olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitlerinde en yüksek miksograf toplam alan Eminbey, en düşük değer ise Ç-1252 çeşidinden elde edilmiştir. İncelenen ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinde miksograf toplam alanı arasındaki fark 10 Nm olup ekmeklik buğdaylarda yüksek değer tespit edilmiştir (Çizelge 7). Ekmeklik buğdaylarda miksograf toplam alanın yüksek olmasının gluten direncinin yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Karababa ve Ercan (1995) yapmış oldukları bir çalışma sonucunda kuvvetli gluten özelliklerine sahip makarnalık buğdayların, kaliteli ekmeklik buğdaylara

benzer miksoğraf değerleri gösterdiğini belirlemiştir.

Çizelge 6. Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Miksoğraf Yumuşama Derecesi ve Miksoğraf Pik Genişliği Ortalama Değerleri

Miksoğraf Yumuşama Derecesi (%/dk.)				Miksoğraf Pik Genişliği (%)			
Ekmeklik		Makarnalık		Ekmeklik		Makarnalık	
Ahmetağa	12.89	Altıntaş-95	14.52	Ahmetağa	7.95	Altıntaş-95	5.24
Ekiz	11.84	Ç-1252	12.09	Ekiz	9.93	Ç-1252	4.64
Göksu-99	10.45	Dumlupınar	15.61	Göksu-99	5.50	Dumlupınar	5.71
Gün-91	11.14	Eminbey	11.24	Gün-91	6.84	Eminbey	7.52
Konya-2002	11.25	Meram-2002	16.00	Konya-2002	9.01	Meram-2002	5.39
Pehlivan	13.14	Selçuklu-97	15.00	Pehlivan	5.17	Selçuklu-97	3.88
Tosunbey	7.60	Yelken-2000	13.08	Tosunbey	9.46	Yelken-2000	7.17
Ortalama	11.18		13.93		7.66		5.64
AÖF _(0.05)	1.14		1.54		2.47		1.87
DK _(%)	3.15		4.85		4.47		3.98

Çizelge 7. Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Miksoğraf Pik Alanı ve Miksoğraf Toplam Alan Ortalama Değerleri

Miksoğraf Pik Alan (Nm)				Miksoğraf Toplam Alan (Nm)			
Ekmeklik		Makarnalık		Ekmeklik		Makarnalık	
Ahmetağa	106	Altıntaş-95	83	Ahmetağa	380	Altıntaş-95	356
Ekiz	112	Ç-1252	80	Ekiz	401	Ç-1252	334
Göksu-99	84	Dumlupınar	109	Göksu-99	361	Dumlupınar	393
Gün-91	77	Eminbey	111	Gün-91	365	Eminbey	412
Konya-2002	110	Meram-2002	101	Konya-2002	387	Meram-2002	336
Pehlivan	77	Selçuklu-97	71	Pehlivan	358	Selçuklu-97	340
Tosunbey	123	Yelken-2000	80	Tosunbey	375	Yelken-2000	385
Ortalama	98		90		375		365
AÖF _(0.05)	6.21		5.54		4.89		8.15
DK _(%)	5.14		4.98		3.78		4.12

SONUÇ

Konya lokasyonunda sulu koşullarda bazı makarnalık ve ekmeklik buğday çeşitlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin, hamur reolojisinin, ekmek denemelerinin incelenmesi, ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin karşılaştırılması, farklılık ve benzerliklerine farkındalık oluşturulması amacıyla yürütülen bu çalışmada; İncelenen makarnalık ve ekmeklik buğday çeşitleri arasındaki kalite özellikleri farklılıklarının istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın yapıldığı yılda incelenen makarnalık buğday çeşitleri bin tane ağırlığı, hektolitre ağırlığı, protein oranı, ekmek ağırlığı, farinograf su absorpsiyonu, miksoğraf gelişme süresi özellikleri bakımından ekmeklik buğday çeşitlerine göre yüksek değerler vermişlerdir. Ekmek hacmi, farinograf gelişme süresi, miksoğraf pik yüksekliği, miksoğraf pik genişliği, miksoğraf pik alanı ve miksoğraf toplam alan bakımından ise ekmeklik buğday çeşitlerinin makarnalık buğday çeşitlerine göre yüksek değer verdiği tespit edilmiştir. Miksoğraf hamur özellikleri bakımından makarnalık buğday çeşitlerinde Eminbey, ekmeklik buğday çeşitlerinde Ekiz, Konya-2002 ve Tosunbey çeşitlerinin, ekmek

hacmi ve ağırlığı bakımından Ahmetağa ve Konya-2002 çeşitlerinin yüksek değerler verdiği belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitleri esas olarak makarna üretimi için uygun olup kimyasal özellikleri, hamur reolojisi ve ekmek özellikleri bakımından ekmeklik buğdaylara benzer özelliklerde göstermekte olup gelişen teknolojiye ve üretimdeki çeşitlenmeye bağlı olarak istenen kalite özelliklerine sahip genotiplerin çeşitli alanlarda kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abecassis J, Cuq B, Boggini G, Namoune H 2012. Other Traditional Durum-derived Products. In 'Durum Wheat Chemistry and Technology'. (AACC International: St. Paul, MN), 2nd edn pp. 177–199.
- Anonymous 2000. Approved methods of the American association of cereal chemists. Amer Assn of Cereal Chemists.
- Anonymous 2009. Approved methodologies. www.leco.com/Resources/Approved-Methods.
- Anonymous 2017. Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü 2017 Yılı Hububat Sektör Raporu. <http://www.tmo.gov.tr>.

- Anonymous 2014. JMP11, Jsl Syntax Reference. Sas Institute, ISBN: 978: 560-563.
- Aydoğan S, Göçmen Akçacık A, Şahin M, Kaya Y, Taner S, Demir B, Önmez H 2010. Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Dane Verimi, Bazı Kimyasal ve Reolojik Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Bitkisel Araştırma Dergisi, 1: 1-7.
- Aydoğan S, Şahin M, Göçmen Akçacık A, Hamzaoğlu S, Yakışır E 2014. Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Sulu ve Kuru Koşullarda Bazı Kalite Özellikleri ve Miksograf Parametrelerinin Değerlendirilmesi. Uluslararası Mezopotamya Tarım Kongresi, 22-25 Eylül, Diyarbakır.
- Bordes J, Branlard G, Oury FX, Charmet G, Balfourier F 2008. Agronomic Characteristics, Grain Quality and Flour Rheology of 372 Bread Wheats in a Worldwide Core Collection. Journal of Cereal Science, 48(3): 569-579.
- Boyacıoğlu MH, D'Appolonia BL 1994. Durum Wheat and Bread Products. Cereal Foods World, 39(3): 168-174.
- Dexter JE, Preston KR, Martin DG, Gander EJ 1994. The Effects of Protein Content and Starch Damage on the Physical Dough Properties and Bread-making Quality of Canadian Durum Wheat. Journal of Cereal Science, 20: 139-151
- Edwards NM, Gianibelli MC, McCaig TN, Clarke JM, Ames NP, Larroque OR, Dexter JE 2007. Relationships Between Dough Strength, Polymeric Protein Quantity and Composition for Diverse Durum Wheat Genotypes. Journal of Cereal Science, 45(2): 140-149.
- Karababa E, Ercan R 1995. Makarnalık Buğdayların Ekmeklik Potansiyeli ve Kalitesi. Gıda Dergisi, 20(3): 153-159.
- Li Y, Wu Y, Pena RJ 2013. The Influence of Drought and Heat Stress on The Expression of End-Use Quality Parameters of Common Wheat. Journal of Cereal Science, 57: 73-78.
- Mao X, Li Y, Zhao S, Zhang J, Lei Q, Meng D, Ma F, Hu W, Chen M, Chang J, Wang Y, Yang G, He G 2013. The Interactive Effects of Transgenically Overexpressed 1Ax1 With Various HMW-GS Combinations on Dough Quality By Introgression of Exogenous Subunits into An Elite Chinese Wheat Variety. Plos One, 8(10): e78451.
- Morris SR 2004. Grain: Quality attributes. In Wrigley, C. et al. (Eds.), Encyclopedia of Grain Science, (238-254). Elsevier Ltd., Amsterdam.
- Nuttall JG, O'Leary GJ, Panozzo JF, Walker CK, Barlow KM, Fitzgerald GJ 2017. Models of Grain Quality in Wheat.(A review). Field Crops Research, 202: 136-145.
- Pehlivan A, İkincikarakaya Ü 2017. Makarnalık Buğdayda Kalite Islahı Çalışmaları. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 26(1): 127-151.
- Sapirstein HD, David KR, Preston J, Dexter E 2007. Durum Wheat Breadmaking Quality: Effects of Gluten Strength, Protein Composition, Semolina Particle Size And Fermentation Time. Journal of Cereal Science, 45(2): 150-161.
- Sissons M 2004. Pasta Encyclopedia of Grain Science. Elsevier Ltd., Amsterdam, 410-418.
- Sissons M 2008. Role of Durum Wheat Composition on the Quality of Pasta and Bread. Food, Global Science Books, 2(2): 75-90
- Sissons M, Fleming D, Margiotta B, Grazia D'Egidio M, Lafiandra D 2014. Effect of The Introduction of D-Genome Related Gluten Proteins on Durum Wheat Pasta and Bread Making Quality. Crop and Pasture Science, 65(1): 27-37. DOI: 10.1071/CPI13305
- Szumilo G, Rachon L, Stankowski S 2010. The Evaluation of Grain and Flour Quality of Spring Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.). Polish Journal of Agronomy, 78-82.
- Şahin M, Aydoğan S, Göçmen Akçacık A, Demir B, Önmez H, Taner S, Yakışır E 2013. Orta Anadolu Bölgesinde Ekimi Yapılan Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Genotiplerinin Kuru ve Sulu Koşullardaki Verim ve Kalite Özelliklerinin Karşılaştırılması. Türkiye 10. Tarla Bitkileri Kongresi, 11-13 Eylül, 670-676, Konya.

Fruit, Seed Characteristics and Seed Yield of Some Bottle Gourds (*Lagenaria siceraria* Molina Standl.) Genotypes From Turkish Germplasm

Halit YETİŞİR^{1*}, Alim AYDIN²

Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Melikgazi-Kayseri

¹<https://orcid.org/0000-0001-6955-9513>, ²<https://orcid.org/0000-0002-9424-5556>

✉: yetisir1@erciyes.edu.tr

ABSTRACT

In this study, some fruit and seed characteristics and seed yield of a 22 genotypes of Turkish *Lagenaria siceraria* germplasm were determined. Ten seedlings from each genotype were transplanted with 3.0 m*0.5 m spacing to open field. 10 kg N da⁻¹, 10 kg P₂O₅ da⁻¹ and 10 kg K₂O da⁻¹ fertilizers were added to the soil during soil preparation. Fruit diameter, fruit length, fruit seed yield, 100 seed weight, seed width, seed length and seed thickness were determined in three replication with five fruits. While the fruit length was between 134.2 and 1.15 cm, the fruit diameter varied between 2.34 and 9.42 cm. LS31-09 produced the highest seed yield with 153.85 g fruit⁻¹, and the lowest seed yield was obtained from LS01-18 with 2.53 g fruit⁻¹. Genotypic variation was significant in 100 seed weight, and the 100 seeds weight with a mean of 20.1 g ranged from 3.7 g to 28.1 g. The fruit diameter was positively correlated with the seed yield per fruit, seed length and 100 seed weight. Overall, 100 seed weight was positively correlated with fruit seed yield, seed width and seed index, and a strong positive correlation between 100 seed weight and seed length. This study showed that Turkish bottle germplasm have high seed yield genotypes..

Research Article

Article History

Received : 20.05.2019

Accepted : 22.08.2019

Keywords

Lagenaria siceraria

Fruit characteristics

Seed yield

Seed weight

Seed size

Türkiye Genetik Kaynaklarından Bazı Su Kabağı (*Lagenaria siceraria* Molina Standl.) Genotiplerinin Meyve ve Tohum Özellikleri ve Tohum Verimi

ÖZET

Bu çalışmada, Türk su kabakları genetik kaynaklarından örnek bir grubun bazı tohum ve meyve özellikleri ile tohum verimi belirlenmiştir. Her genotipten 10 fide 3.0 *0.5 m aralıkla açık tarla koşullarına dikilmiştir. Toprak hazırlığı döneminde 10 kg N da⁻¹, 10 kg P₂O₅ da⁻¹ ve 10 kg K₂O da⁻¹ olacak şekilde gübre verilmiştir. Meyve çapı, meyve uzunluğu, meyve tohum verimi, 100 tohum ağırlığı, tohum genişliği, tohum uzunluğu ve tohum kalınlığı üç tekerrürlü olarak 5 meyvede belirlenmiştir. Meyve uzunluğu 1.15 ile 134.2 cm arasında değişirken, meyve çapı 2 ile 6 cm arasında değişmiştir. En yüksek tohum verimi 153.85 g meyve⁻¹ ile LS31-09 genotipinden alınırken, en düşük tohum verimi 2.53 g meyve⁻¹ ile LS01-18 genotipinde belirlenmiştir. Genotipik varyasyonun önemli olduğu 100 tohum ağırlığı 3.7 g ile 28.1 g arasında değişmiş ve ortalama 100 tohum ağırlığı 20.1 g olmuştur. Meyve çapı meyve başına tohum verimi, 100 tohum ağırlığı ve tohum uzunluğu ile pozitif korelasyon göstermiştir. 100 tohum ağırlığı meyve tohum verimi, tohum eni ve tohum indexi ile pozitif korelasyon gösterirken, tohum uzunluğu ve 100 tohum ağırlığı arasında güçlü pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Bu çalışma, Türk su kabağı genetik kaynaklarının yüksek tohum verimli genotiplere sahip olduğunu göstermiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 20.05.2019

Kabul Tarihi : 22.08.2019

Anahtar Kelimeler

Lagenaria siceraria

Meyve özellikleri

Tohum verimi

Tohum ağırlığı

Tohum büyüklüğü

INTRODUCTION

Conservation and utilization of genetic resources are two basic steps of the inevitable processes in ensuring efficiency and sustainability in plant production. The most essential consistent way to cope with yield and quality reduction due to various stress (biotic and abiotic) factors can be the determination of genotypes resistant to the stress conditions among the available genetic resources. In sustainability and productivity of plant production, to the introduction of underutilized species is as critical as developing and delivering productive genotypes that are resistant to stress conditions. The orphan, abandoned, lost, poorly used, local, minor, traditional, alternative, niche or unimproved species which are known as neglected and underutilized species are also called forgotten or smart food. These crop species are domesticated plant species that have been cultivated for long times for their roots, leaf, stems, flowers, fruits, seed, fiber, oil or medicinal properties, however, they have lost their importance over time due to certain products and use restrictions. One of the well known underutilized vegetable species is the calabash (*Lagenaria siceraria* Standl. Moll) which was domesticated 12,000 years ago (Whitaker 1971).

Lagenaria siceraria, known as bottle gourd, is a member of the Cucurbitaceae family. Bottle gourd, which is extremely strong climbing, herbaceous and monoecious, is easily distinguished from other members of the Cucurbitaceae family with its large white flowers. It is a native species for Africa with its five wild species, and it is widely distributed in both hemispheres. Wild species of bottle gourd are *L. abyssinica* (Hook. f.) C. Jeffrey, *L. breviflora* (Benth.) Roberty, *L. rufa* (Gilg) C. Jeffrey, *L. sphaerica* E. Mey. and *L. guineensis* (G. Don) C. Jeffrey (Decker-Walters et al 2001, 2004; Morimoto et al 2005). Cultivated *L. siceraria* with a pan-tropic dispersion was domesticated independently in both old and new worlds (Harris, 1967). On the other hand, Withaker (1971), who does not accept this theory, suggests that the bottle gourd which is native to Africa was carried to the American continent by ocean currents. Morimoto has reported that it had been distributed by the ocean currents or people migration. This ancient vegetable species has been produced for different purposes by humans in different parts of the world.

L. siceraria's young fruits are consumed as a vegetable in some African and Asian countries. Fresh and young fruits are consumed by making moussaka, frying or stuffing as in the summer pumpkins (*Cucurbita pepo*). Bottle gourd fruits can be cooked simply or mixed with other vegetables and foods. In some cases, fresh fruits are dried to consume when fresh fruits are not available. In some African countries, the young leaves, tendrils, and shoots of bottle gourds are consumed as

leafy vegetables. After the inside of the ripe fruit (seed and spongy texture) is removed, they can be used in making kitchen cups, water flask, musical instrument, decorative stuff, water pipe or in some cases, fishing net floaters (Decker-Walters et al 2001; Morimoto et al 2005). Oil is also extracted from the bottle gourd seeds in some African countries (Loukou et al 2007; Mariod et al 2015). Young fruits, seeds, tendril, shoots, and young leaves extracts have been also used in some local drug mixtures (Herklots 1972; Moerman 1998; Manandhar 2002). Another use area of the bottle gourds is as rootstocks for some Cucurbitaceae species such as watermelon and cucumber against soil-borne diseases and some adverse soil conditions such as low temperature, salinity stress and excessive water (Lee 1994; Yetisir et al 2006; Karaca et al 2012). The watermelon grafting onto bottle gourd was performed first in Korea and Japan (Ashita 1927) in the late 1920s, and a high graft compatibility rate was determined (Lee 1994; Oda 1995; Yetisir and Sari 2003).

Although *L. siceraria* is not an indigenous plant species for Turkey, morphological characteristics of fruit and seed show significant diversity (Yetisir et al 2008). As stated above, as in some African countries, bottle gourd has been also grown for several purposes such as food, containers, music instruments and decoration equipment depending on the fruit characteristics in Turkey, especially in rural areas (Yetisir et al 2008). In plant production, characterization and evaluation of plant germplasm according to their intended use is one of the crucial issues. As mentioned above, bottle gourds are used for oil extraction and rootstocks for some Cucurbitaceae species. Seed yield is an important criterion for rootstock production and in producing oil from seeds. Amangoua et al (2018) reported a higher seed yield in calabash type bottle gourds and they determined significant heterosis in seed and 100 seed weight when calabash types were used as the maternal parent. A substantial variation among bottle gourd landrace in seed dimensions and seed yield was also reported by Buthelezi et al (2019). Bottle gourd plants grown in a trailing system produced more seed yield with high quality than the traditional growing system (Sharma et al 2016). According to our knowledge, the previous study on seed yield and seed production in *L. siceraria* is limited and there is no study about seed yield and production in Turkish bottle gourds genotypes. Therefore, the current study aimed to determine seed yield and characteristics of *L. siceraria* sampled from Turkish bottle gourd germplasm.

MATERIAL and METHODS

The codes and collection sites of 22 bottle gourds genotypes used in this study were given in Table 1.

Table 1. Code, collection sites and fruit shape of the bottle gourd genotypes.

Genotypes	Collection locations	Fruit shape
LS01-16	Çukurova University, Department of Horticulture, Adana	Bottle
LS01-17	Çukurova University, Department of Horticulture, Adana	Bottle
LS01-18	Çukurova University, Department of Horticulture, Adana	Bottle
LS07-04	Mahmutlar, Alanya	Bottle
LS07-06	Dim çayı, Alanya	Elongated
LS07-42	Turuncova, Finike	Pyriiform
LS07-45	Şahin tepesi, Kumluca, Antalya	Pyriiform
LS09-01	Horsunlu, Aydın	Bottle
LS20-02	Hisar Village, Denizli	Bottle
LS20-06	Tavas, Denizli	Bottle
LS31-08	Büyük çat Village, Samandağ, Hatay	Club
LS31-09	Karaağaç, Iskenderun, Hatay	Club
LS31-43	Hassa, Hatay	Bottle
LS33-02	Karakaya Village, Silifke - Mersin	Bottle
LS33-15	Kızkalesi, Silifke, Mersin	Bottle
LS33-35	Elvanköy, Erdemli, Mersin	Elongated
LS33-41	Çerçi Village, Erdemli, Mersin	Bottle
LS33-45	Adanaloğlu, Mersin	Pyriiform
LS35-01	Şirince, Selçuk, İzmir	Bottle
LS46-03	Əfirağzı Village, Adırmn, Kahramanmaraş	Bottle
LS47745	Yavuzeli, Gaziantep	Club
LS48-07	Saklıkent, Fethiye, Muğla	Club

Seeds of the bottle gourd genotypes were sown in multipots filled with a potting mixture consist of peat and perlite (1:1) on 17.03.2004 in an experimental greenhouse of Horticultural Department, Agricultural Faculty of Mustafa Kemal University. Ten seedlings from each genotype with 2-3 true leaves were planted with 3.0 * 0.5 m spacing to open field conditions which was located on 36°18' 22" N, 36° 13' 33" E and elevation above sea level is 82 m. The average annual precipitation for the experimental region is 1,125 mm and varies between 570 and 1,160 mm and the soil is characterized as sandy-loam having a low amount of lime (Yetişir et al 2008). 10 kg N da⁻¹, 10 kg P₂O₅ da⁻¹ and 10 kg K₂O da⁻¹ chemical fertilizers were added to the soil during soil preparation. Plants were watered with drip irrigation depending on soil and plant observations. Fruit length and diameter (cm), fruit seed yield (g and number), 100 seed weight (g), and seed dimensions (length-cm, width-cm and thickness-mm) were determined with three replication in five fruits. The length of the fruit was measured with a ruler as the distance between the peduncle attachment point and the blossom end, while the diameter was calculated from the circumference measured with the help of a tape measure from the widest part of the fruit. Seeds were extracted from mature dry fruit manually for recording seed yield and morphological characteristics. 100 seed weight was determined with 0.01 precision balance. The seed length and width were determined in cm with a ruler, while the seed thickness was measured in mm with a digital caliper.

Statistical Analysis

Data was subjected to variance analysis according to randomized plot experimental design by using SAS

Statistical Software (SAS 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). The means were compared by Tukey test at 0.01 and 0.05 significance levels. Correlation analysis was performed to determine the relationship between the investigated parameters.

RESULTS and DISCUSSION

A significant variation among bottle gourd genotypes in terms of fruit dimensions was observed. Fruit length was significantly affected by genotypes. While the longest fruit was determined in LS33-35 with 134 cm, LS01-18 had the shortest fruit with 1.15 cm. Mean fruit length was calculated as 52.45 cm. The difference between the longest fruit genotype and the shortest fruit genotype was calculated as 117 folds. The genotypes 07-06, 33-35 and 47745 were significantly different from other genotypes in terms of fruit length. Bottle gourd genotypes segregated into three distinct groups as regarded to fruit length. Bottle gourds are divided into three groups in terms of fruit sizes. These groups are long (33-35, 07-06 and 47745), short (01-18) and medium (others 18 genotypes) (Table 2, Figure 1). As in fruit length, fruit diameter was also significantly affected by genotypes and fruit diameter varied from 2.34 cm to 9.42 cm with 7.85 cm average. The largest diameter fruits were produced by the genotype 07-06 with 12 cm, while the fruits with the smallest diameter were harvested from the genotype 01-18 with 2.2 cm. Variation in fruit length was found higher than the fruit diameter (Table 2 and Figure 2). Fruit index (Fruit length/fruit diameter) was calculated, and it ranged from 2.2 (01-18) to 23.94 (33-35) with 6.9 average (Table 2). At the present study, a significant phenotypical difference was found in fruit shape and volume. While a higher variation was determined in

fruit length than Mashilo et al. (2016) and Buthelezi et al. (2019) reported, a lower variation in fruit diameter than the two previous studies was determined. Significant variability in fruit characteristics of bottle gourd accessions from different part of Kenya (Morimoto et al 2005), from the southern part of Turkey (Yetisir et al 2008), Serbia (Mladenović et al 2009) and South Africa (Buthelezi et al 2019) were reported. As in Africa, the genetic origin of the bottle gourd species (Morimoto et al 2005), as well as in other parts of the world, morphological features such as fruit dimensions and shape have been important traits in

the description of local bottle gourd landraces. More recently, Mashilo et al (2017) reported that presence or absence of fruit neck, fruit shape, degree of neck bending and fruit neck length positively correlated the phenotypic variation of South African bottle gourd landraces. In the family of squash (Cucurbitaceae), the significant range of fruit phenotypic variation has been also indicated in *C. pepo* (Paris 2001), *Citrullus lanatus* (Maggs-Kölling et al 2000; Gusmini 2003), *L. siceraria* (Morimoto et al 2005; Koffi et al 2009; Buthelezi et al 2019) and *C. maxima* (Balkaya et al 2010).

Table 2. Descriptive statistics of bottle gourd genotypes based on some morphological fruit and seed characteristics

	Fruit length (cm)	Fruit diameter (cm)	Fruit index	100 seed weight (g)	Seed yield per fruit (g)	Seed number per fruit	Seed length (cm)	Seed Width (cm)	Seed thickness (mm)	Seed index
Minimum	2.53	2.34	2.2	3.7	2.53	68.38	0.7	0.44	0.24	1.84
Maximum	153.85	9.42	23.41	28.06	153.85	691.77	2.18	1.03	0.39	3.11
Mean	52.20	7.85	6.94	20.14	64.97	315.81	1.84	0.76	0.33	2.44

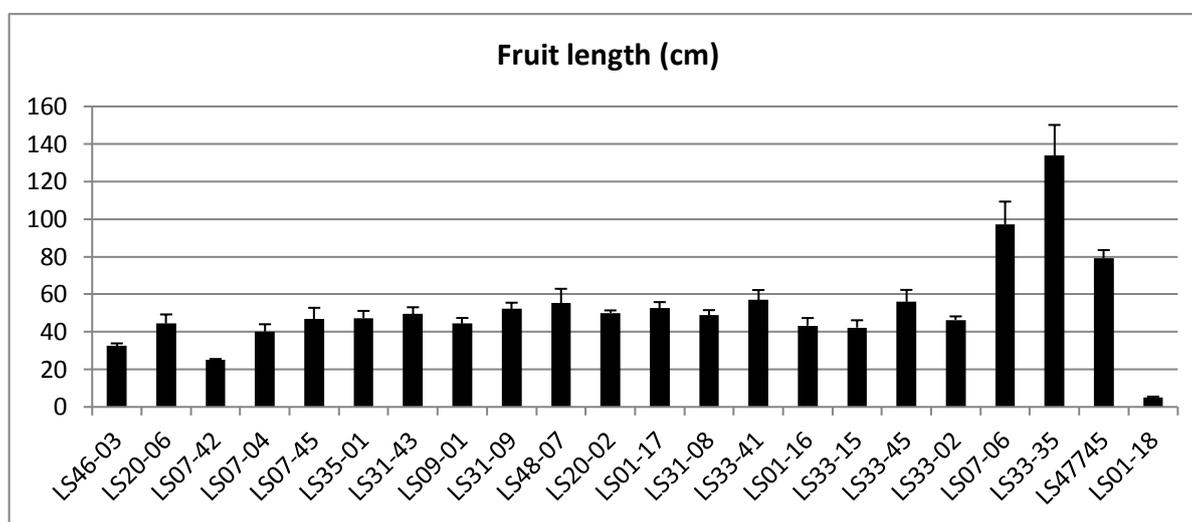


Figure 1. The fruit length of bottle gourd genotypes (cm). $P < 0.01$; $Lsd: 9.531$.

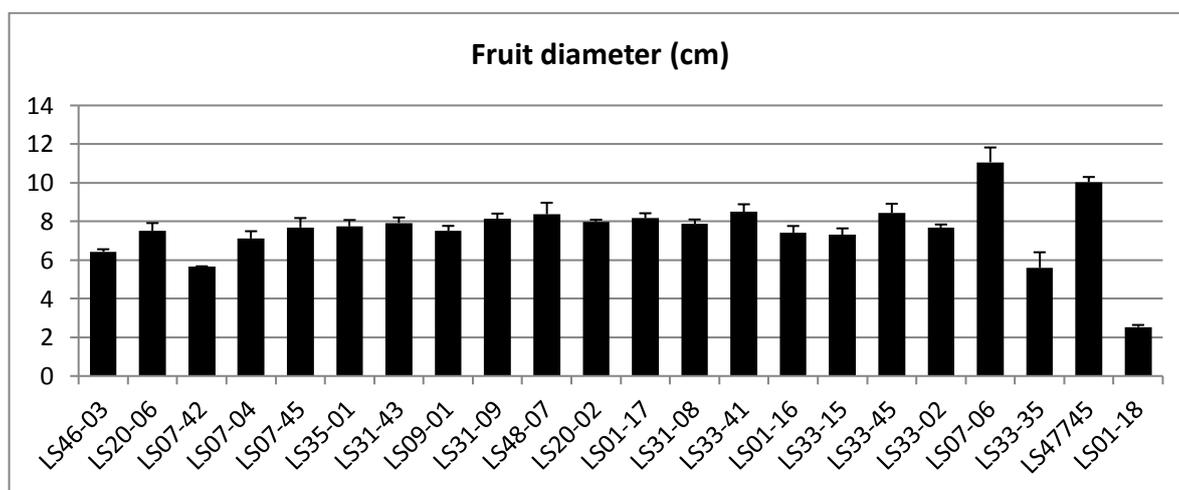


Figure 2. The fruit diameter of bottle gourd genotypes (cm) $P < 0.01$; $Lsd: 0.649$.

Seed yield per fruit showing significant variation is summarized in Figure 3. While seed yield per fruit ranged from 2.53 g/fruit⁻¹ to 153.85 g/fruit⁻¹ with, mean

seed yield per fruit was calculated as 64.97 g/fruit⁻¹. The highest seed yield per fruit was determined in 31-09 with 153.85 g/fruit⁻¹, followed by 47745 and 31-43

and the lowest seed yield per fruit was determined with 2.53 g /fruit⁻¹ in 01-18.

Similar results were obtained in the number of seeds per fruit. The number of seeds per fruit was significantly influenced by the bottle gourd genotypes, and the number of seeds per fruit having an average of 316 seeds ranged from 68 to 962 seeds per fruit. While the highest number of seeds per fruit was determined in the genotype LS31-09, it was followed by LS 31-43 and the least seed number per fruit was found in genotype LS 01-18 (Figure 4).

Seed size (100 seed weight) and shape showed significant diversity depending on genotypes (Figure 5, Figure 9). 100 seeds weight with an average of 20.14 g varied from 3.7 g to 28.06 g. The heaviest seeds were

produced by LS 20-06, LS 01-16, LS 33-02, LS 33-45 and LS 33-41, respectively, while the lightest seeds were harvested from 01-18 (Figure 5).

A significant variation was found in seed length among bottle gourd genotypes. Seed length ranged from 0.7 to 2.18 cm, while average seed length was calculated as 1.84 cm. The longest seeds were harvested from LS 33-41 with 2.2 cm and the shortest seeds were obtained from LS 01-18 with 0.7 cm. A difference of more than three folds was found between the longest seeds and the shortest seed. While the number of genotypes having a longer seed length than the mean was 14, the other eight genotypes had seeds that were shorter than the average.

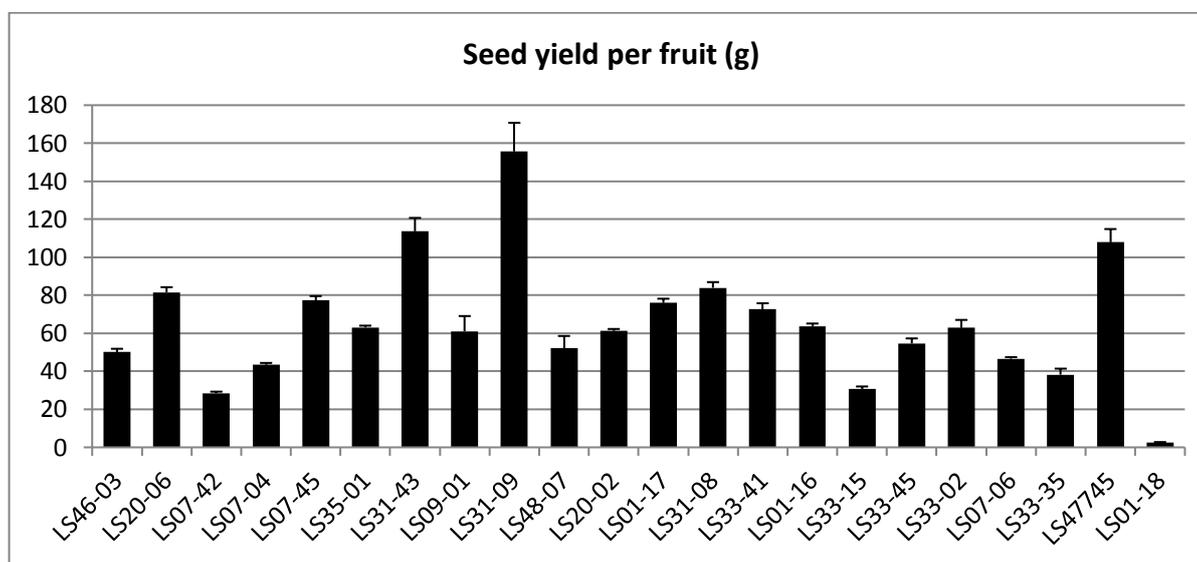


Figure 3. Seed yield of bottle gourd genotypes (g/fruit⁻¹), $P < 0.01$; $Lsd: 7.922$.

-1

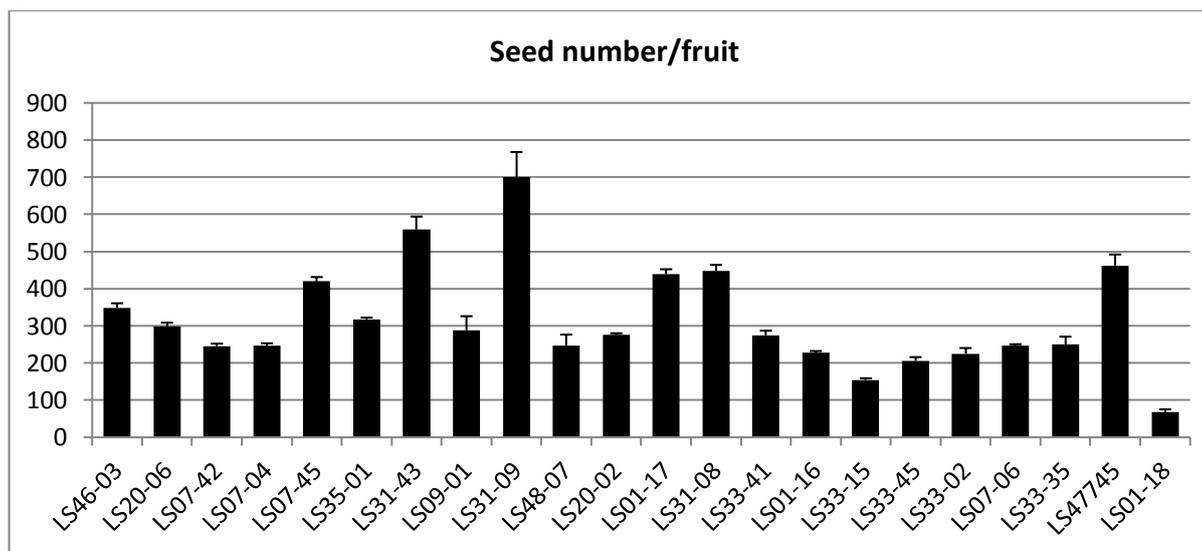


Figure 4. Seed yield of bottle gourd genotypes (seed number/fruit⁻¹), $P < 0.01$; $Lsd: 36.706$.

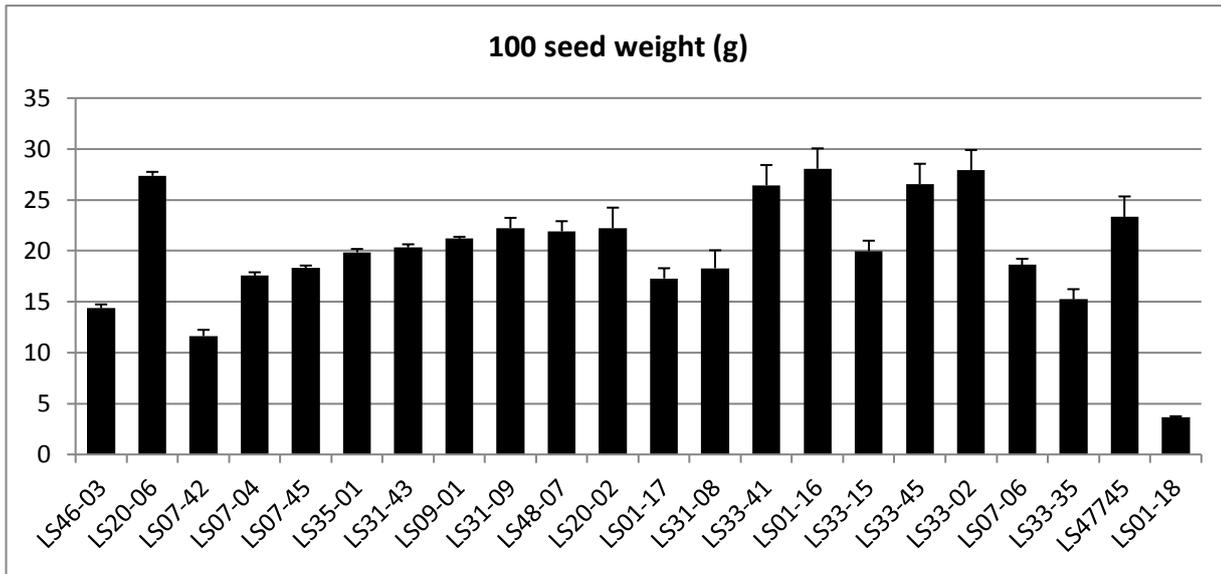


Figure 5. 100 seed weight (g), $P < 0.01$; $Lsd: 2.032$.

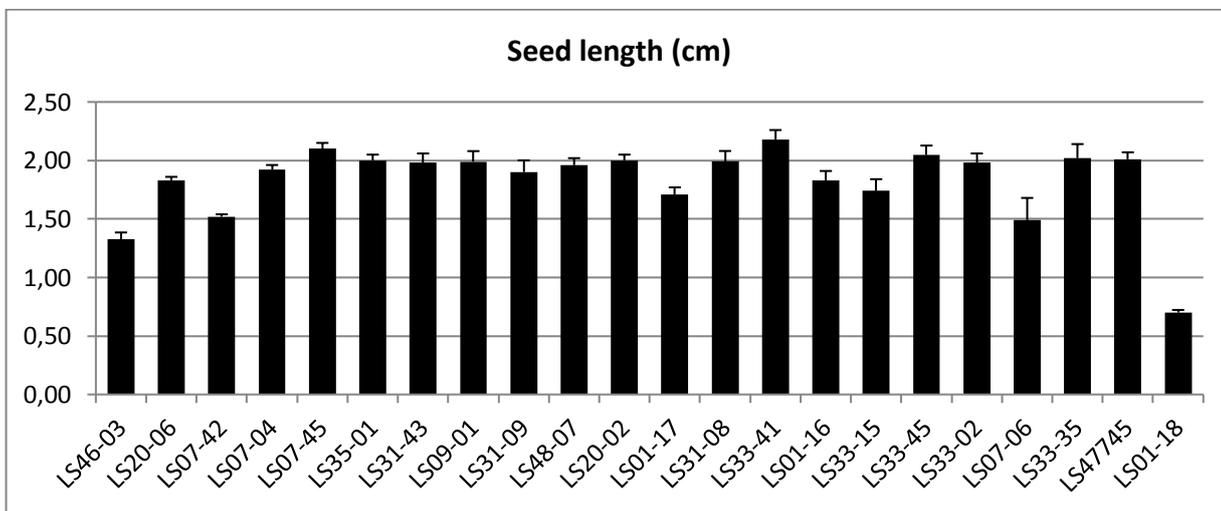


Figure 6. The seed length of bottle gourd genotypes (cm), $P < 0.01$; $Lsd: 0.133$.

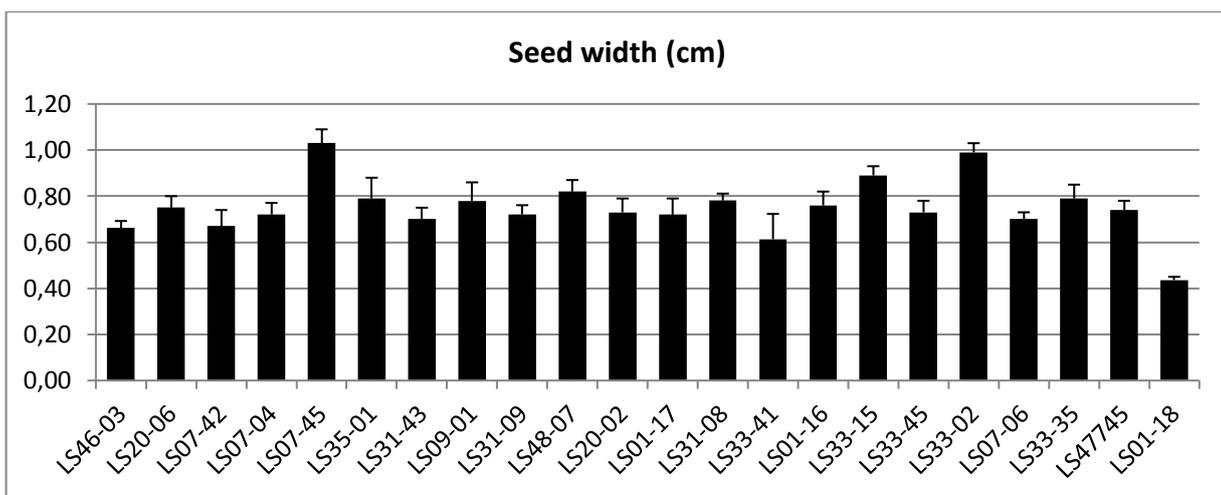


Figure 7. The seed width of bottle gourd genotypes (cm), $P < 0.01$; $Lsd: 0.094$.

Seed width showed significant variation among bottle gourd genotypes. Seed width changed between 0.38 cm and 1.03 cm. While the largest seeds were determined in genotype LS 07-45 and LS 33-02 with 1.03 cm and

0.99 cm respectively, the narrowest seeds were determined in genotype LS 01-18 with 0.44 cm. The average seed width was calculated as 0.76 cm, and the number of genotypes having a seed width higher than

the average seed width was 8 (Figure 7).

Findings related to seed thickness are given in Figure 8 and differences between genotypes were found significant. As shown in Figure 8, seed thickness ranged from 0.24 mm to 0.39 mm with 0.33 mm average. While the thickest and thinnest seeds were harvested from genotype LS 01-18 and LS 48-07 with 0.39 mm and 0.24 mm, respectively, the average of the seed thickness was calculated as 0.33 mm. As in fruit index, seed index also showed significant variation. It varied from 1.84 to 3.11 (Table 2, Figure 9).

Correlation coefficients were given in Table 3. While

the fruit length was found positively correlated with the fruit diameter, it was strongly positively correlated with the fruit index. The fruit diameter was positively correlated with the seed yield per fruit (g) and strongly positively correlated with 100 seed weight and seed length. 100 seed weight was positively correlated with seed yield per fruit (g), seed width and seed index, and it was strongly positively correlated with seed length. The seed yield (g) per fruit showed a positive correlation with the seed index and a strong positive correlation with the number of seeds per fruit. The seed length had a strong positive correlation with seed width and seed index.

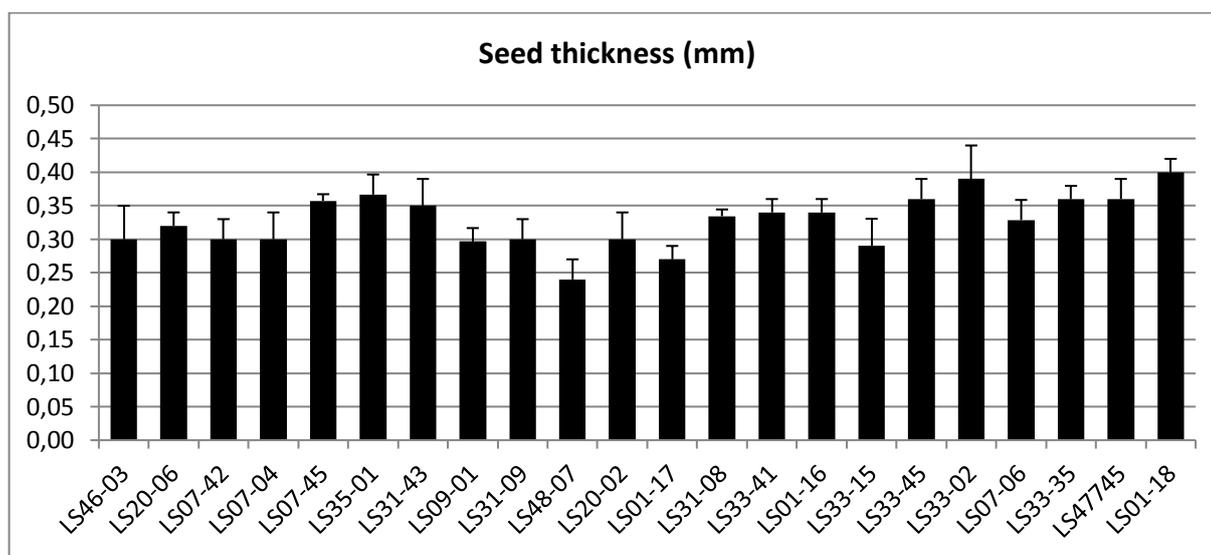


Figure 8. The seed thickness of bottle gourd genotypes (mm), $P < 0.01$; $Lsd: 0.051$.



Figure 9. Seed shape and size of bottle gourds from Turkish bottle gourd germplasm.

Table 3. Correlation coefficients between investigated fruit and seed characteristics (n=66)

	Fruit diameter	Fruit index	100 seed weight	Seed yield	SN. Per fruit	Seed length	Seed width	Seed thickness	Seed index
Fruit length	0.96***	0.97***	0.21	0.16	0.14	0.41	0.21	0.07	0.27
Fruit diameter		0.360	0.40	0.52*	0.39	0.55**	0.33	-0.18	0.36
Fruit index			0.01	-0.02	0.02	0.31	0.16	0.12	0.20
100 seed weight				0.49*	0.17	0.70**	0.42	-0.05	0.45*
Seed yield					0.92***	0.52*	0.17	-0.04	0.42*
SN. per fruit						0.36	0.12	-0.11	0.30
Seed length							0.58**	-0.01	0.63**
Seed width								0.01	-0.24
Seed thickness									-0.04

SN: Seed number; *, **, *** significant at 0.05, 0.01, 0.001 respectively.

Seed characteristics and seed yield presented significant variation based on bottle gourd genotypes. In the family of squash (Cucurbitaceae), the significant variation in seed shape and seed yield has been also indicated in *C. pepo* (Paris 2001), *Citrullus lanatus* (Maggs-Kölling et al 2000; Gusmini 2003), *L. siceraria* (Pradhan et al 2013; Buthelezi et al 2019) and *C. maxima* (Balkaya et al 2010). In agreement with our results, a significant variation in seed characteristics of bottle gourd was previously reported from different parts of the world (Morimoto et al 2005; Mladenović et al 2009; Amangoua et al 2018; Buthelezi et al 2019). Significant variation in seed characteristics of Turkish bottle gourds was reported in previous studies (Yetisir et al 2008; Taş et al 2019). This variation in the Turkish gourd is attributed to the introduction of bottle gourd from different places and the high rate of cross pollination of bottle gourd. As can be seen from the seed shapes given in Figure 5, it was determined that all bottle gourds genotypes used in our study belong to the calabash group except for 01-18 with small fruit and seed size. Similarly, lower seed yield and smaller fruits were reported in oleaginous types bottle gourds by Amangoua (2018). 100 seeds weight (3.70-28.06 g) and seed yield per fruit⁻¹ (2.53-153.85 g/fruit⁻¹ and 68.38-691.77 seed per fruit) were in accordance with Sharma et al. (2016), Amangoua et al (2018) and Buthelezi et al (2019). Average calculated seed yield for calabash types is higher (1400 kg/ha⁻¹) than seed yield Sharma et al. (2016) reported in conventional growing methods. While the results of the seed length and seed width were in agreement with Buthelezi et al (2019), their average values were 1.84 and 0.76 cm, respectively. As reported in Saharma et al (2016) and Buthelezi et al (2019), seed size and fruit size were significantly positively correlated with seed yield. Since bottle gourds can climb, they can be grown vertically (trailing). With this growing system, it is possible to increase the seed yield by planting more plant to the unit area. Sharma et al (2016) reported a 15% increase in seed yield per fruit and 11% increase in seed yield per unit area by using the trailing method. This study showed that calabash type bottle gourds produced significantly higher seed than

Cucurbita pepo (1200-1300 kg ha⁻¹) (Tuik 2018), and egusi melon (770-1020 kg ha⁻¹) (Emeka 2015). The high seed production capacity of the bottle gourds (Achigan-Dako et al 2006) with high adaptability to different adverse conditions can be used as an alternative oil source to vegetable oils (Loukou et al 2012). Variation in seed yield and seed physical properties are important for *C. pepo*, watermelon and bottle gourds grown for seed production. In seed production, both seed yield of genotypes and end-use purpose of seed are important. Producers demand high yielding varieties suitable for confectionary (*C. pepo* and watermelon) or oil extraction (bottle gourd). The high genetic diversity is the only important powerful tool in the hands of plant breeders. The higher the genetic diversity, the stronger the breeder's hand. In this regard, it was seen that Turkish bottle gourd germplasm has a significant variation in both seed yield and seed characteristics.

CONCLUSION

It was determined that all bottle gourd genotypes used in the present study belong to calabash type except for LS 01-18. Fruit and seed morphology and seed yield showed significant variation. All bottle gourd genotypes had larger seeds and higher seed yield than previous studies except for LS01-18 which have the smallest fruits and seeds. As suggested by Amangoua et al (2018), calabash type genotypes should be selected as a female parental line in hybrid seed production. It can be concluded that bottle gourd with a significant amount of oil and protein in its seeds can be an alternative oil plant with high seed productivity. *L. siceraria*, one of the underutilized species, genotypes from Turkish bottle gourd germplasm showed considerable potential in seed yield and this potential can be exploited in the future oil plant or rootstocks breeding program.

REFERENCES

Achigan-Dako GE, Fanou N, Kouke A, Avohou H, Vodouhe RS, Ahanchede A 2006. Evaluation agronomique de trois espèces de egussi (Cucurbitaceae) utilisées dans l'alimentation au Bénin et élaboration d'un modèle de prédiction du

- rendement. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 10: 121-129.
- Amangoua NF, Koffi KK, Baudoin J P, Zoro BIA 2018. Heritability and number of genes controlling seed yield in bottle gourd. *African Crop Science Journal* 26 (2): 245-258.
- Ashita E 1927. Grafting of watermelons (in Japanese). Korea (Chosun) Agric Newsl 1-9
- Balkaya A, Yanmaz R, Özbakir M 2009. Evaluation of variation in seed characters of Turkish winter squash (*Cucurbita maxima*) populations. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 37 (3): 167-178.
- Balkaya A, Özbakır Özer M, Kurtar ES 2010. The phenotypic diversity and fruit characterization of winter squash (*Cucurbita maxima*) populations from the Black Sea Region of Turkey. *African Journal of Biotechnology* 9(2): 152-162.
- Buthelezi LG, Mavengahama S, Ntuli NR 2019. Morphological variation and heritability studies of *Lagenaria siceraria* landraces from northern KwaZulu-Natal, South Africa, *Biodiversitas* 20 (3): 922-630.
- Decker-Walters D, Staub J, Lo'pez-Se'se' A, Nakata E 2001. Diversity in landraces and cultivars of bottle gourd (*Lagenaria siceraria*: Cucurbitaceae) as assessed by random amplified polymorphic DNA. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 48: 369-380.
- Decker-Walters DS, Wilkins-Ellert M, Chung S, Staub JE 2004. Discovery and genetic assessment of wild bottle gourd [*Lagenaria siceraria*: (Mol.) Standley; Cucurbitaceae] from Zimbabwe. *Econ Bot.* 58: 501-508.
- Emeka OE 2015. Floral characteristics and seed production in "Egusi" melon (*Colocynthis citrullus* L.). *International Journal of Agricultural Sciences* 5 (3): 607-609.
- Gusmini, G. 2003. Watermelon (*Citrullus lanatus*) breeding handbook. North Carolina State University, Raleigh, NC, USA.
- Harris DR 1967. New light on plant domestication and the origins of agriculture: a review. *Geogr Rev.* 57: 90-107.
- Herklots GAC 1972. *Vegetables in South East Asia*. George Allen and Unwin Ltd, London.
- Karaca F, Yetisir H, Solmaz I, Candir E, Kurt S, Sari N, Guler Z 2012. Rootstock 341 potential of Turkish *Lagenaria siceraria* germplasm for watermelon: plant growth, yield 342 and quality. *Turk J Agric For* 36 (2): 167-177.
- Koffi KK, Anzara KG, Malice M, Djè Y, Bertin P, Baudoin JP, Zoro Bi AL 2009. Morphological and allozyme variation in a collection of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. from Côte d'Ivoire. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 13 (2): 257-270.
- Lee JM 1994. Cultivation of grafted vegetables I. Current status, grafting methods and benefits. *HortScience* 29: 235-239.
- Loukou AL, Gnakri D, Djè Y, Kipré AV, Malice M, Baudoin JP, Zoro Bi IA 2007. Macronutrient composition of free cucurbit species cultivated for seed consumption in Côte d'Ivoire. *African Journal of Biotechnology* 6 (5): 529-533.
- Loukou AL, Lognay G, Baudoin JP, Kouamé LP, Zoro Bi IA 2012. Effect of fruit maturity on oxidative stability of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. Seed oil extracted with hexane. *Journal of Food Biochemistry* 37(4): 475- 484.
- Maggs-Kölling G, Madsen S, Christiansen J 2000. A phenetic analysis of morphological variation in *Citrullus lanatus* in Namibia. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47(4): 385-393.
- Manandhar NP 2002. *Plants and people of Nepal*. Timber Press, Oregon. ISBN: 0-88192-527-6
- Mariod AA, Mustafa MMM, Nour AAM, Abdulla MA, Cheng SF 2015. Investigation of oil and protein contents of eight sudanese *Lagenaria siceraria* varieties. *Journal of The American Oil Chemists Society* 92 (4): 483-494.
- Mashilo J, Shimelis H, Odindoa AO, Amelework BA 2017. Genetic differentiation of bottle gourd [*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.] landraces assessed by fruit qualitative traits and simple sequence repeat markers. *Scientia Horticulturae* 216: 1-11
- Mladenović E, Berenji J, Ognjanov V, Ljubojević M, Čukanović A 2012. Genetic variability of bottle gourd (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Standley) and its morphological characterization by multivariate analysis. *Archives of Biological Sciences* 64 (2): 573-583.
- Moerman D 1998. *Native American ethnobotany*. Timber Press, Oregon
- Morimoto Y, Maundu P, Fujimaki H., Morishima H 2005. Diversity of landraces of the white-flowered gourd (*Lagenaria siceraria*) and its wild relatives in Kenya: fruit and seed morphology. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 52: 737-747
- Oda M 1995. New grafting methods for fruit-bearing vegetables in Japan. *JARQ* 29: 187-198
- Paris HS 2001. Characterization of *Cucurbita pepo* collection at the Newe Ya'ar Research Center, Israël. *Plant genetic Resources Newsletter* 126: 41-45.
- Pradhan RC., Said PP, Singh S 2013. Physical properties of bottle gourd seeds. *Agric Eng Int: CIGR Journal*, 15(1): 106-113.
- SAS Institute 2005. SAS Online Doc, Version 8. SAS Inst., Cary, NC
- Sharma RK, Tomar BS, Singh SP, Kumar A 2016. Effect of growing methods on seed yield and quality in bottle gourd (*Lagenaria siceraria*). *Indian Journal of Agricultural Sciences* 86(3): 373-378.
- TUİK 2018. <http://tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=kategorist>

- Whitaker TW 1971. Endemism and pre-Columbian migration of bottle gourd, *Lagenaria siceraria* (Mol.) Standl. In: Riley CL, Kelley JC, Pennington CW, Runds RL (eds) Man across the sea. University of Texas Pres, Austin, pp 78–218
- Yetisir H, Sarı N 2003. Effect of different rootstock on plant growth, yield and quality of watermelon. Aust. J. Exp. Agric. 43: 1269-1274.
- Yetisir H, Çaliskan ME, Soylu S, Sakar M 2006. Some physiological and growth responses of watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai] grafted onto *Lagenaria siceraria* to flooding. Environ. Exp. Bot. 58: 1-8
- Yetişir H, Şakar M, Serçe S 2008. Collection and morphological characterization of *Lagenaria siceraria* germplasm from the Mediterranean region of Turkey. Genet Resour. Crop Evol. 55: 1257–1266.
- Zoro Bi IA, Koffi KK, Djè Y 2003. Caractérisation botanique et agronomique de trois espèces de cucurbites consommées en sauce en Afrique de l'Ouest: *Citrullus* sp., *Cucumeropsis mannii* Naudin et *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment 7 (3-4): 189-199.

Distantes R. Bhattacharjee (*Stachys* L. /Lamiaceae) Altseksiyonu Taksonları Üzerinde Karşılaştırmalı Anatomik ve Mikromorfolojik Çalışmalar

Mikail AÇAR¹ , Fatih SATIL² 

¹Munzur Üniversitesi Tunceli Meslek YO, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü Tunceli, ²Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji bölümü, Balıkesir

¹<https://orcid.org/0000-0003-3848-5798>, ²<https://orcid.org/0000-0002-4938-1161>

✉: mikailacar27@hotmail.com

ÖZET

Bu çalışmada; *Stachys* L. cinsi (Lamiaceae) *Distantes* altseksiyonu taksonları üzerinde karşılaştırmalı anatomik ve mikromorfolojik çalışmalar yapılmış ve altseksiyonun taksonları için ayırt edici karakterler belirlenmiştir. Anatomik çalışmalarda, elle kesit alma ve parafine gömme yoluyla mikrotomda kesit alma yöntemleri kullanılmıştır. Mikromorfolojik çalışmalar ise LM (Işık Mikroskobu) ve SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu)' de gerçekleştirilmiştir. Anatomik çalışmalarda, taksonların gövde ve yaprak yapılarında benzerlikler bulunmasının yanında bazı ayırt edici farklılıklar da tespit edilmiştir. Mikromorfolojik çalışmalarda ise taksonların tüy ve nutlet özelliklerinin tür ve tür altı seviyede kullanışlı karakterler olduğu görülmüştür. Çalışma neticesinde gövde yapısında köşelerde demet şeklinde sklerenkima varlığı, salgı tüylerinin varlığı ve tipleri, nutlet yüzey ornamentasyonu, nutletteki kanat varlığı ve karın bölgesinin yapısı taksonların ayırt edilmesinde kullanılacak önemli karakterlerdir. Numerik bulgulara göre tüy ve nutlet mikromorfolojik karakterlerinin anatomik karakterlerden daha önemli olduğu görülmüştür.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 08.05.2019

Kabul Tarihi : 30.06.2019

Anahtar Kelimeler

Anatomi,
Lamiaceae,
Morfoloji,
Nutlet,
Distantes, *Stachys*,
Tüy

Comparative Micromorphological and Anatomical Investigations on the Subsection *Distantes* R. Bhattacharjee (*Stachys* L./Lamiaceae)

ABSTRACT

In this study; comparative anatomical and micromorphological studies were performed on the subsection *Distantes* of the *Stachys* L. genus (Lamiaceae). Also, it was determined distinctive anatomical characters for the taxa of subsection in the study. In anatomical studies, free-hand cross-sections and the paraffin embedding method was applied with the microtome. Micromorphological studies were performed in LM (Light Microscope) and SEM (Scanning Electron Microscope). In anatomical studies, besides of similarities in stem and leaf structures there were also some differences in taxa. In micromorphological studies, the trichome and nutlet characteristics were found to be useful characters on taxa and at species and subspecies level. As a result of the study, the presence of sclerenchyma like a bundle in the stem structure and the presence and types of glandular trichomes and ornamentation on the surface of nutlet, the presence of the wing and ventral structure in the nutlet were important characters that can be used to distinguish taxa. According to the numerical findings, trichome and nutlet micromorphological characters were more important than anatomical characters.

Research Article

Article History

Received : 08.05.2019

Accepted : 30.06.2019

Keywords

Anatomy,
Lamiaceae,
Morphology,
Nutlet,
Distantes, *Stachys*,
Trichome

To Cite : Açar M, Satıl F 2019. *Distantes* R. Bhattacharjee (*Stachys* L. /Lamiaceae) Altseksiyonu Taksonları Üzerinde Karşılaştırmalı Anatomik ve Mikromorfolojik Çalışmalar. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22(Ek Sayı 2): 282-295. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.562089

GİRİŞ

Lamiaceae familyası dünyada 236 cins 7203 tür ile

temsil edilmektedir (Chase, 2018). Ülkemizde de Ballıbabagiller olarak adlandırılan Lamiaceae familyası 46 cinsde ait 586 takson içermektedir (Güner

ve ark. 2012). *Stachys* L. (Deliçay) Lamiaceae familyasının taksonomik anlamda büyük ve kompleks bir cinsidir. Subkozmozopolit bir cins olup ılıman iklimlerde Akdeniz ve Güneybatı Asya' da, ikinci olarak Kuzey ve Güney Amerika ile Kuzey Afrika'da yayılış gösterirken Avustralya'da ve Yeni Zelanda'da yayılış göstermemektedir (Bhattacharjee, 1980). Dünyada yaklaşık olarak 370 tür ve 435 taksonla temsil edilmektedir (Harley ve ark. 2004, Govaerts, 2015). Türkiye' deki *Stachys* cinsinin 2 altcins ve 14 seksiyona ait 91 tür ve 118 taksonu bulunmaktadır ve bu taksonlardan 57 tanesi endemik olup endemizm oranı %48' dir (Akçiçek ve ark. 2016). *Distantes* altseksiyonu bu 14 seksiyondan *Olisia* Dumort. seksiyonunda sınıflandırılmıştır. Endemizm oranı yüksek olan bu altseksiyon Akdeniz bölgesinde yayılış göstermektedir.

Mikromorfolojik karakterler, Lamiaceae familyasının bazı cinslerinde en kullanışlı taksonomik karakterler olarak bilinir. Son zamanlarda, Lamiaceae' nin birçok cinsi üzerinde, nutlet yüzeyi ve nutlet karakterlerinin taksonomik değeri olduğuna dair önemli elektron mikroskop (SEM) çalışmaları yapılmıştır (Husain ve ark. 1990; Demissew & Harley, 1992; Marin ve ark. 1996; Budantsev & Lobova, 1997; Jamzad ve ark. 2000). Budantsev & Lobova (1997) tarafından Lamiaceae' deki nutlet morfolojisinin taksonomik hiyerarşinin farklı seviyelerinde değişen derecelerde faydalı olduğunu kanıtlamıştır. Aynı şekilde, Lamiaceae' de salgı tüylerinin morfolojisi, dağılımı ve sıklığı subfamilya düzeyinde ayırt edici karakter

olarak kullanılmaktadır (Ascensao ve ark. 1995).

Yapılan literatür araştırmalarında *Stachys* cinsi üzerinde bir takım anatomik ve mikromorfolojik çalışmalar yapıldığı görülmüştür (Satıl ve ark., 2012; Dinç ve Öztürk, 2008; Salmaki, 2008). Bunun yanında bu çalışmalardan bazıları *Distantes* altseksiyonunun da sınıflandığı *Olisia* seksiyonu taksonları üzerinedir (Salmaki ve ark. 2009; Salmaki ve ark. 2011; Temel ve ark. 2015; Potoğlu ve ark. 2010). Ancak *Distantes* altseksiyonu üzerinde yapılmış anatomik ve mikromorfolojik çalışmalara rastlanmamıştır.

Bu çalışmada Türkiye' de yetişen ve özellikle bazı taksonları morfolojik olarak yakın benzerlik gösteren *S. aleurites*, *S. bombycina* ve *S. pseudobombycina*, *S. distans* subsp. *distans* ve *S. distans* subsp. *cilicica* taksonlarının genel anatomik özellikleri ile tohum yüzeyi ve tüy örtüsü incelenmiştir. Çalışma sonucunda, taksonlar arasında benzerlikler ve farklılıklar ortaya konmuş, altseksiyonunun sistematğine anatomik ve mikromorfolojik olarak katkı sağlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma materyalini oluşturan *Stachys* L. cinsi *Distantes* altseksiyonuna ait taksonlar Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi (NEF) herbaryumundan ve BAP 2015/122 no' lu proje kapsamında araziden temin edilmiştir. Taksonların lokaliteleri Çizelge 1' de verilmiştir.

Çizelge 1. Taksonların toplandığı lokaliteler ve herbaryum kayıtları

Table 1. Localities and herbarium records

<i>Stachys aleurites</i> Boiss. & Heldr. (Endemik)	Antalya: Falez otelin arkası, deniz kenarı falezler, 0-30 m, 36° 53' 049" N-30° 40' 827" E, 20.04.2013, EA 5543 (NEF), T. Dirmenci, Ö. Güner, T. Özcan, 24.05.2013, ibid., EA 5601 (NEF), Ö. Güner. Antalya: Kurşunlu şelalesi, kayalık nemli alanlar, 37° 00' 180" N-030° 49' 209" E, 60 m, 24.05.2013, EA 5594 (NEF), T. Dirmenci, Ö. Güner.
<i>Stachys bombycina</i> Boiss. (Endemik)	Antalya: Konyaaltı plajları, kayalık yamaçlar, 10 m, 36° 49' 762" N-30° 35' 724" E, 20.04.2013, EA 5544 (NEF), T. Dirmenci, Ö. Güner.
<i>Stachys pseudobombycina</i> (Endemik)	Antalya: Kemer, Küçükçaltıcak mevki, orman altı, EA 5813 (NEF), T. Dirmenci, Ö. Güner.
<i>Stachys distans</i> Benth. var. <i>cilicica</i> R.Bhattacharjee (Endemik)	Mersin: Erdemli, Ayaş beldesi, Merdivenli kuyu mevki, deniz kenarı, nehir, yatağı, 5 m, 22.04.2013, EA 5527 (NEF), T. Dirmenci, Ö. Güner.
<i>Stachys distans</i> Benth. var. <i>distans</i>	Mersin: Erdemli, Limonlu, Ömerçayı 36° 34' 08.81" N-34° 14' 28.03" E, 20 m, 22.06.2015, EA 5807 (NEF), Ö. Güner.

Toplanan örnekler herbaryum materyali haline getirilmiş olup, Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi ve Munzur Üniversitesi' herbaryumlarında muhafaza edilmektedir. Anatomik çalışmalar; canlı örnekler ile %70' lik etil alkol içerisinde muhafaza edilen örnekler ve herbaryum örnekleri üzerinde yapılmıştır. Anatomik çalışmalar; her takson için popülasyonu temsil edecek şekilde en az iki birey üzerinde yapılmıştır. Kesit alma işlemleri hem el ile hem de parafine gömme metodu ile

gerçekleştirilmiştir (Johansen, 1940; Ozban ve Özmütlu, 1994) Doku ve hücrelerin daha iyi ayırt edilebilmesi için sartur reaktifi veya safranin-fastgreen ile boyandıktan sonra entellan ile veya gliserin-jelatin yöntemiyle daimi preparat haline getirilmiştir (Baytop, 1972). Taksonların trikrom mikromorfolojisi için, herbaryum örnekleri kullanılmıştır. Gövde ve yapraklardan alınan küçük parçalar 'Masaüstü SEM (JCM-5000)' de incelenmiş ve mikrofotografı çekilip sınıflandırılmaları

yapılmıştır (Metcalf & Chalk, 1972; Ascensao & Pais, 1998; Werker ve ark. 1985; Giuliani & Bini, 2008; Satıl ve ark. 2011; Cantino, 1990). Nutlet yüzey özellikleri ve genel nutlet özellikleri belirlenerek sınıflandırılmıştır (Bojňanský & Fargašová, 2007; Satıl ve ark. 2012; Salmaki ve ark. 2008; Kaya & Dirmenci, 2008). Anatomik ölçümler ImageJ 1.4.3.67 (Rasband, 1997-2016) programı aracılığıyla

yapılmıştır. Anatomik incelemeler Olympus BX53, Olympus CX21 ve Leica Dmil Inverter mikroskopta yapılmıştır. İstatistiksel çalışmalar PAleontoSTatistics (PAST) programı aracılığıyla yapılmıştır (Hammer, Harper, and Ryan 2001). İstatistiksel çalışmalarda kullanılan karakterler Çizelge 2' de verilmiştir.

Çizelge 2. İstatistiksel çalışmalarda kullanılan karakterler

Table 2. Characters used for statistical studies

Anatomik niceliksel karakterler	Anatomik niteliksel ve mikromorfolojik karakterler
Gövde epidermis genişliği	Yaprak epidermis antiklinal duvar yapısı (düz, dalgalı, kıvrımlı)
Gövde köşesindeki kollenkima tabakası genişliği	Gövde ve yaprakta hipodermis varlığı
Gövde köşeler arası parenkima tabakası genişliği	Stomanın epidermis seviyesine göre durumu (higromorf, mezomorf)
Gövde endodermis hücre genişliği	Stomanın bulunduğu yaprak yüzeyi (amfistomatik, hipostomatik)
Gövde endodermis hücre uzunluğu	Stoma dış düzlüklerinin deseni (çizgili, hafifçe çizgili, düz)
Gövde köşelerde sklerankima tabakası genişliği	Stoma bekçi hücre şekli (eliptik, darca eliptik, suborbikulat)
Gövde köşelerde floem tabakası genişliği	Yaprak orta damarın genel durumu (üst ve alt yüzeyde çökme durumu)
Gövde trake çapı	Yaprak iletim demetinde gelişmiş çeperli sklerankima hücreleri varlığı
Gövde öz oranı	Nutlet yapısında örtü tüyünün varlığı
Yaprak kütikula kalınlığı	Nutlet yüzey yapısında damarlanma durumu
Yaprak alt epidermis hücre genişliği	Nutlet yapısında kanat varlığı
Yaprak üst epidermis hücre genişliği	Nutlette kanat yapısının bulunduğu bölge (apeks, taban ya da her ikisini kapsayacak şekilde)
Yaprak stoma bekçi hücre genişliği	Nutlet yüzey ornemantasyonu (tüberkül şeklinde süslemeler varlığı)
Yaprak stoma bekçi hücre uzunluğu	Nutlet yüzey süslerinin bulunduğu yüzey (sadece apeks kısmı ya da tüm yüzeyde)
Yaprak mezofil genişliği	Nutlet yüzey dokusu (ağsı, hücresel, kabarık)
Yaprak orta damar iletim demeti genişliği	Nutlet apeks ve taban kısmının şekli
Yaprak trake çapı	Nutlet karın bölgesindeki çıkıntı (rib) yapısının durumu ve bulunduğu kısım (boylu boyunca olması, belirgin ya da belirsiz olması)
	Nutlet rengi
	Gövde ve yaprakta bulunan tüy tipleri

BULGULAR

Anatomik Bulgular

Taksonların gövdelerinden ve yapraklarından alınan kesitler incelenmiş ve anatomik özellikleri aşağıda verilmiştir (Çizelge 3-4-5-6, Şekil 1-3).

Gövde dört köşeli ve köşelerdeki kollenkima belirgin ve kalındır. Kollenkimayı sırasıyla; parankima, endoderma, sklerenkima, floem ve ksilem dokuları izlemektedir. Taksonların hepsinde kollenkima tipi lakünardır. Bunun yanında sadece *S. aleurites* türünde gövde köşelerinde birkaç sıra kollenkimanın altında sklerenkima hücreleri bir demet şeklinde bulunmaktadır. Altseksiyonun gövde trake çapları ise 16.77-33.64 µm arasında ölçülmüştür. Ayrıca

taksonların hiçbirinde gövdede hipodermis tabakasına rastlanmamıştır. Taksonların gövde yapısında öz bölgesi geniş yer kaplamıştır. Taksonların yaprak epidermis antiklinal duvarları ise kıvrımlı yapı göstermektedir. Taksonların stoma durumu higromorf ve mezomorf şeklinde olup stoma şekli darca eliptikten eliptike kadardır (Şekil 4). Ayrıca altseksiyonda stoma bulunduğu yüzeye göre amfistomatik ve hipostomatik tip olarak gözlenmiştir (Şekil 5). Yaprak mezofil tipi bifasiyaldir. Mezofil tabakası 68.69-139.31 µm arasında ölçülmüştür. Orta damar abaksiyal yönde çıkıntı yapmıştır. Orta damar iletim demetinde üstte ksilem altta floem yer almıştır.

Bunun yanında floem sklerankimatik bir şapka

tarafından yarım ay şeklinde sarılmıştır. Orta damar gelişmiş olup yaprak iletim demeti genişliği 95.31-182.52 µm arasındadır. Taksonların gövde ve yaprak

yapılarında kristallere rastlanmıştır. Altseksiyonda rafit, tekli çubuk, ikiz tip, üçlü tip, kare, prizmatik ve druz tipde kristaller gözlenmiştir (Şekil 4).

Çizelge 3. Taksonların tüy tipleri dağılımı ve yoğunluğu

Table 3. Distribution and density of trichome types of taxa

Taksonlar (Taxa)	Gövde (Stem)			Yaprak (Leaf)		
	N	C1	C2	N	C1	C2
<i>S. aleurites</i>	+++	++	-	+++	++	-
<i>S. bombycina</i>	+++	-	++	+++	++	+
<i>S. pseudobombycina</i>	+++	-	++	+++	++	++
<i>S. distans</i> var. <i>distans</i>	+++	+	++	+++	++	++
<i>S. distans</i> var. <i>cilicica</i>	+++	++	+	+++	++	+

Tüy yoğunluğu: ±: nadir, +: seyrek, ++: yoğun, +++: çok yoğun. N: Örtü tüyü, C1-C2: Kapitat tip salgı tüyü

Trichome density: ±: rare, +: sparse, ++: dense, +++: very dense. N: Nonglandular, C1-C2: Capitate type glandular trichome

Çizelge 4. Taksonların anatomik niteliksel karakterleri

Table 4. Anatomical qualitative characters of taxa

Taksonlar (Taxa)	Stoma (Stomata)	Stoma (Stomata)	Stoma (Stomata)	Stoma (Stomata)	Mezofil (Mesophyll)
<i>S. aleurites</i>	Higromorf (Hygromorph)	Amfistomatik (Amphistomatic)	Hafifçe çizgili (Slightly striate)	Eliptik (Elliptic)	2-3 sıra pp, 4-5 sıra sp (2-3 layered palisade p, 4-5 layered spongy p)
<i>S. bombycina</i>	Higromorf (Hygromorph)	Hipostomatik (Hypostomatic)	Hemen hemen düz (almost smooth)	Eliptik (Elliptic)	1-2 sıra pp, 3-4 sıra sp (1-2 layered palisade p, 3-4 layered spongy p)
<i>S. pseudobombycina</i>	Higromorf (Hygromorph)	Hipostomatik (Hypostomatic)	Hemen hemen düz (almost smooth)	Eliptik (Elliptic)	1-2 sıra pp, 3-4 sıra sp (1-2 layered palisade p, 3-4 layered spongy p)
<i>S. distans</i> var. <i>distans</i>	Higromorf (Hygromorph)	Hipostomatik (Hypostomatic)	Düz (Smooth)	Darca eliptik (Narrowly elliptic)	2-3 sıra pp, 4-5 sıra sp (2-3 layered palisade p, 4-5 layered spongy p)
<i>S. distans</i> var. <i>cilicica</i>	Higromorf (Hygromorph)	Hipostomatik (Hypostomatic)	Hafif çizgili (Slightly striate)	Darca eliptik (Narrowly elliptic)	2 sıra pp, 3-4 sıra sp (2 layered palisade p, 3-4 layered spongy p)

Çizelge 5. Taksonların gövde anatomik niceliksel karakter ölçümleri

Table 5. Anatomical quantitative stem character measurements of the taxa

TAKSONLAR (TAXA)	GÖVDE (µm) (STEM)								
	Epidermis hücre genişlik (Epidermis cell width)	Kollenkima tabakası (Collenchyma layer)	Köşeler arası Parankima (Paranchyma between corner layer)	Endo.genişlik (Endodermis width)	Endo. Uzunluk (Endodermis length)	Köşelerde Sklerenkima Tabakası (Sclerenchyma layer in the corners)	Köşelerde Floem tabakası (Phloem layer in the corners)	Trake çapı (Trachea diameter)	Öz (%) (Pith)
<i>S. aleurites</i>	17.90	71.57	78.51	17.30	9.50	35.20	42.05	24	58
<i>S. bombycina</i>	14.19	87.50	81.63	21.20	13.20	17.04	38.29	16.8	53
<i>S. pseudobombycina</i>	15.33	75.78	200.02	24.80	11.40	28.80	46.80	29.8	39
<i>S. distans</i> var. <i>distans</i>	16.80	88.90	102.47	19.70	13.80	28.02	40.80	33.6	45
<i>S. distans</i> var. <i>cilicica</i>	13.74	78.33	41.27	19.50	11.70	34.84	34.80	23.9	56

Çizelge 6. Taksonların yaprak anatomik niceliksel karakter ölçümleri

Table 6. Anatomical quantitative leaf character measurements of the taxa

TAKSONLAR (TAXA)	YAPRAK (µm) (LEAF)							
	Kütikula (Cuticle)	Alt epidermis h. genişlik (Lower epidermis cell width)	Üst epidermis h. genişlik (Upper epidermis cell width)	Stoma genişlik (Stoma width)	Stoma uzunluk (Stoma length)	Mezofil tabakası (Mesophyll layer)	İletim demeti genişlik (Vascular bundle width)	Trake çapı (Trachea diameter)
<i>S. aleurites</i>	1.32	17.29	32.61	20.95	25.13	139.31	167.71	6.26
<i>S. bombycina</i>	1.20	15.10	24.41	17.43	26.48	86.55	118.42	6.25
<i>S. pseudobombycina</i>	1.10	13.37	20.84	16.49	20.09	68.69	125.26	5.59
<i>S. distans</i> var. <i>distans</i>	1.18	17.18	27.81	17.36	24.37	124.82	182.52	5.93
<i>S. distans</i> var. <i>cilicica</i>	1.60	14.88	21.70	17.39	22.85	97.66	95.31	4.95

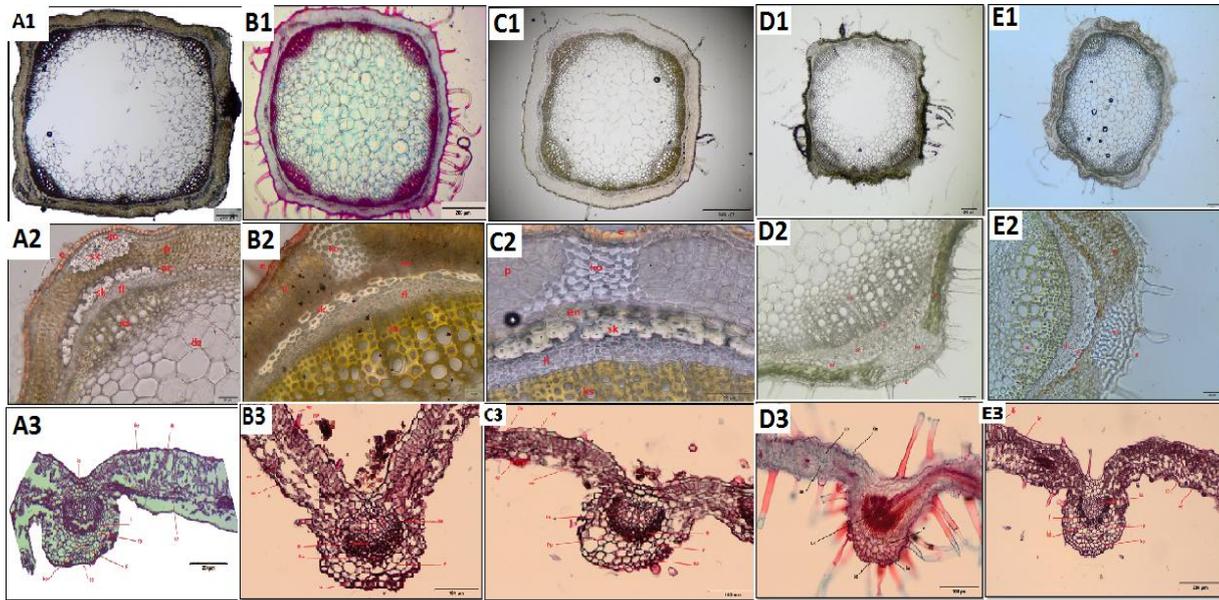
Şekil 1. Taksonların anatomik kesit görüntüleri. A-*S. aleurites*, B-*S. bombycina*, C-*S. pseudobombycina*, D-*S. distans* var. *cilicica*, E- *S. distans* var. *distans* 1-2: Gövde anatomik yapısı, 3- Yaprak anatomik yapısı

Figure 1. Anatomical crosssections of taxa

Mikromorfolojik Bulgular

Hem gövde hem de yapraktaki tüyler örtü (N tipi) ve salgı tüyü şeklinde olup salgı tüyleri ise kapitat tip (C tipi) şeklindedir (Çizelge 3-Şekil 2). C tipi kendi içinde iki alt tipe ayrılmaktadır. C1 Tip: Kısa bir sap kısmı ile bir veya çok hücreli baş bölgesine sahip nispeten kısa kapitat ile C2 Tip: Nispeten uzun bir sap kısmı ile bir ya da çok hücreli baş bölgesine sahip nispeten uzun kapitat şeklinde olup bununla beraber N tip ise: Papilsiz çok hücreli iplikli ve karışık şekilde örtü tüyü şeklindedir. Taksonların nutlet şekilleri obovat-eliptik şekillerinde olup yüzeylerinde herhangi bir tüberkül yapısına rastlanmamıştır (Çizelge 7, Şekil 6).

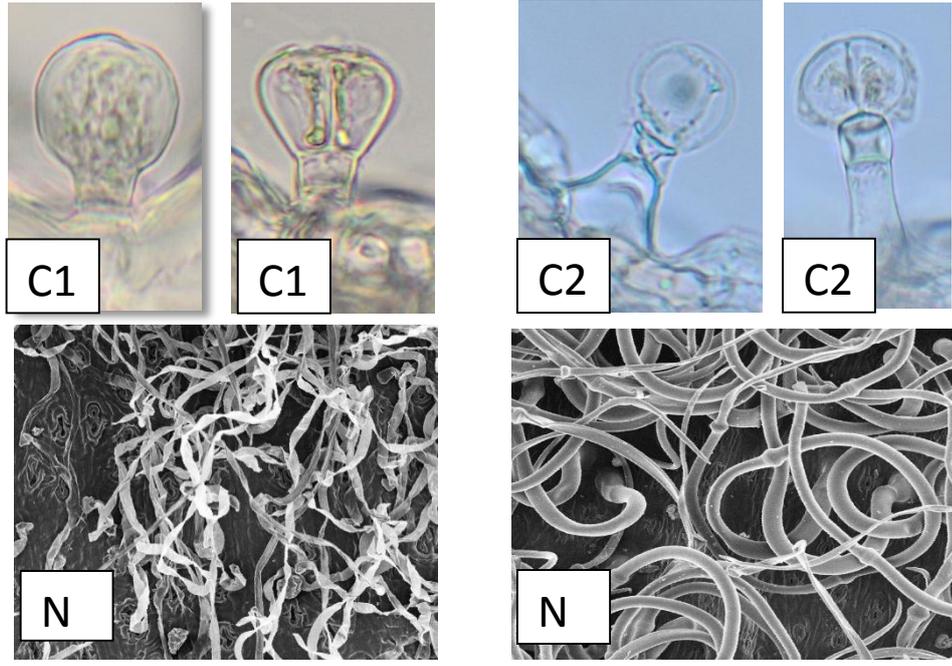
İstatistiksel Analizler

Taksonların bütün verileri kullanılarak Temel Bileşenler Analizi (PCA), Kümeleme (Cluster) ve Korelasyon analizleri yapılmıştır (Şekil 7-8-9, Çizelge

8). Temel Bileşenler analizine göre taksonlar arasındaki varyasyonu açıklayan en önemli anatomik niceliksel karakterler; köşelerarası parankima genişliği, mezofil genişliği, öz bölgesi genişliği, iletim demeti genişliği ve yaprak üst epidermis genişliği olduğu görülmüştür. Kümeleme analizine göre ise altseksiyonun taksonları 3 alt kümede sınıflanmışlardır (Şekil 8).

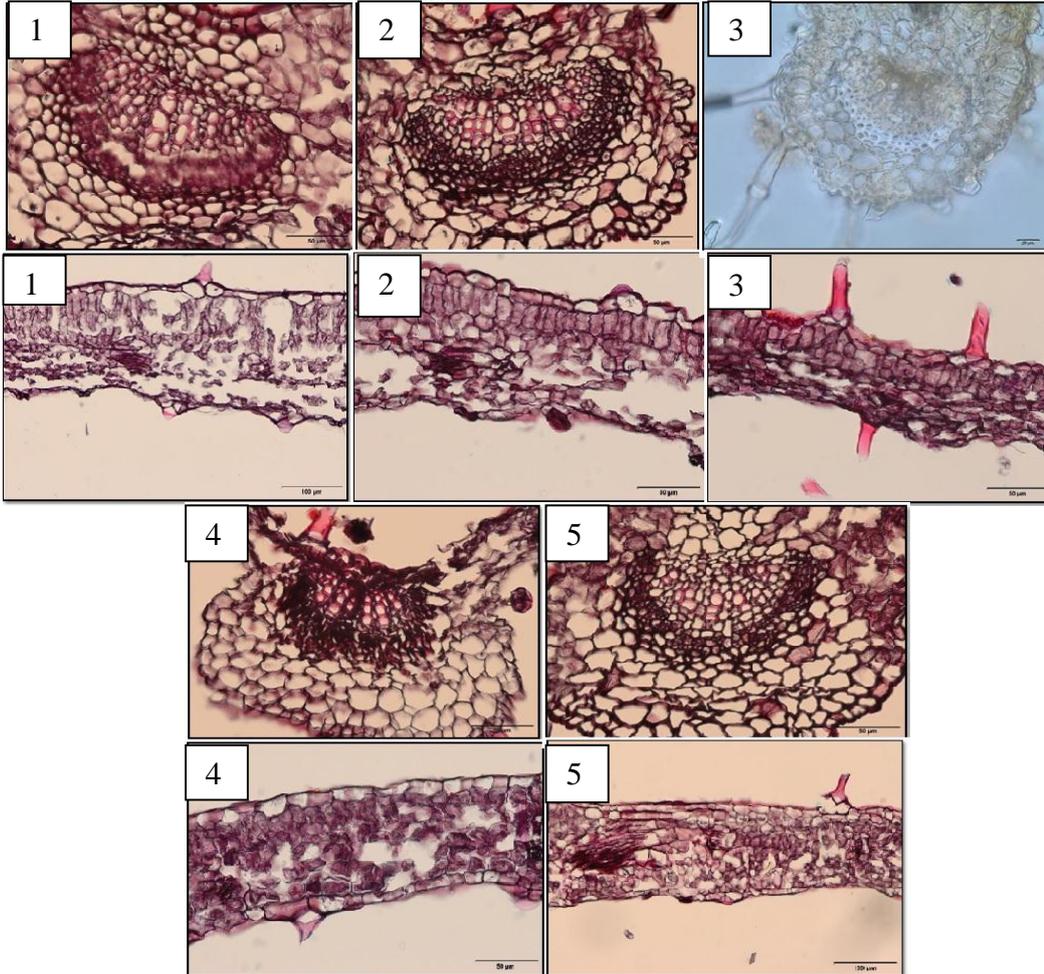
TARTIŞMA ve SONUÇ

Araştırma sonucuna göre; genel anlamda taksonların anatomik ve mikromorfolojik yapıları birbirlerine yakın özellik göstermekte olup bunun yanında ayırt edici bazı farklılıklar da tespit edilmiştir. Bununla birlikte, *S. bombycina* ve *S. pseudobombycina* taksonları arasında anlamlı farklılıklar bulunmamıştır.



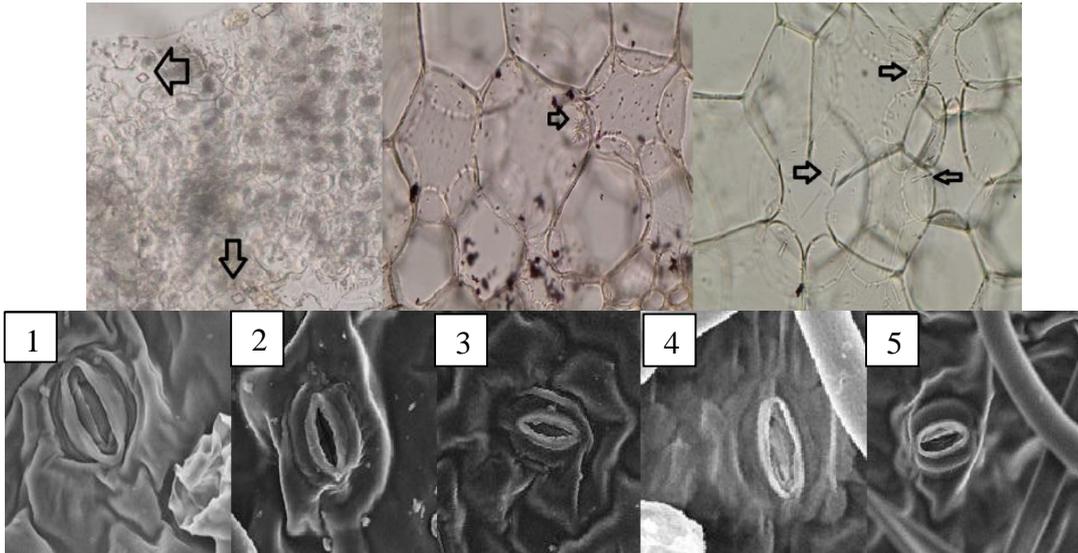
Şekil 2. Taksonların gövde ve yapraklarında bulunan tüy tipleri (C1-C2: Kapitlat tip salgı tüyü, N: Örtü tüyü)

Figure 2. Types of trichome in the stem and leaves of taxa (C1-C2: capitulate type glandular trichome, N: nonglandular trichome)



Şekil 3. Taksonların yaprak orta damar ve mezofil anatomik görüntüleri 1- *S. aleurites* 2- *S. bombycina* 3- *S. pseudobombycina* 4- *S. distans* subsp. *cilicica* 5- *S. distans* subsp. *distans*

Figure 3. Leaf midrib and mesophyll anatomy of taxa



Şekil 4. Taksonların stoma yüzeyel ve kristal (oklar çeşitli tipte kristalleri göstermektedir) görüntüleri. 1- *S. aleurites* 2- *S. bombycina* 3- *S. pseudobombycina* 4- *S. distans* subsp. *cilicica* 5- *S. distans* subsp. *distans*
Figure 4. Stoma and crystal (arrows indicate various types of crystals) images of taxa

Gövde Anatomik Yapılarında Görülen Farklılıklar

Distantes altseksiyonu taksonlarında; gövde dört köşeli olup köşelerdeki iletim demetleri daha fazla gelişmiştir. Taksonların gövde epidermis genişliği en yüksek olan *S. aleurites* (17.90 μm) ve en düşük olan *S. distans* subsp. *cilicica*'dır (13.74 μm). Taksonların hiçbirinde hipodermis tabakasına rastlanmamıştır. Taksonların hepsinde kollenkima tipi lakünardır. Gövde köşelerinde kollenkima tabakası en dar olan (71.57 μm) ise *S. aleurites*'dir. Taksonlar arasında gövde köşelerindeki kollenkima tabakası en kalın *S. distans* subsp. *distans* (88.9 μm) ve *S. bombycina*'da görülmüştür (87.5 μm). Altseksiyonda en fazla köşeler arası parankima dokusuna sahip olan takson ise yaklaşık 200 μm ile *S. pseudobombycina*'dır, onu 102.47 μm ile *S. distans* subsp. *distans* takip etmektedir. Ksilem bölgesinde trake çapları 16.77-33.64 μm arasında değişmektedir. *S. pseudobombycina* (29.78 μm) hem de *S. distans* subsp. *distans* (33.64 μm)'daki gövde trake çapları diğer taksonlara nazaran daha geniştir. *S. aleurites*, *S. bombycina* ve *S. distans* subsp. *cilicica* taksonlarında gövdesindeki öz bölgesi oldukça geniş olup, tüm gövdenin %50'inden fazla yer kaplamaktadır. Gövde öz oranı en düşük *S. pseudobombycina*'da (%39) ölçülmüştür.

Yaprak Anatomik Yapılarında Görülen Farklılıklar

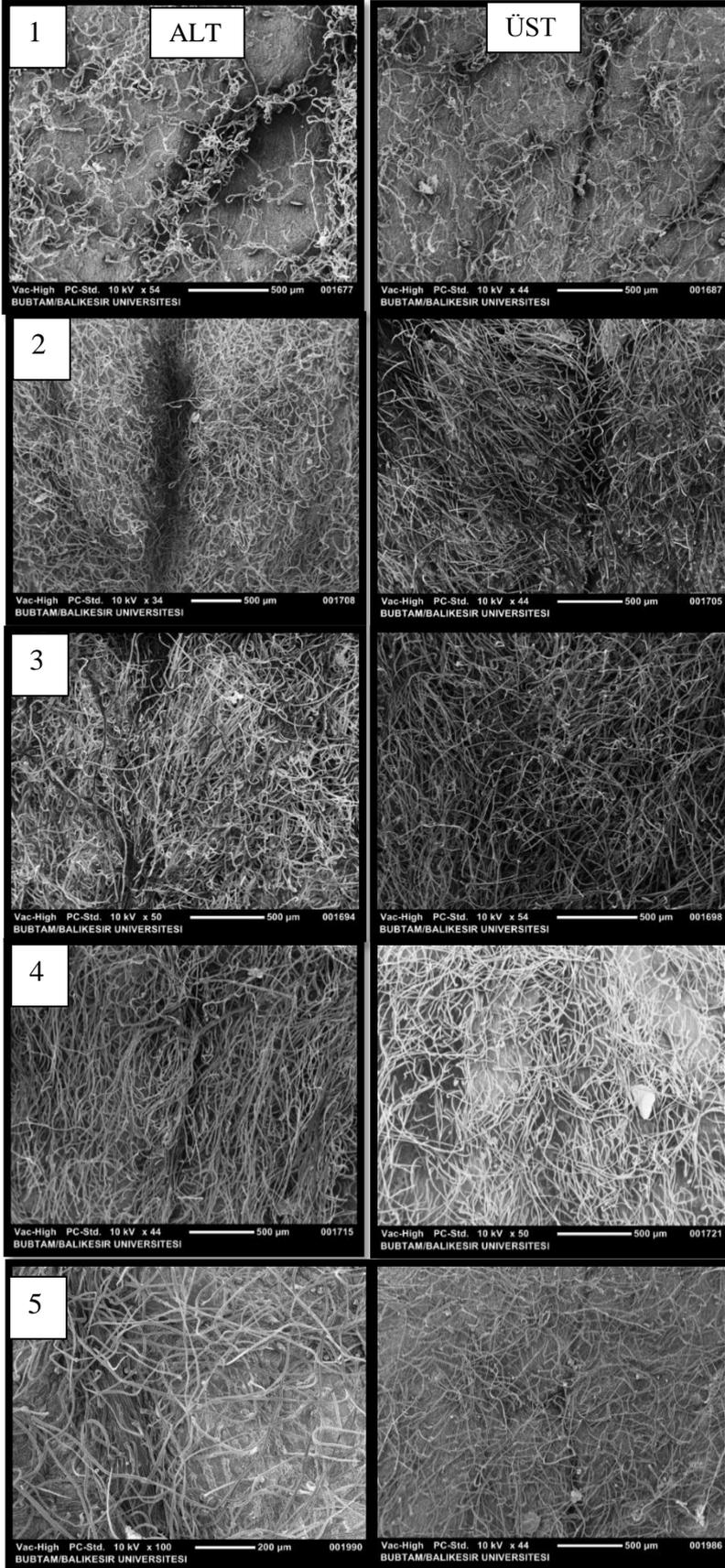
Taksonların yaprak kütikula kalınlığı en geniş olan *S. distans* subsp. *cilicica* (1.60 μm) iken en dar olanı *S. pseudobombycina*'dır (1.10 μm). Taksonlardan *S. aleurites* taksonu amfistomatik diğer bütün taksonlar ise hipostomatik olmasıyla birbirlerinden farklı özellik göstermişleridir. Stoma durumu higromorf ve mezomorf şeklinde olup stoma şekli darca eliptikten

eliptike kadar değişmektedir. Ayrıca taksonların stoma yüzey yapıları birbirlerinden farklılık göstermektedir. *S. aleurites* ve *S. distans* subsp. *cilicica* çizgili yapıda iken diğer taksonlar düz desen göstermektedir. Mezofili en geniş *S. aleurites* (139.31 μm) ve *S. distans* subsp. *distans* (124.82 μm) iken en dar mezofil *S. bombycina* (86.55 μm) ve *S. pseudobombycina*'da (68.69 μm) görülmüştür. Taksonlardan en fazla palizat parankiması hücre sayısı *S. distans* subsp. *distans* ve *S. aleurites*'te (2-3 sıra pp) görülmüşken en az sıra ise *S. bombycina* ve *S. pseudobombycina*'da (1-2 sıra pp) görülmüştür. Bunun yanında sünger parankimasında ise en fazla sıra yine *S. distans* subsp. *distans* ve *S. aleurites*'te (4-5 sıra sp) görülmüş olmakla beraber diğer taksonlar benzer özellik göstermiştir. Bunun yanında iletim demeti en geniş *S. distans* subsp. *distans* (182.52 μm) en dar ise *S. distans* subsp. *cilicica* (95.31 μm)'da ölçülmüştür. *S. aleurites* (6.26 μm) ve *S. bombycina*'da (6.25 μm) yaprak trake çaplarının diğer taksonlardan daha büyük olması ile ayrılmaktadır.

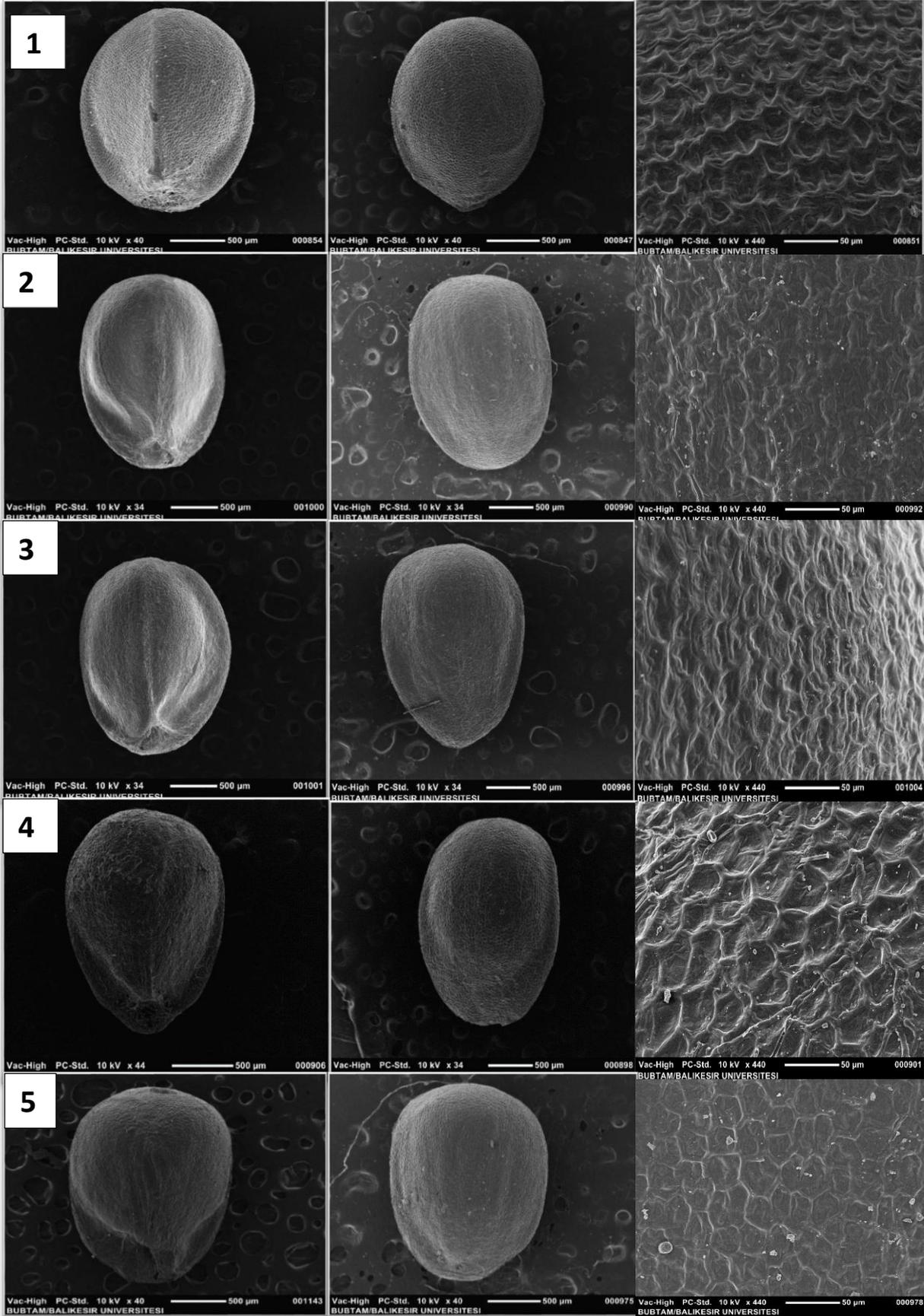
Kristal Tiplerinde Görülen Farklılıklar

Taksonların gövde ve yaprak yapılarında birtakım kristal tiplerine rastlanmıştır. Genel anlamda altseksiyonda rafit, tekli çubuk, ikiz tip, üçlü tip, kare, prizmatik ve druz tipi kristallere rastlanmıştır.

Özellikle *S. aleurites* türünde bu özellik daha belirgindir. Druz tipi sadece *S. bombycina*'da gözlenmiştir, *S. pseudobombycina*'da ise epidermiste prizmatik kristallere daha sık rastlanmıştır, *S. aleurites*'da yoğun rafit kristalleri görülmüştür. *S. distans* diğerlerine nazaran daha az miktarda ve daha az çeşitte kristal barındırmaktadır.



Şekil 5. Taksonların yaprak tüyleri alt ve üst yüzeysel mikromorfolojik görüntüleri. 1- *S. aleurites* 2- *S. bombycina* 3- *S. pseudobombycina* 4- *S. distans* subsp *cilicica* 5- *S. distans* subsp *distans*.
 Figure 5. Lower and upper leaves surface of taxa

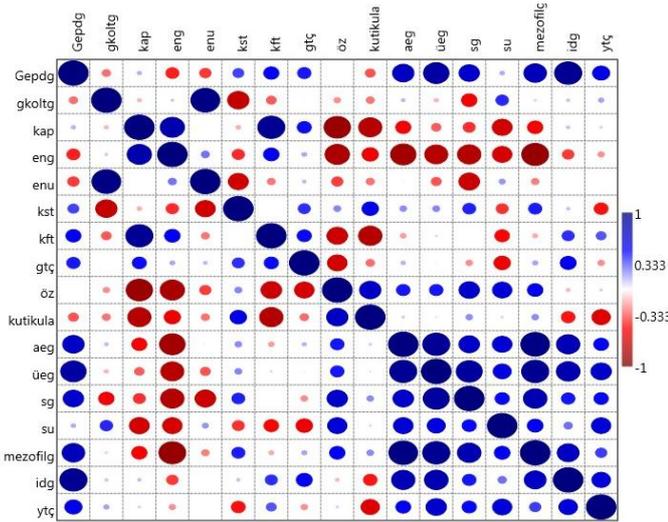


Şekil 6. Taksonların nutlet yapıları. 1- *S. aleurites*, 2- *S. bombycina*, 3- *S. pseudobombycina*, 4- *S. distans* var. *cilicica*, 5- *S. distans* var. *distans*.

Figure 6. Nutlet structures of taxa

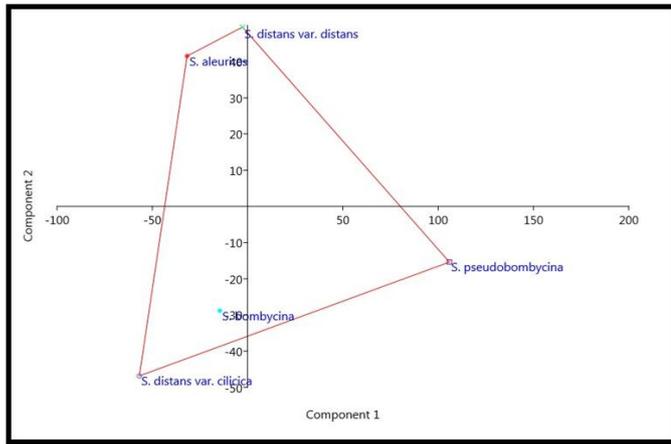
Çizelge 1. Nutlet özelliklerinin Flora of Turkey ve çalışma verileri ile karşılaştırılması
 Table 7. Comparison of nutlet characteristics with Flora of Turkey and our study data

Taksonlar (Taxa)	Ebat (Genişlik x Uzunluk mm) (Dimension (WidthxLength mm))		Şekil (Shape)		Yüzey ornamentasyonu (Surface ornamentation)	Apeks-Taban (Apex-Base)		Kanat (Wing)		Renk (Color)	
	Flora of Turkey	Çalışma sonucu (Study results)	Flora of Turkey	Çalışma sonucu (Study results)		Flora of Turkey	Çalışma sonucu (Study results)	Flora of Turkey	Çalışma sonucu (Study results)	Flora of Turkey	Çalışma sonucu (Study results)
<i>S. aleurites</i>	2-2.5	1.3-1.6 x 1.8-2.0	Obovoid	Eliptik-ters yumurtamsı (Elliptic-obovoid)	Ağsı (Reticulate)	-	Yuvarlak-Yuvarlak (Rounded-Rounded)	-	Yok (Absent)	-	Koyu kahverengi (Dark brown)
<i>S. bombycina</i>	2-2.5	1.5-1.6 x 2.1-2.2	Obovoid	Eliptik-ters yumurtamsı (Elliptic-obovoid)	Dalgalı-hüresel (Undulate-reticulate)	-	Kesik-Yuvarlak (Truncate-Rounded)	-	Yok (Absent)	-	Koyu kahverengi (Dark brown)
<i>S. pseudobombycina</i>	-	1.4-1.9 x 2.0-2.5	-	Eliptik-ters yumurtamsı (Elliptic-obovoid)	Dalgalı-hüresel (Undulate-reticulate)	-	Kesik-Yuvarlak (Truncate-Rounded)	-	Yok (Absent)	-	Koyu kahverengi (Dark brown)
<i>S. distans</i> var. <i>cilicica</i>	1.8 x 1	1.3-1.6 x 1.8-2.3	Obovoid	Eliptik-ters yumurtamsı (Elliptic-obovoid)	Ağsı-hüresel (Reticulate-cellular)	-	Yuvarlak-Obtus (Rounded-Obtuse)	-	Yok (Absent)	-	Koyu kahverengi (Dark brown)
<i>S. distans</i> var. <i>distans</i>	-	1.3-1.5 x 2.1	-	Eliptik-ters yumurtamsı (Elliptic-obovoid)	Ağsı-hüresel (Reticulate-cellular)	-	Yuvarlak-Obtus (Rounded-Obtuse)	-	± (Sadece taban) (Only base)	-	Koyu kahverengi (Dark brown)



Şekil 7. Taksonların anatomik niceliksel karakterler arası korelasyon analizi

Figure 7. Correlation analysis according to anatomical quantitative characters of taxa



Şekil 8. *Distantes* altseksiyonu anatomik niceliksel karakterler PCA dağılım grafiği

Figure 8. PCA scatter plot according to anatomical quantitative characters

Çizelge 1. *Distantes* altseksiyonu anatomik niceliksel karakterler PCA özdeğerleri

Table 8. PCA eigenvalues according to anatomical quantitative characters

PC (Bileşenler) PC (Components)	Özdeğer (Eigenvalues)	% Varyans (% Variance)
1	3916.5	65.557
2	1860.82	31.148
3	149.183	2.4971
4	47.6802	0.7981

Tüy Yapılarında Görülen Farklılıklar

Taksonların gövde örtü tüy tipleri birbirine benzer olup oldukça yoğun bir tüy örtüsüne sahiptir. Salgı tüy tiplerinde de birtakım benzerlikler ve farklılıklar görülmüştür. Taksonlar arasında tüy tiplerinde benzerlik olmasına rağmen tüy tiplerinin taksonlar arasında dağılım yoğunluğunda farklılıklar

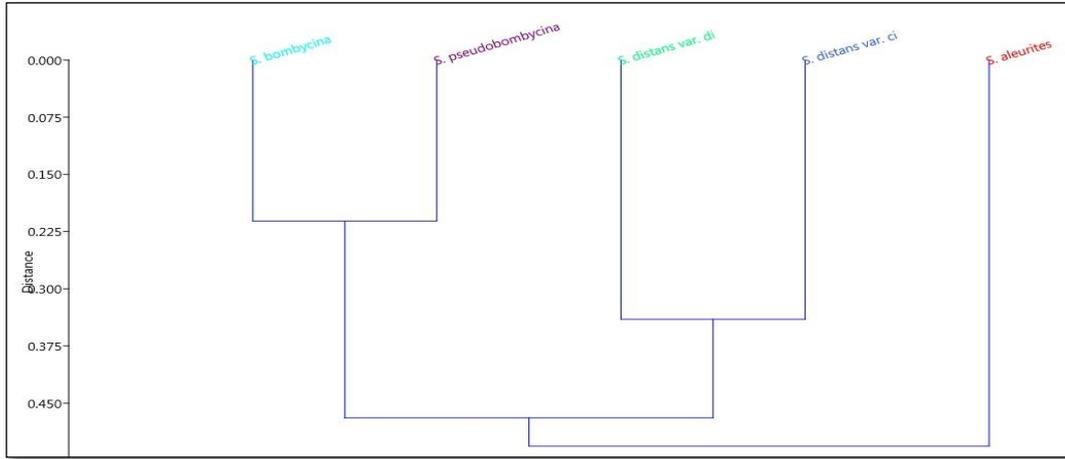
görülmüştür. C1 tip kapitat salgı; *S. bombycina* ve *S. pseudobombycina*' da gövde yapılarında görülmezken yaprak yapılarında görülmüştür. Ancak diğer taksonların hem gövde hem de yaprak yapılarında C1 tip tüy bulunmaktadır. C2 tip ise *S. aleurites* türünde rastlanmazken diğer taksonlarda tespit edilmiştir. C2 tip taksonlar arasında en az *S. distans* var. *cilicica*' da rastlanmıştır. Taksonların hiçbirinde peltat tüy tipine rastlanmamıştır.

Nutlet Yapılarında Görülen Farklılıklar

Çalışılan bütün taksonların nutletleri koyu kahverengi olup yine bütün taksonlarda karın kısmı iki kenarda düzleşmiştir. Hiçbirinde tüberkül yapısı görülmemiştir. *S. aleurites*' in yüzey ornamentasyonu ağısı olup, *S. distans* taksonlarında ağısı hücreli yapı göstermektedir. *S. bombycina*' da ise ağısı özellik görülmeyip hücreli yapı dalgalı özellik göstermektedir. Nutlet apeks kısmı sadece *S. bombycina* ve *S. pseudobombycina*' da kesik (trunkat) şekildeken diğerlerinde yuvarlak şekildedir. Ayrıca nutlet taban kısmı *S. distans* taksonlarında obtus şekilde iken diğer *Distantes* taksonlarında yuvarlak şekildedir. *Distantes* altseksiyonu taksonlarında sadece *S. distans* subsp. *distans*' ta kanat yapısı görülmüş olup ancak bu kanat yapısı belli belirsiz sadece taban bölgesinde yer almaktadır. Nutlet karın yapısı bütün taksonlarda çatı yapılı olup *S. aleurites*' te bu çatı yapısı belirgin bir şekildedir. *S. bombycina* ve *S. pseudobombycina* ve *S. distans* subsp. *cilicica*' da çatı yapısı belirsiz çıkıntılı iken *S. distans* subsp. *distans*' ta çıkıntı kısmı daha belirgindir.

İstatistiksel Analiz Sonuçları

Yapılan istatistiksel analizlere göre; anatomik niceliksel karakterler arasındaki korelasyon Şekil 7' de gösterildiği gibidir. Buna göre mezofil genişledikçe stoma genişliğinin de arttığı, gövde sklerenkima tabakası genişledikçe yaprak kutikulanın da genişlediği, gövde endodermis genişliği arttıkça mezofilin yaprak epidermisin ve stoma genişliğinin ise azaldığı görülmektedir. Anatomik niceliksel karakterlerin ölçümlerine göre yapılan PCA' da (Temel bileşenler analizi) taksonların anatomik verileri değerlendirilmiştir. Buna göre taksonlar arası varyasyonun önemli bir kısmını 1. bileşen %65.557 ve 2. bileşen %31.148' ini açıklamıştır. Böylece bu ilk 2 bileşen varyasyonun %96.705' ini açıklarken geri kalan 2 bileşen ise sadece %3.295' ini açıklamaktadır (Çizelge 8). Anatomik niceliksel karakterlerin analiz edilmesi ile elde edilen PCA sonuçlarına göre taksonların formasyonu Şekil 8' deki gibidir. Ayrıca taksonlar arasındaki varyasyonu açıklayan en önemli karakterler; köşelerarası parankima genişliği, mezofil genişliği, öz bölgesi genişliği, iletim demeti genişliği ve yaprak üst epidermis genişliği olduğu görülmüştür.



Şekil 9. *Distantes* altseksiyonu tüm anatomik ve mikromorfolojik karakterler Gower indeksi kümeleme analizi
Figure 9. Cluster analysis according to all anatomical and micromorphological characters

Yani bu karakterler *Distantes* altseksiyonundaki varyasyonu en iyi tanımlayan anatomik niceliksel karakterlerdir.

Daha sonra bütün karakterler bir arada kullanılarak kümeleme (cluster) analizi yapılmıştır. Bu analize göre UPGMA algoritması Gower indeksine göre taksonlar arasındaki dendrogram Şekil 9' daki gibidir. Buna göre bütün altseksiyon 3 kümede sınıflanmışlardır.

S. aleurites birinci küme, *S. distans* subsp. *cilicica* ve *S. distans* subsp. *distans* ikinci küme ve *S. bombycina* ile *S. pseudobombycina* üçüncü küme olarak görülmektedir. Bu sınıflamaya göre birbirlerine en yakın taksonlar *S. bombycina* ve *S. pseudobombycina* olarak görülmüştür. *S. aleurites* ise diğer taksonlara en uzak olan taksondur. Ayrıca taksonların kümelenmesi sadece anatomik niceliksel karakterlere göre yapılan kümelemeden farklı çıkmıştır. Ancak niceliksel ve mikromorfolojik verilerle beraber yapılan kümeleme morfolojik sınıflamaya benzer özellikte görülmüştür.

Bhattacharjee (1980) *Distantes* altseksiyonunun bulunduğu *Olisia* seksiyonu hakkında kseromorfik bir seksiyon olduğunu söylemektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada *Distantes* altseksiyonu taksonları çoğunluğu hipostomatik oluşu, floemi saran sklerankimatik şapka yapısı, yoğun tüy örtüsü, yaprak trake çapı, stoma gibi karakterlerin küçük ölçüde özellik göstermesi ve epidermis hücrelerinin antiklinal duvarlarının kıvrımlı olması kseromorfik özellik gösterdiğini doğrulamaktadır. Salmaki ve ark. (2011) bazı *Stachys* türlerinde floemi saran sklerankimatik bir şapka yapısı olduğunu belirtmiştir. Çalışma neticesinde bütün *Distantes* taksonlarında bu sklerankimatik şapka yapısı gözlenmiş olup yarım ay şeklindedir. Potoğlu ve arkadaşları (2010) ise, *Olisia* seksiyonuna ait diğer bir takson olan *S. iberica* subsp. *iberica* var. *densipilosa*'nın mezofil tipinin ekvifasiyal, stoma tipinin ise anizositik olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise bütün türlerimiz bifasiyal

tipinde mezofil özelliği göstermekte olup stomaları ise diastik tipe düzenlenmiştir. Giuliani ve ark. (2012), *Stachys* cinsinin *Betonica* ve *Stachys* altcinslerinden farklı tiplerde salgı tüyleri tanımlamışlardır. Yaptıkları çalışmada *Olisia* seksiyonuna ait *S. annua* subsp. *annua*' da peltat tip salgı tüyüne rastlamışlardır. Ancak yaptığımız çalışmada *Distantes* altseksiyonu taksonlarının hiçbirinde peltat tip (Labiatae tipi) salgı tüyüne rastlanmamıştır. Salmaki ve ark. (2008) İran' da yayılış gösteren *Olisia* seksiyonuna ait *S. iberica* nutletlerinin ağsı yüzeye ve dar kanat yapısına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Elde ettiğimiz bulgulara göre ise *Distantes* altseksiyonu taksonlarından sadece *S. distans* subsp. *distans* taksonunda tabana yakın bölgede darca kanat yapısına rastlanmasının yanında bütün altseksiyonun nutlet yüzeyi ağsı bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. Bunun yanında Lamiaceae familyasının diğer familyaların aksine nutlet özelliklerinin özellikle yakından ilişkili türlerde bile yüksek varyasyon göstermesi sebebiyle düşük filogenetik değere sahip olduğu belirtilmiştir (Salmaki ve ark. 2008, Satıl ve ark. 2012). Çalışılan taksonlarda sonuçlar, bu çıkarımla benzer nitelikte olup altseksiyonun genelindeki ortak özelliklerden ziyade, taksonların ayırımında nutlet mikromorfolojik özelliklerin türleri ve tür altı taksonları ayırmada kullanışlı ve faydalı karakterler olduğu görülmüştür. Ayrıca *S. pseudobombycina* türü betimlenirken sadece morfolojik veriler kullanılmıştır (Yılmaz ve ark. 2010). Akçiçek ve Güner (2015) *S. pseudobombycina* türünün *S. bombycina*'nın sinonimi olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada *S. bombycina* ve *S. pseudobombycina* türleri arasında sadece anatomik niceliksel karakterlerinde, özellikle gövde köşeler arası parankima tabakası kalınlığı gibi farklılıklar görülmüştür. Bunun yanında tüy örtüsünde tüy tiplerinin gövde ve yaprak gibi buldukları yerlerdeki dağılımında farklılıklar görülmüş olup

diğer anatomik ve mikromorfolojik özelliklerinin benzer olduğu görülmüştür. Bu sebeple genel anlamda bu iki tür birbiriyle çok benzer olduğu görülmüştür.

Bu çalışma ile *Distantes* altseksiyonu taksonlarının ilk defa anatomik ve mikromorfolojik yönden incelenmesi yapılmıştır.

TEŞEKKÜR

SEM çalışmalarının yürütüldüğü Balıkesir Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi' ne ve doktora tezinden üretilen 2015/122 no' lu projemizi destekleyen BAP birimine teşekkür ederiz. Ayrıca bitki materyali temininde desteklerini gördüğümüz Prof. Dr. Tuncay Dirmenci ve Dr. Özal Güner'e de teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKÇA

- Akçiçek E, Fırat M, Güner Ö 2016. *Stachys hakkariensis* (Lamiaceae), a new species from eastern Anatolia (Turkey) belonging to *Stachys* sect. *Olisia*. *Phytotaxa* 257(2): 167-173.
- Akçiçek E, Güner Ö 2015. Türkiye' de Yetişen *Stachys* (Lamiaceae) Cinsine Ait *Olisia* Seksiyonun Endemik ve Nadir Bitkileri. 1. Ulusal Bitki Biyolojisi Kongresi, 2-4 Eylül, Bolu.
- Ascensão L, Pais MS 1998. The Leaf Capitulum Trichomes of *Leonotis leonurus*: Histochemistry, Ultrastructure and Secretion. *Annals of Botany*, 81: 263-271.
- Baytop A 1972. Bitkisel Drogaların Anatomik Yapısı. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No. 829. İstanbul.
- Bhattacharjee R 1980. Taxonomic studies in *Stachys* II: A new infrageneric classification of *Stachys* L.. Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh, 38: 65-96.
- Bojňanský V, Fargašová A 2007. Atlas of seeds and fruits of central and east-European Flora. Springer.
- Budantsev AL, Lobova TA 1997. Fruit morphology, anatomy and taxonomy of Tribe Nepeteae (Labiatae). *Edinburgh J Bot* 54: 183-216.
- Cantino PD 1990. The Phylogenetic Significance of Stomata and Trichomes in the Labiatae and Verbenaceae. *Journal of the Arnold Arboretum*, 71: 323-370.
- Chase M 2018. Vascular Plant Families and Genera: List of Genera in Lamiaceae [online] <http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/genera/lamiaceagen.html> (Erişim tarihi: 14.06.2018).
- Demissew S, Harley MM 1992. Trichome, seed surface and pollen characters in *Stachys* (Lamiaceae: Labiatae) in Tropical Africa. In: Harley RM and Reynolds T, (eds), *Advances in Labiatae science*, pp. 149-166. Kew: Royal Botanic Gardens.
- Dinç M, Öztürk M 2008. Comparative Morphological, Anatomical, and Palynological Studies on the Genus *Stachys* L. sect. *Ambleia* Benth (Lamiaceae) Species in Turkey, *Turkish Journal of Botany*, 32: 113-121.
- Giuliani C, Bini LM 2008. Insight into the structure and chemistry of glandular trichomes of Labiatae, with emphasis on subfamily Lamiaceae. *Plant systematics and evolution*, 276(3-4): 199-208.
- Govaerts R 2003. World Checklist of Selected Plant Families Database in ACCESS: 1-216203. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew (Erişim tarihi: 22 Ekim 2015).
- Giuliani C, Bini LM 2012. Glandular trichomes as further differential characters between *Stachys* subgenus *Betonica* (L.) Bhattacharjee and *Stachys* subgenus *Stachys*, *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 146(1): 1-8.
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT (edlr) 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler), Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayınları, İstanbul.
- Hammer Q, Harper DAT, Ryan PD 2001. "Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis." *Palaeontologia Electronica* 4(1): 1-9.
- Harley RM, Atkins S, Budantsev A, Cantino PD, Conn BJ, Grayer R et al. 2004. Labiatae. In: Kadereit JW (ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants*, Berlin: Springer. 7: 167-275.
- Johansen DA 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Co., New York.
- Husain SZ, Marin PD, Silic C, Qaiser M, Petcovic B (1990). A micromorphological study of some representative genera in the tribe Saturejeae (Lamiaceae). *Bot J Linn Soc* 103: 59-80.
- Jamzad Z, Harley MM, Ingrouille M, Simmonds MSJ, Jalili A 2000. Pollen exine and nutlet surface morphology of the annual species of *Nepeta* L. (Lamiaceae) in Iran. - In: Harley MM, Morton GM, Blackmore S (eds.), *Pollen and Spores: Morphology and Biology*, pp. 385-397. Kew: Royal Botanic Gardens.
- Kaya A, Dirmenci T 2008. Nutlet surface micromorphology and taxonomy of species of the genus *Nepeta* L. (Lamiaceae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 32: 103-112.
- Marin PD, Duletic S, Petcovic B 1996. Nutlet ornamentation in selected *Salvia* L. species (Lamiaceae). *Flora Mediterranea* 6: 203-211.
- Metcalf CR, Chalk L 1972. *Anatomy of the Dicotyledons*, Oxford University Press, vol. 2. Oxford.
- Ozban N, Özmutlu Ö 1994. Mikropreparasyon Yöntemleri. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basımevi.
- Potoğlu Erkara İ, Koyuncu O, Ardiç M, Yaylacı ÖK 2010. Anatomy and Palynology of Endemic *Stachys iberica* Bieb subsp. *iberica* var. *densipilosa* Bhattacharjee Lamiaceae from Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 39(2): 131-136.

- Salmaki Y, Zarre S, Jamzad Z 2008. Nutlet micromorphology and its systematic implication in *Stachys* L. (Lamiaceae) in Iran. Feddes Reperit 119: 607–621.
- Salmaki Y, Zarre S, Jamzad Z, Bräuchler C 2009. Trichome Micromorphology of Iranian *Stachys* (Lamiaceae) with Emphasis on its Systematic Implication, Flora, 204: 371-381.
- Salmaki Y, Zarre S, Lindqvist C, Heubl G, Brauchler C 2011. Comparative leaf anatomy of *Stachys* (Lamiaceae: Lamioideae) in Iran with a discussion on its subgeneric classification, Plant Systematics and Evolution, 294: 109-125.
- Rasband WS 1997-2016. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>.
- Satıl F, Kaya A, Dirmenci T 2011. The Taxonomic Value of Leaf Anatomy and Trichome Morphology of the Genus *Cyclotrichium* (Lamiaceae) in Turkey. Nordic Journal of Botany, 29 (1): 38-48.
- Satıl F, Kaya A, Akçiçek E, Dirmenci T 2012. Nutlet micromorphology of Turkish *Stachys* sect. *Eriostomum* (Lamiaceae) and its systematic implications. Nordic Journal of Botany, 30: 352–364.
- Temel M, Kargioğlu M, Arı S 2015. *Stachys iberica* M. Bieb. subsp. *iberica* var. *iberica* ve *S. iberica* subsp. *stenostachya* (Boiss.) Rech. f. (Lamiaceae)'nın morfolojik, anatomik ve ekolojik özellikleri, Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi, 6(2): 58-69.
- Werker E, Ravid U, Putievsky E 1985. Structure of glandular hairs and identification of the main components of their secreted material in some species of the Labiatae. Israel Journal of Botany, 34: 31-45.
- Yılmaz Ö, Daşkın R, Kaynak G 2010. *Stachys pseudobombycina* sp. nov. (Lamiaceae) from south Anatolia. Nordic Journal of Botany 28: 341-343.

Şanlıurfa Yöresinde Doğal Yayılış Gösteren *Eminium* (Blume) Schott (Araceae Juss.) Cinsine Ait Taksonların Anatomik ve Morfolojik Yönden İncelenmesi

Cahit ÇEÇEN¹ , Hasan AKAN² , Mehmet Maruf BALOS³ 

Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Şanlıurfa

¹<https://orcid.org/0000-0001-6789-9397>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3033-4349>, ³<https://orcid.org/0000-0002-9590-5237>

✉: hakan@harran.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, Şanlıurfa'da doğal yayılış gösteren Araceae Juss. Familyasının *Eminium* (Blume) Schott cinsine ait türlerinin morfolojik ve anatomik özellikleri incelenmiştir. Şanlıurfa'da yapılan floristik çalışmada *Eminium intortum* (Banks & Sol.) Kuntze, *E. rauwolffii* (Blume) Schott ve *E. spiculatum* (Blume) Schott'un doğal yayılış gösterdiği tespit edilmiştir. Toplanan türler herbaryum standartlarına uygun olarak kurutulmuş ve morfolojik ölçümler yapılmıştır. Yapılan ölçümler 'Resimli Türkiye Florası' ve 'Flora of Turkey' ile karşılaştırılmıştır. Anatomik çalışmalar parafin yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Anatomik çalışmalarda el kesitleri de alınmıştır. Çalışılan taksonların kök, skapa ve yaprak anatomileri incelenmiştir. Bu çalışmada ele alınan skape anatomisinde; *E. spiculatum* ve *E. intortum*'da epidermisin altında belirli aralıklarla dizilmiş kollenkima hücre kümeleri gözlenmiştir. *E. rauwolffii*'de kollenkimatik hücre kümeleri gözlenmemiştir. Yaprak anatomisinde her üç türde de Epidermiste stoma hücreleri mezomorf ve amfistomatiktir. Stoma tipi anomositik ve parasitik stomadır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 26.02.2019

Kabul Tarihi : 22.08.2019

Anahtar Kelimeler

Araceae
Eminium
Anatomi
Morfoloji
Şanlıurfa

Anatomical and Morphological Aspects of The Taxa Belonging to *Eminium* (Blume) Schott (Araceae Juss.) Family, Which Shows Natural Distribution in Şanlıurfa Region

ABSTRACT

In this study, the morphological and anatomical features of the species of the genus *Eminium* (Blume) Schott belong to Araceae Juss family, were investigated. The floristic study conducted in Şanlıurfa showed that *Eminium intortum* (Banks & Sol.) Kuntze, *E. rauwolffii* (Blume) Schott and *E. spiculatum* (Blume) Schott have a natural distribution in the area.. The collected species were dried according to herbarium standards and morphological measurements were performed. These measurements compared to 'Illustrated Flora of Turkey 'and' Flora of Turkey. Anatomical studies were done by modifying the paraffin method. Hand sections were also taken in anatomical studies. The root, scape and leaf anatomies of the taxa were studied. Scapa and leaf anatomy of the *Eminium* genus were studied for the first time in this study. In this study, the scape anatomy discussed; in the *Eminium spiculatum* and *E. intortum*, collenchymal cell clusters were observed at regular intervals under the epidermis. Collenchymatic cell clusters have not been observed at *E. rauwolffii*. In all three species of leaf anatomy, stoma cells in the epidermis are mesomorphic and amphistomatic. Stoma type was anomocytic and parasitic stoma.

Research Article

Article History

Received : 26.02.2019

Accepted : 22.08.2019

Keywords

Araceae
Eminium
Anatomy
Morphology
Şanlıurfa

To Cite : Çeçen C, Akan H, Balos MM 2019. Şanlıurfa Yöresinde Doğal Yayılış Gösteren *Eminium* (Blume) Schott (Araceae Juss.) Cinsine Ait Taksonların Anatomik ve Morfolojik Yönden İncelenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22(Ek Sayı 2): 296-309. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.532511

GİRİŞ

Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) kitabına göre; Türkiye'de 167 familya, 1320 cins ve bu cinslere ait toplam 11707 takson bulunmaktadır.

Taksonlardan 3649'ü ülkemiz için endemiktir (Güner ve ark., 2012). Türk Botanikçilerinin yaptığı yoğun çalışmalar sonucu Türkiye Florası'nın 11. cildi (2.ek cilt) (Güner ve ark., 2000) hazırlanmıştır.

Araceae (Yılanıyastığıgiller) familyası 1789 yılında Fransız botanikçi Antoine Laurent de Jussieu tarafından bilim dünyasına tanıtılmıştır. Mayo ve arkadaşlarına göre (1997) Araceae familyası 105 cins ve 3300 tür içerir. Cinslerin yaklaşık %90'ı, türlerin ise yaklaşık %95'i tropikal alanda bulunur (Boyce ve Croat, 2011). Yılanıyastığıgiller familyası zehirli bitkiler içermektedir. Büyük çoğunluğu içmekan süs bitkileridir. Türkiye'de yayılış gösteren en önemli cinsleri, *Arum*, *Biarum* ve *Eminium*, *Dracunculus* Mill. ve *Arisarum* Mill. cinsleridir. Bu çalışmada *Eminium* cinsine ait türler araştırılmıştır. *Eminium* cinsi Anavatanı Türkiye, İran, Irak, İsrail, Mısır, Suriye, Afganistan, Tacikistan, Kazakistan, Özbekistan ve Türkistan'dır (Bown, 1988).

Türkiye Florası'na göre *Eminium* cinsi ülkemizde 5 taksonla temsil edilmekte (Davis, 1984) iken 1991 yılında *Eminium koenianum* Lobin & P.Boyce türünün bilim dünyasına tanıtılmasıyla bu sayı 6 takson'a çıkmıştır. Türkiye Bitkileri Listesi (Güner ve ark., 2012) kitabında *Eminium heterophyllum* (Blume) Schott türü Resimli Türkiye Florası'nda (Güner ve ark., 2018) *Eminium rauwolffii* (Blume) Schott var. *rauwolffii* (Blume) Schott taksonunun sinonimi yapılmıştır. Son yapılan revizyon çalışmasıyla *Eminium* cinsinin ülkemizdeki takson sayısı 5 olmuştur. Dünyada ise 7 takson ile temsil edilmektedir (Lobin & Boyce, 1991; Güner ve ark., 2018). Ülkemizde doğal yayılış gösteren *Eminium* cinsine ait taksonlar; *Eminium spiculatum* (Blume) Schott var. *spiculatum*, *E. intortum* (Banks & Sol) O.Kuntze, *E. rauwolffii* (Blume) Schott var. *rauwolffii* (Blume) Schott, *E. rauwolffii* (Blume) Schott var. *kotschy* (Schott) H.Riedl ve *E. koenianum* Lobin ve P.C.Boyce'dir.

Türkiye'de doğal yayılış gösteren *Eminium* türleri yörede kârdi, kâri, zilike ereba, asalan, kurt kulağı, fise pire isimleriyle bilinir (Alpınar, 1987; Akan ve ark., 2008; Akan ve ark., 2013).

Eminium ile ilgili yapılmış olan önceki çalışmalar arasında; Riedl (1980), Davis (1984), Lobin ve Boyce (1991), Mayo ve ark. (1997), Zharylgasina (2010), Tıraş (2011), Afifi ve ark. (2012) ve Akan ve ark. (2013) gösterilebilir.

Bu çalışma Türkiye'nin Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan Şanlıurfa yöresinde doğal yayılış gösteren *Eminium* taksonlarının anatomik ve morfolojik yönden incelenmesini kapsamaktadır. Bu çalışmanın ileride yapılacak daha kapsamlı *Eminium* cinsi ile alakalı çalışmalara katkıda bulunacağını ümit edilmektedir.

MATERYAL ve METOT

Morfolojik Yöntem

Şanlıurfa yöresinde doğal yayılış gösteren Araceae familyasına ait *Eminium* cinslerine ait taksonları

2017-2018 vejetasyon dönemlerinde farklı lokalitelerden toplanmıştır. Araziden toplanan örneklerin yanı sıra Harran Herbaryumu (HARRAN) bünyesinde bulunan örnekler incelenmiştir.

Eminium için taksonomik değer taşıyan tanımlayıcı karakterler belirlenmiştir. Yumru şekli, bitki boyu, yaprak şekli, yaprak ayası uzunluğu-genişliği, yaprak damarlanma biçimi, yaprak sapı uzunluğu ve yüzey özellikleri, spatula şekli, rengi, boyutları, skapa uzunluğu durumu, spadiks uzunluğu, apendiks şekli, uzunluğu ve rengi, erkek zon uzunluğu, steril zon uzunluğu, dişi zon uzunluğu taksonlar arasında farklılık gösteren taksonomik öneme sahip karakterlerdir. Bu karakterlerin incelenen her bir örnek için aldığı değerler not edilerek taksonların genel deskripsiyonları ortaya çıkarılmıştır. Türlerin betimlemeleri Yıldırım H., (2018) baz alınarak düzenlenmiştir.

Anatomik Yöntem

Anatomik çalışmalarda çeşitli parafin yöntemleri modifiye edilerek kullanılmıştır (Johansen, 1940; Ozban ve Özmutlu, 1991). Bu yöntemler örneklerin kök, gövde ve yaprak kesitlerinin alınmasını, alınan kesitlerin standart yöntemlerle boyanması ve kalıcı preparatların hazırlanmasını içermektedir. Anatomik çalışmalarda el kesitinden de yararlanılmıştır. El kesitlerinde ikili boyama yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem el kesitlerinde kullanılabilmesi ve renk farkıyla dokuları net bir şekilde ayırt etmesi bakımından pratiklik ve kesinlik sağlamaktadır. Bu yöntemde, safranin ve fast-green boyalarının belirli oranlarda karışımından oluşan ikili boya, hem monokotil hem de dikotil bitki örneklerinde kullanılabilmekte ve uzun süre oda sıcaklığında bozulmadan saklanabilmektedir (Bozdağ ve ark., 2016). Anatomik kesitler Leica marka mikrotom ile alınmış preparatların ölçümü ve fotoğraflandırılması ise Leica CMS GmbH ışık mikroskobu ve Leica kamera yardımı ile yapılmıştır.

BULGULARI ve TARTIŞMA

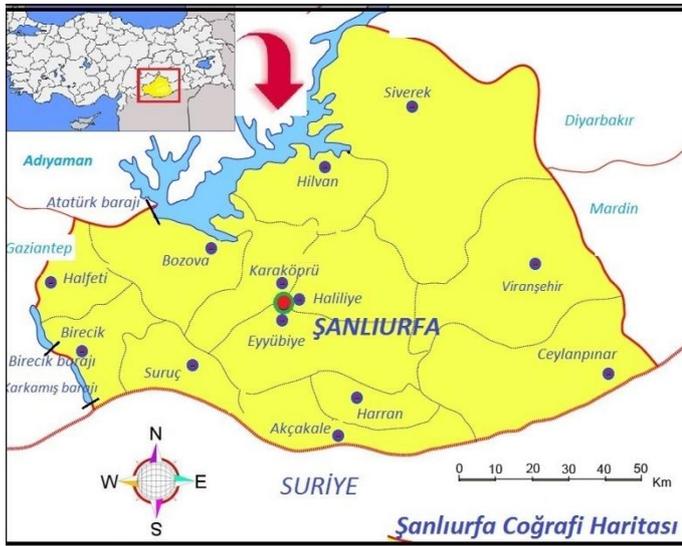
Araştırma Alanının Coğrafik Durumu

Araştırma alanı olan Şanlıurfa ili David grid sistemine göre C6, C7 ve C8 karesindedir (Davis 1965-1985). Şanlıurfa ili Güneydoğu Torosların orta kısmının güney etekleri üzerinde yer alır. Doğusunda Mardin, Batısında Gaziantep, Kuzeydoğusunda Diyarbakır, kuzeybatısında Adıyaman, Güneyinde ise Suriye yer alır. Ortalama yükselti 518 metredir. İlin en yüksek dağı Karacadağ (1938 m)'dir (Anonim, 2017). Araştırma alanı haritası Şekil 1'de verilmiştir.

Şanlıurfa'da yayılış gösteren *Eminium* türlerinin morfolojik ve Anatomik özellikleri

1. *Eminium intortum* (Banks & Sol.) Kuntze (Şekil 2-6).

Yumrular küremsi, yaklaşık 2,1-4,5 cm çapında. Yapraklar 2-4 adet; yaprak sapı 6-25 cm boyunda, yaprak sapı tabanında mor benekli. Yaprak ayası 3 parçalı; orta lop geniş ya da dar mızraksıdır. Boyutları 6-12 cm boy, 2-3,5 cm enindedir. Yan loplar birkaç kez küçük loplara ayrılır, orta lobun 1/3'ü uzunluğundadır. Skapa 14-37 cm boyunda. Spata 9-16 cm boyunda, spata ayası 4-12 boyunda, 4-9 cm eninde, mızraksı-üçgensel, dik ya da içe doğru kıvrık; spata dış kısmı sarımsı yeşil renkte, yoğun koyu mor benekler ile kaplı. İç kısmı kadifemsi ve mor-menekşe renkte. Spata tüpü iç kısmı pembemsi fildişi renkte, dış kısmı çizgili bazen mor beneklidir. Spadiks 5-7,6 cm boyunda. Dişi çiçek bölgesi 9-16 mm boyunda. Steril bölge 3-3,5 cm boyunda. Pistilotlar 5-8 mm, beyazımsı-sarı. Erkek çiçek bölgesinin uzunluğu 7-8 mm. Apendaj 10-30 × 6-12 mm boyutlarında, konimsi, siyaha yakın yada koyu-kahverengi, pürüzsüz. Meyvelenme durumu küremsi, olgunlukta fildişi beyaz.



Şekil 1. Araştırma alanının haritası

Çiçeklenme Zamanı: Mart, Nisan

Yetiştirme Ortamı: Taşlık yamaçlar, tarla içi, yol kenarları

Yetiştirme Yükseltisi: 440-1600 m

Tehlike Kategorisi: LR (Lower Risk), az tehdit altında

Endemizm Durumu ve Yayılışı: Endemik değil. Türkiye, Suriye

C7 Şanlıurfa: Siverek karacadağ etekleri, tarla kenarı, 1558 m, 37° 46' 3" K, 39° 47' 54" D. 24.03.2018, Çeçen 1009; ibid., Göbekli tepe, taşlık step, 737 m, 37° 13' 2" K, 38° 54' 52" D., 25.03. 2018, Çeçen 1010; ibid., Karaköprü, step, 660 m, 11.04.2015, M. Balos 2000 (Harran Ü. Herb.); İbid., Karaköprü, açık yamaçlar, 642 m, 37° 13' 52" K, 38° 47' 4" D. 23.03.2018, Çeçen 1011; İbid., Harran Üniv. Osmanbey kampüsü, 04.04.2018, gözlem!, İbid., Akçakale yolu yardımcı yol ayrımı 1. km, 07.04. 2018, gözlem!.

Eminium intortum'un anatomik özellikleri

Kök anatomisi

En dışta kökün dış yüzeyinde tek sıralı epidermis hücreleri bulunmaktadır. Epiderminin üzerinde ince bir kutikula tabakası vardır. Epiderminin altında 2-3 sıralı ekzoderma yer alır. Korteks tabakası 6-7 tabakalıdır, endodermisin korteks tarafına bakan çeperleri kalınlaşmıştır. Endodermisin altında tek sıra halinde ince duvarlı hücreler oluşturan periskl tabakası vardır. İletim demeti radyal tiptir. Kökün iletim demetlerini oluşturan ksilem kolları sayısı 6-7 dir, poliarktır. İletim demetlerinin orta bölgesinde 3 merkezi metaksilem vardır. Floem ise ksilem kolları arasında yer alır (Şekil 3).

Skapa anatomisi

Skapa'nın enine kesitinde dışta kutikula tabakası ayırt edilmektedir. Kutikula tabakasının altında belirgin tek sıralı, kübik ve dikdörtgen şekilli hücrelere sahip olan epidermis tabakası bulunur. Epidermis hücrelerinin bazı kısımlarında tek sıralı parankima hücreleri altında sklerenkima hücreleri yer alırken skapa boyunca sklerenkimanın olmadığı yerlerde ise epidermis altında hava boşlukları yer alır. Vasküler demetler dairesel bir düzende sıralıdır. Vasküler demetlerinde floem, ksileme göre daha geniş bir alan kaplar. Gövdenin merkezinde, hücreler arası boşlukları olmayan kalın çeperli çokgen şekilli parankima hücreleri öz bölgesini oluşturur (Şekil 4).

Yaprak anatomisi

Yaprak enine kesitinde her iki yüzeyinde ince kutikula tabakasıyla kaplıdır. Kutikula hemen altında tek sıralı epidermis tabakası yer alır. Alt ve üst epidermis tabakası benzer kalınlıktadır. Mezofil tabakasında 3-4 sıralı palizat parankiması ve sonrasında sünger parankiması 5-6 sıra halinde bulunur. Mezofilde hava boşlukları yer alır. Yaprakta yer yer rafit kristallerine de rastlanmaktadır. Yaprığın her iki yüzeyinde de stomalar yer alır. Stoma tipi anomositik ve parasitiktir (Şekil 5-6).

2. Eminium rauwolffii (Blume) Schott var. rauwolffii (Blume) Schott (Şekil 7-11)

Yumru küremsi, 2-5,5 cm çapında. Yaprak sapı 1-10 cm boyunda, benekli değildir. Yaprak ayası 3 loptan meydana gelir, orta lob ve iki yan loplu. Orta lob gelişmiş, 3-18x1-6 cm boyutlarında, üçgensel yada dikdörtgensel-mızraksı, yumurtamsı yada yuvarlak-dikdörtgensel, ucu küt veya sivri; yan loplar az gelişmiş. Skapa 5-25 cm boyunda. Spata 7-18 cm boyunda; spata ayası 4-11 x 2-5 cm boyutlarında, üçgensel yada eliptik-mızraksıdır. Duruşu dik veya uç kısımdan hafifçe geriye yatıktır. Dış yüzeyi yeşil, benek bulunmaz, iç yüzey koyu mor, kadifemsidir. Spata tüpü içte açık sarımsı, yeşil, dışta sarımsı-yeşil yada yeşil renklidir.

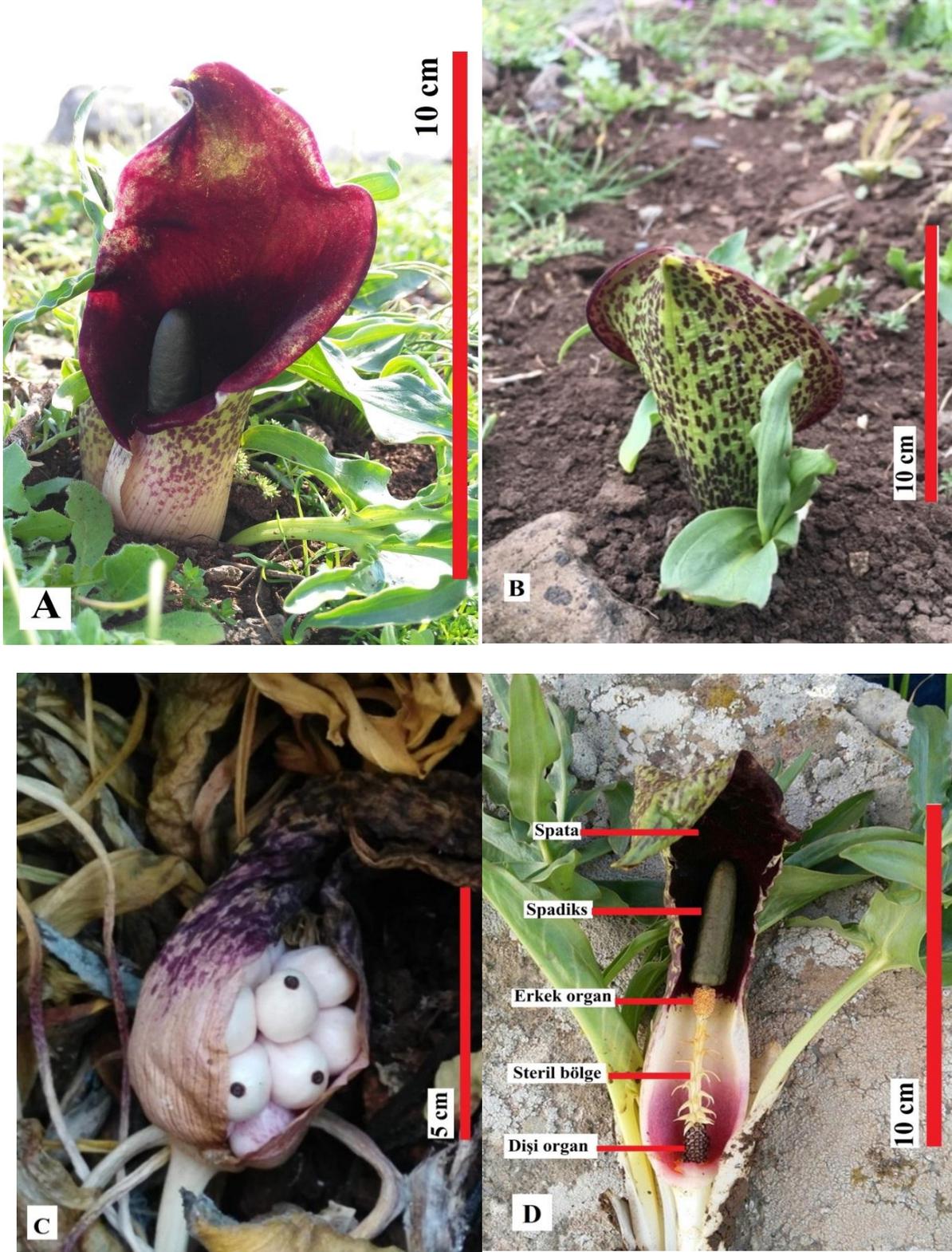
Spadiks 4-11 cm boyunda. Apendaj 12-47 x 4-8 mm boyutunda, silindirik veya hafif konimsi, siyahımsı-mor renkte; pürüzsüz. Dişi çiçek bölgesi 7-16 x 4-8 mm, steril bölge 16-28 mm boyunda, yukarı kıvrık mor yada hafif pembe mor. Erkek çiçek bölgesi 5-12 mm boyunda. Sitaminotlar beyaz veya fildişi renginde,

bazen tabanda mor rente, yukarı doğru kıvrıktır.

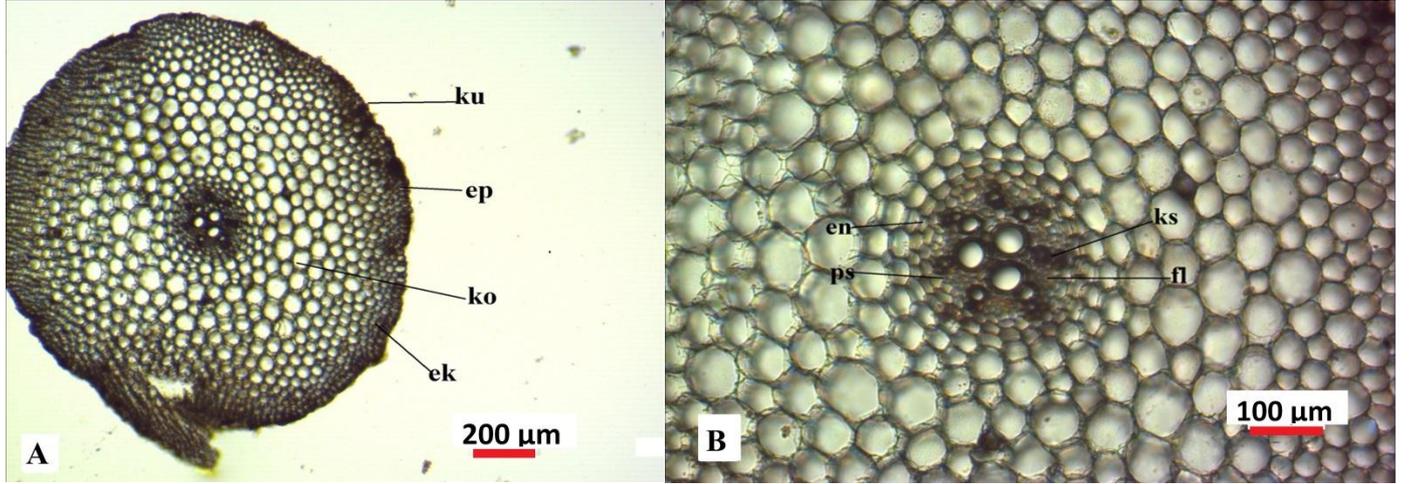
Çiçeklenme Zamanı: Mart, Nisan

Yetiştirme Ortamı: Ekilmemiş boş alanlar, taşlı yüksek tepeler, hububat tarlaları

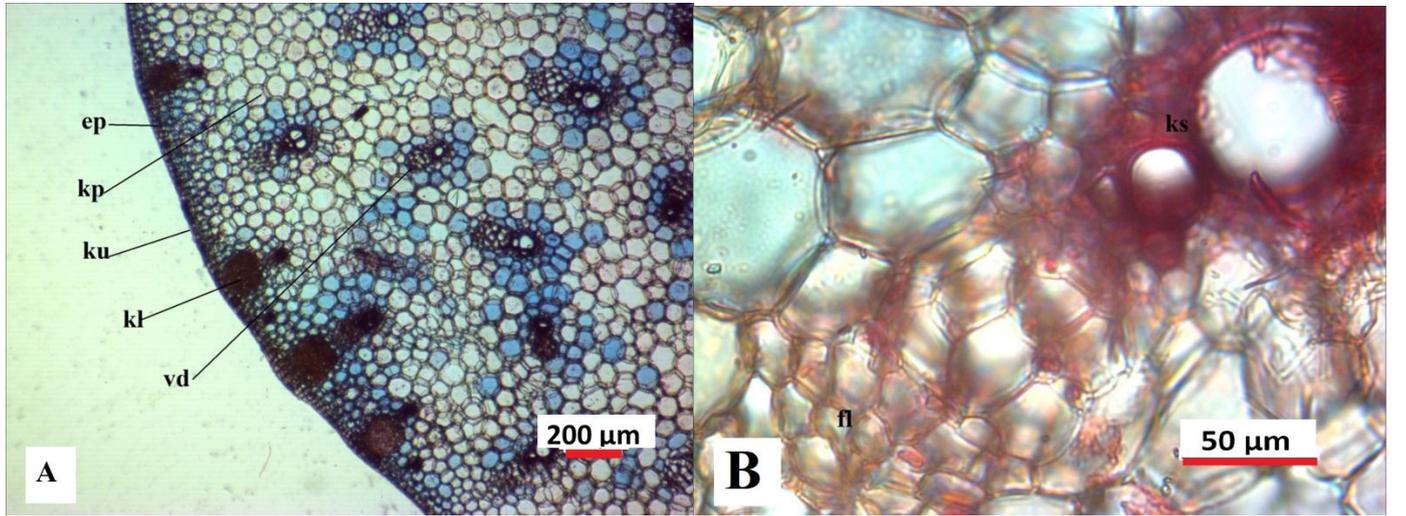
Yetiştirme Yükseltisi: 335-850 m



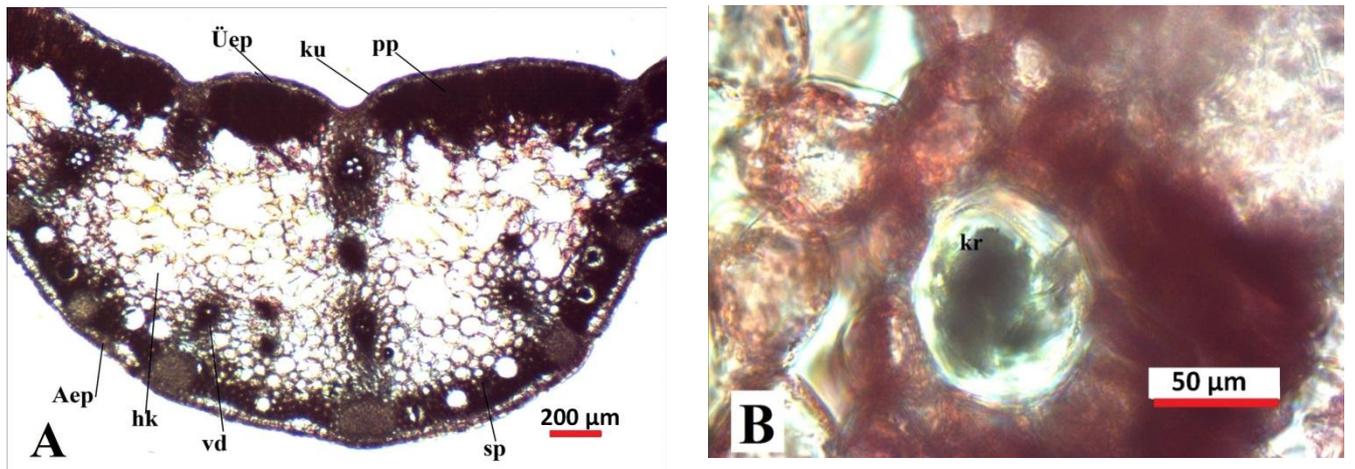
Şekil 2. *Eminium intortum*, A: çiçek görüntüsü, B: spata dış görünüş, C: meyve D: çiçeğin organları



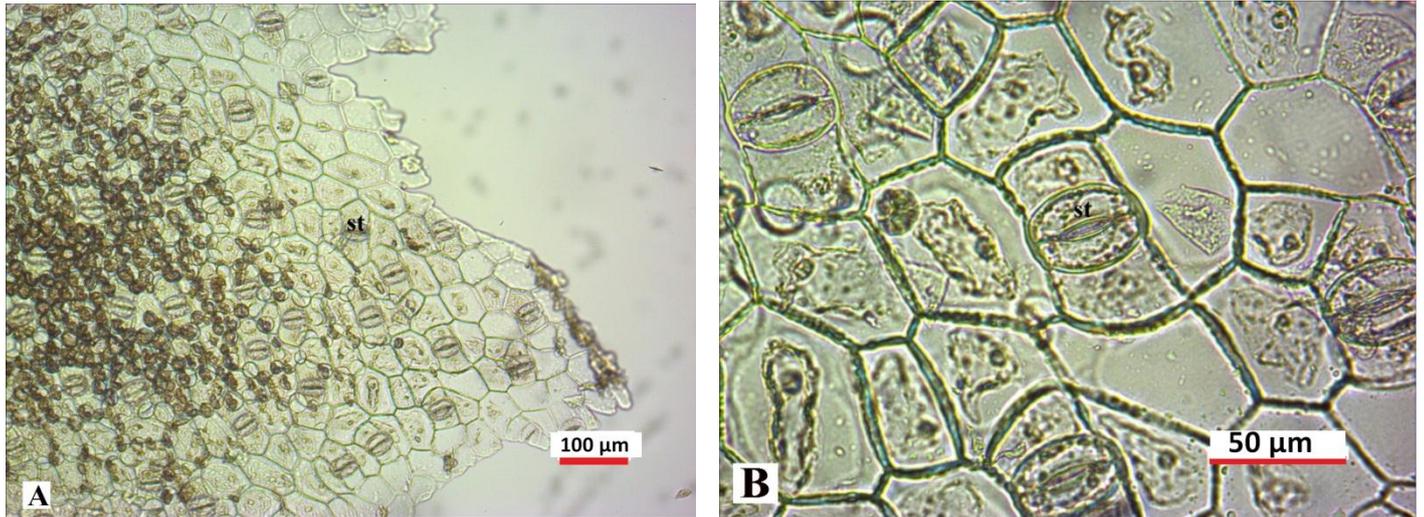
Şekil 3. *Eminium intortum* kök (A:4x-B:10x); ek: ekzoderma, en: endoderma ep: epidermis, fl: floem, ko: korteks, ks: ksilem, ku: kutikula, pr: periskl



Şekil 4. *Eminium intortum* skapa (A:4x-B:40x); ep: epidermis, fl: floem kp: korteks parankiması, kl: kollenkima, ks: ksilem, ku: kutikula, vd: vasküler demet



Şekil 5. *Eminium intortum* yaprak enine kesit (A:4x-B:40x); Aep: alt epidermis, ku: kutikula, hk: hava keseleri, kr: rafit kristal, vd: vasküler demet, Üep: üst epidermis, sp: sünger parankiması, pp: palizat parankiması



Şekil 6. *Eminium intortum* stoma dağılışı ve görünüşleri (A:10x-B:40x); st: stoma

Endemizm Durumu ve Yayılışı: Endemik değil. Suriye, İran, Irak, Filistin

Populasyon durumu: Şanlıurfa'da popülasyonu en yaygın *Eminium* türüdür.

C7 Şanlıurfa: Birecik, Arat dağı, taşlık yamaçlar, 830 m, 37°3'38' K, 38°7'42' D., 22.03.2018, Çeçen 1012; İbid., Birecik, 446 m, 37°1'36' K, 38°0'23' D. 2018, Çeçen 1013, İbid., Ceylanpınar civarı, 10 iv 2003, İ. Eker 464 (Harran Ü. Herb!), İbid., Karaköprü-Maşuk yakını, step, 650 m, 18.6. 2015, M. Balos 2004 (Harran Üniv. Herb.), İbid, Maşuk yakını, step, 650 m, 18.04.2015, M. Balos 2015 (Harran Üniv. Herb.), İbid, Susuz Dağları, Üçkonak köyü güneyindeki tepeler, 25.04.2003, İ. Eker 548 (Harran Üniv. Herb.), ibid, Tektek Dağları, Başaklı köyü civarı, 27 ii 2003, İ. Eker 324 (Harran Ü. Herb.), İbid., Tektek Dağları, Karakuş köyü, 04 iv 2003, İ. Eker 433 (Harran Ü. Herb.), İbid., Tektek Dağları, Uğurlu köyü batısı, 16 iv 2003, İ. Eker 501 (Harran Ü. Herb.).

***Eminium rauwolffii* (Blume) Schott var. *rauwolffii* (Blume) Schott'nin anatomik özellikleri**

Kök anatomisi

En dışta kökün dış yüzeyinde tek sıralı epidermis hücreleri bulunmaktadır. Epidermisin üzerinde ince bir kütikula tabakası vardır. Epidermisin hemen altında korteks tabakası gelmektedir. Bu tabaka 8-10 katmanlı parankimatik hücrelerden oluşur. Endodermisin korteks tarafına bakan çeperleri süberinleşmiştir. Endodermisin altında tek sıra halinde ince duvarlı hücreler oluşturan periskl tabakası vardır. İletim demeti radyal tiptir. Kökün iletim demetlerini oluşturan ksilem kolları sayısı 7-8 kolludur, poliarktır. İletim demetlerinin orta bölgesinde 1-2 merkezi metaksilem vardır. Floem ise ksilem kolları arasında yer alır (Şekil 8).

Skapa anatomisi

Skapanın enine kesitinde dışta ince bir kütikula

tabakası ayırt edilmektedir. Kütikula tabakasının altında belirgin tek sıralı hücelere sahip olan epidermis tabakası bulunur. Epidermis hücrelerinin bazı kısımlarında tek sıralı parankima hücreleri altında sklerenkima hücreleri yer alır. Hücre arası hava boşlukları yer almaz. Vasküler demetler dairesel bir düzende sıralıdır. Vasküler demetlerinde ksilem, floeme göre daha geniş bir alan kaplar. Gövdenin merkezinde, hücreler arası boşlukları olmayan kalın çeperli çokgen şekilli parankima hücreleri öz bölgesini oluşturur (Şekil 9).

Yaprak anatomisi

Yaprak enine kesitinde her iki yüzeyinde ince kütikula tabakasıyla kaplıdır. Kütikula'nın hemen altında tek sıralı epidermis tabakası yer alır. Alt ve üst epidermis tabakası birbirine yakın kalınlıktadır. Mezofil tabakasında 2-3 sıralı palizat parankiması ve sonrasında sünger parankiması bulunur. Palizat parankiması ve sünger parankiması arasında belli aralıklarla vasküler demetler ayırılmaktadır. Hücreler arası geniş hava boşlukları yer alır. Yaprakta yer yer rafit kristallerine de rastlanmaktadır. Yaprığın her iki yüzeyinde de stomalar yer alır. Stoma tipi anomositik ve parasitiktir (Şekil 10-11).

3. *Eminium spiculatum* (Blume) Schott (Şekil 12-16)

Yumru basık küremsi 2-6 cm çapında. Yaprak sapı 12-38 cm, mor benekli yaprak ayası parçalıdır. Orta lob dikdörtgensiz-mızraksıdır. Yan loblar iyi gelişmiş, derin parçalara ayrılır, her bir yan lop birkaç kez daha küçük loplara ayrılır. Yaprak ayası 2-13 cm boyunda 0,5-2 cm enindedir. Skapa 6-24 cm boyundadır.

Spata 7-20 cm boyunda, dışta açık yeşil yada mor benekli, çoğunlukla kırmızımsı-mor benekli. Spata tüpü dışta açık yeşil yada yoğun mor benekli içte açık sarımsı yeşil, kırmızımsı-mor renktedir. Spata ayası 5-13 × 2,5-10 cm boyutlarında, etli, geniş dikdörtgensiz

yada geniş yumurtamsıdır.

Spata dışta yeşil, bazen koyu mor benekli, içte siyahımsı mor veya koyu kırmızı-kahverengi, prüzlü. Spadiks 7-12 cm boyunda. Dişi çiçek bölgesi 7-14 mm, steril bölge yukarı doğru kıvrık, sarı veya açık sarı renkte 2-4 cm, erkek çiçek bölgesi 5-13 mm boyundadır. Apendiks 21-56 × 4-11 mm boyutlarında, siyahımsı-mor yada açık sarımsı-kahverengi renkte, yüzeyi buruşuk-siğilli, silindirik yada eliptik-silindiriktir.

Çiçeklenme Zamanı: Nisan, Mayıs

Yetiştirme Ortamı: Taşlı stepler, kireçtaşı tepeler, hububat tarlaları

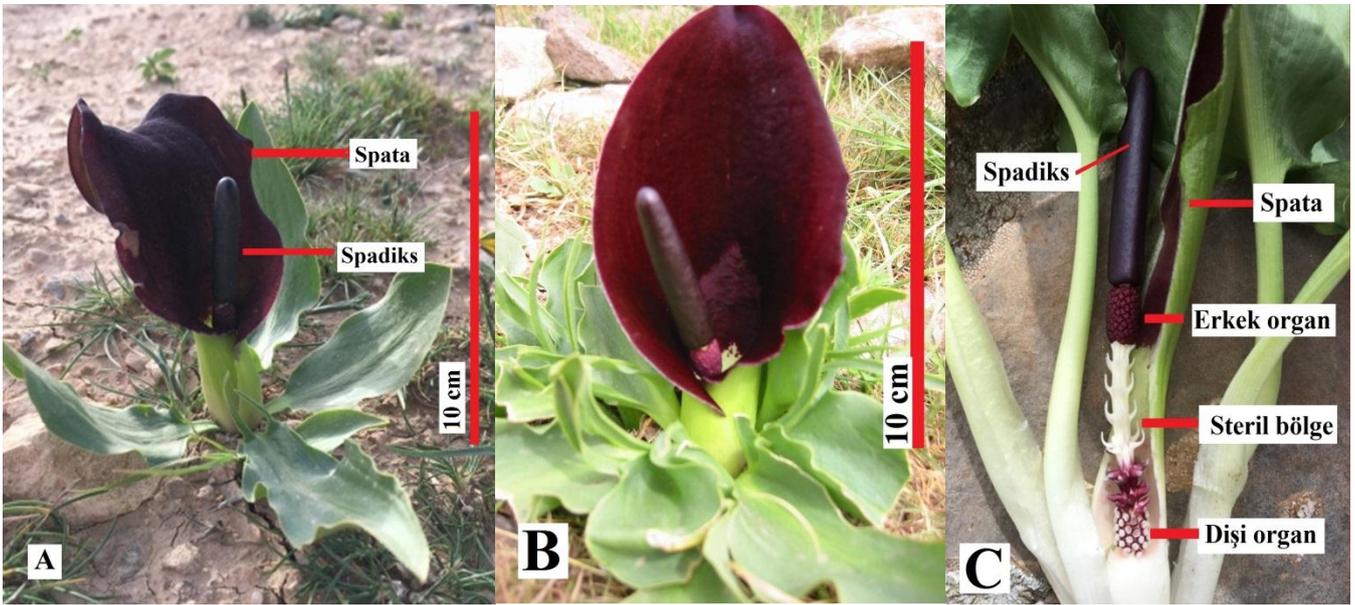
Yetiştirme Yükseltisi: 470-750 m

Endemizm Durumu ve Yayılışı: Endemik değil.

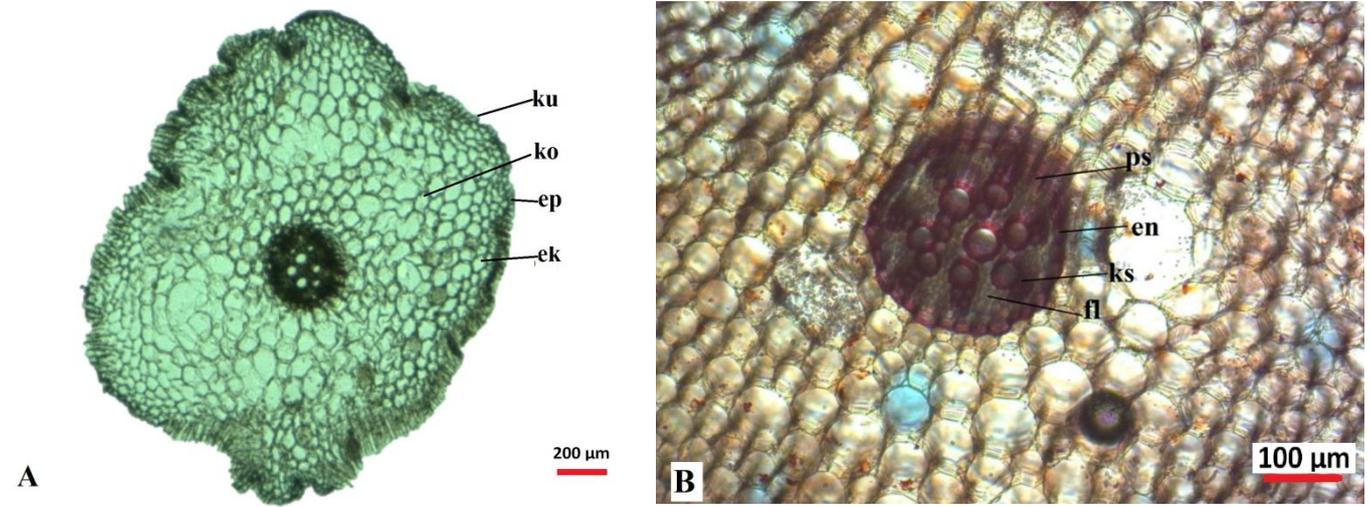
Türkiye, Suriye, İran

Popülasyon durumu: Şanlıurfa'da bulunduğu bölgelerde popülasyonu en az olan *Eminium* türüdür.

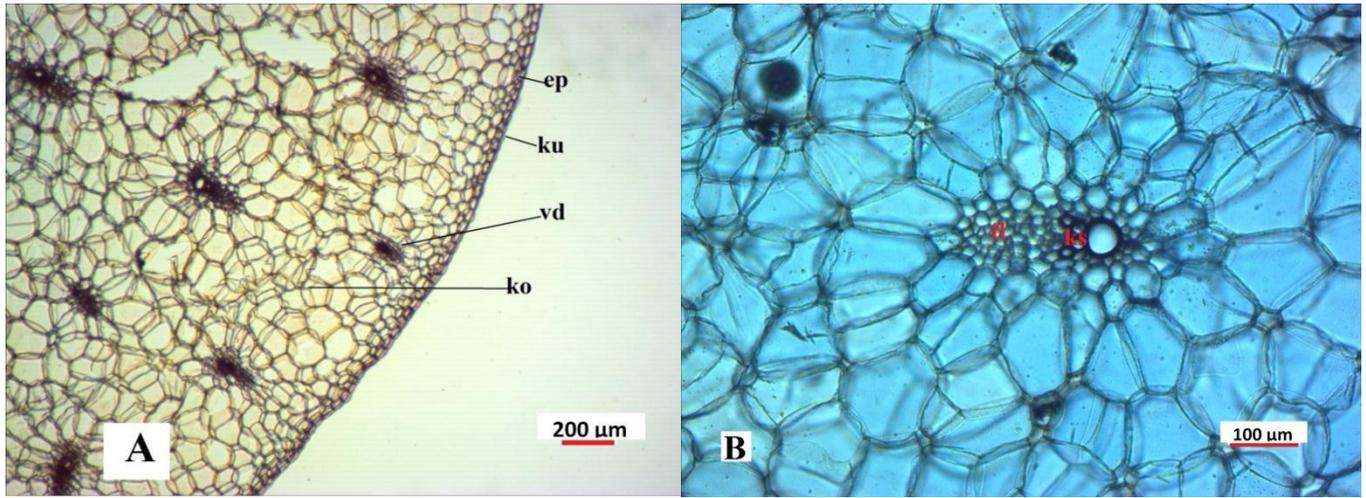
C7 Şanlıurfa: Kabahaydar civarı, Yenice köyü, bağıcı, 623 m, 19 iv 2015, M. Balos 2003 (Harran Üniv. Herb.); İbid., Akziyaret köyü, köye varmadan 3 km tarla içi, 683 m, 37° 22' 17 " K, 38° 47' 16 " D, 22.03.2018, ÇEÇEN 1014; İbid., Ceylanpınar civarı, 10 iv 2003, İ. Eker 465 (Harran Ü. Herb.); İbid., Kabahaydar civarı, Yenice Köyü, Bağıcı, 623 m, 19 iv 2015, M. Balos 2003 (Harran Üniv. Herb.); İbid., Tektek Dağları, Karakuş Köyü 2 km güneyi, 14 iv 2003, İ. Eker 473 (Harran Üniv. Herb.).



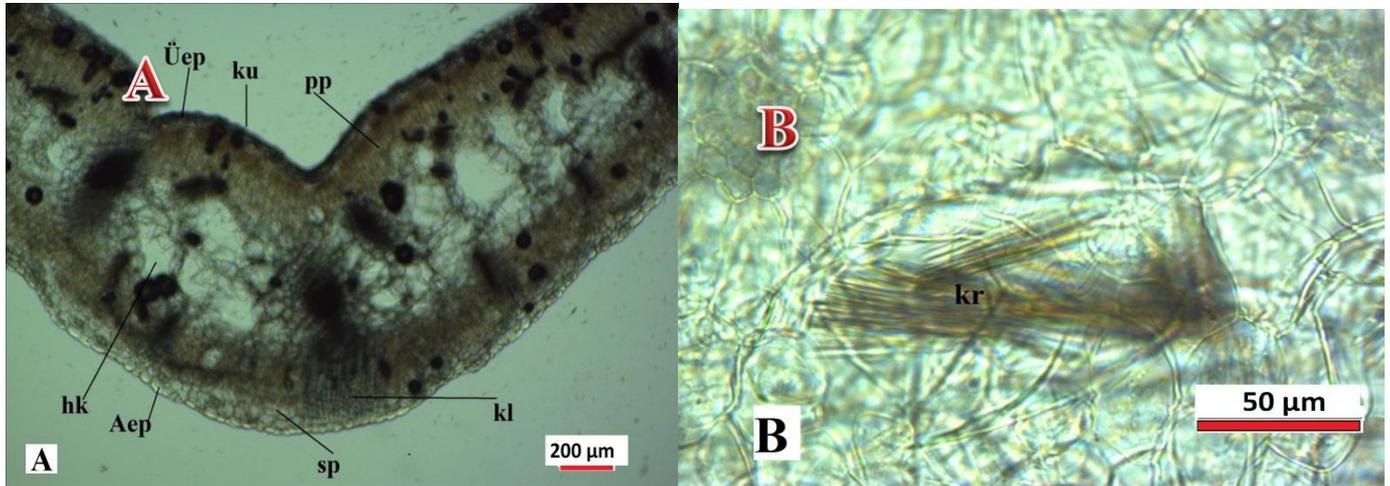
Şekil 7. *Eminium rauwolfii* var. *rauwolfii*, A-B: Genel görünüş ve çiçek görüntüsü, C: Çiçeğin organları



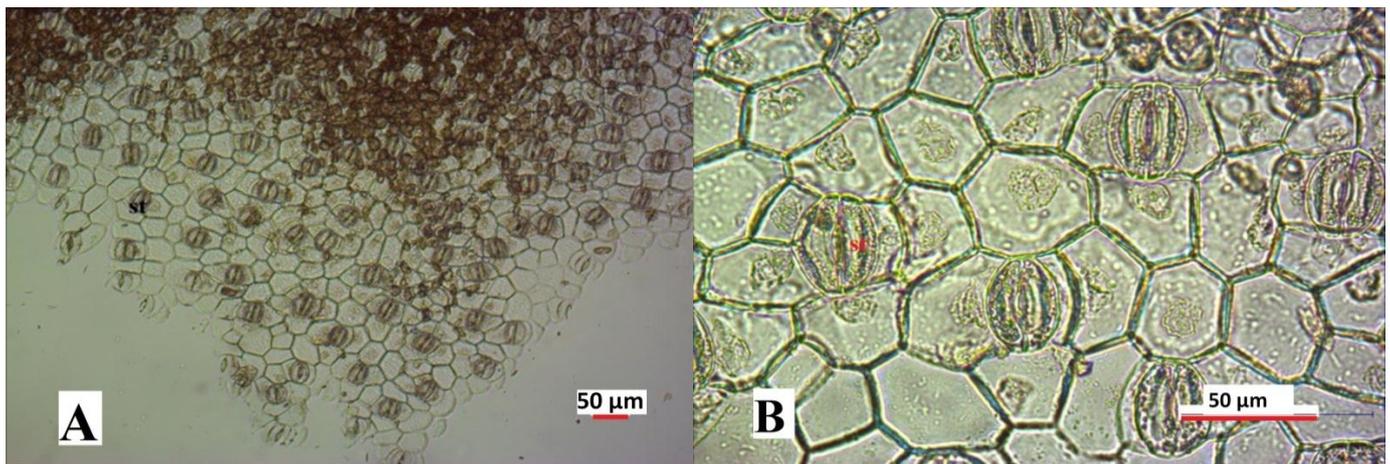
Şekil 8. *Eminium rauwolfii* kök (A;4x-B;10x); ek: ekzoderma, en: endoderma ep: epidermis, fl: floem, ko: korteks, ks: ksilem, ku: kutikula, pr: periskl



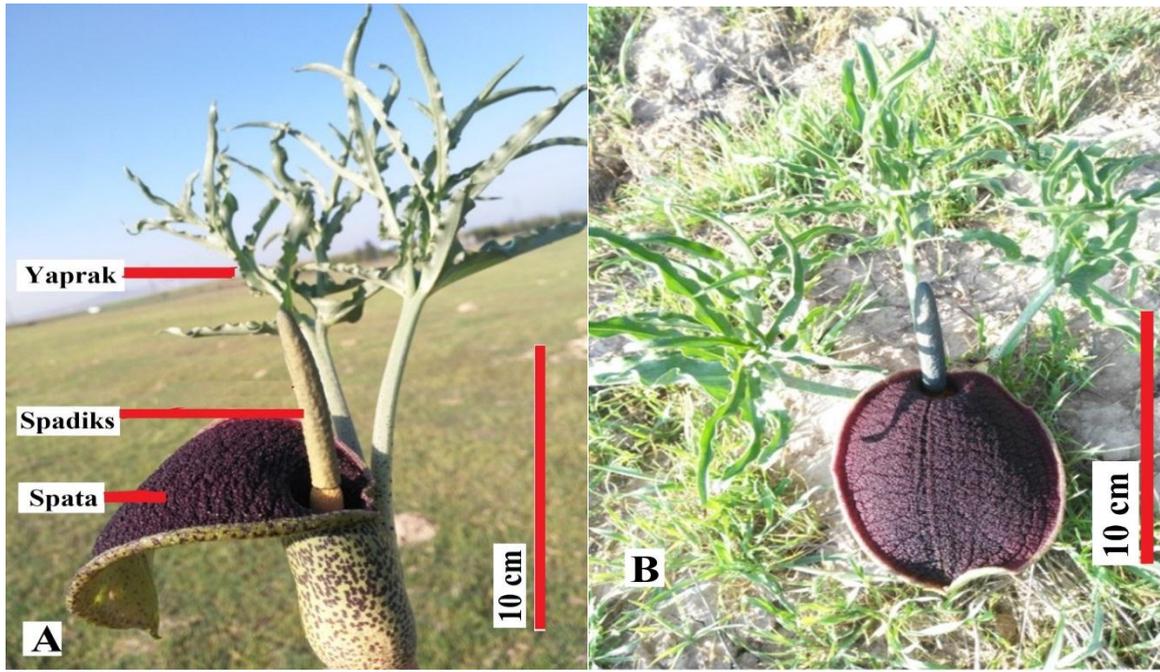
Şekil 9. *Eminium rauwolfii* var. *rauwolfii* skapa (A;4x-B;10x); ep: epidermis, fl: floem kp: korteks parankiması, kl: kollenkima, ks: ksilem, ku: kutikula, vd: vasküler demet



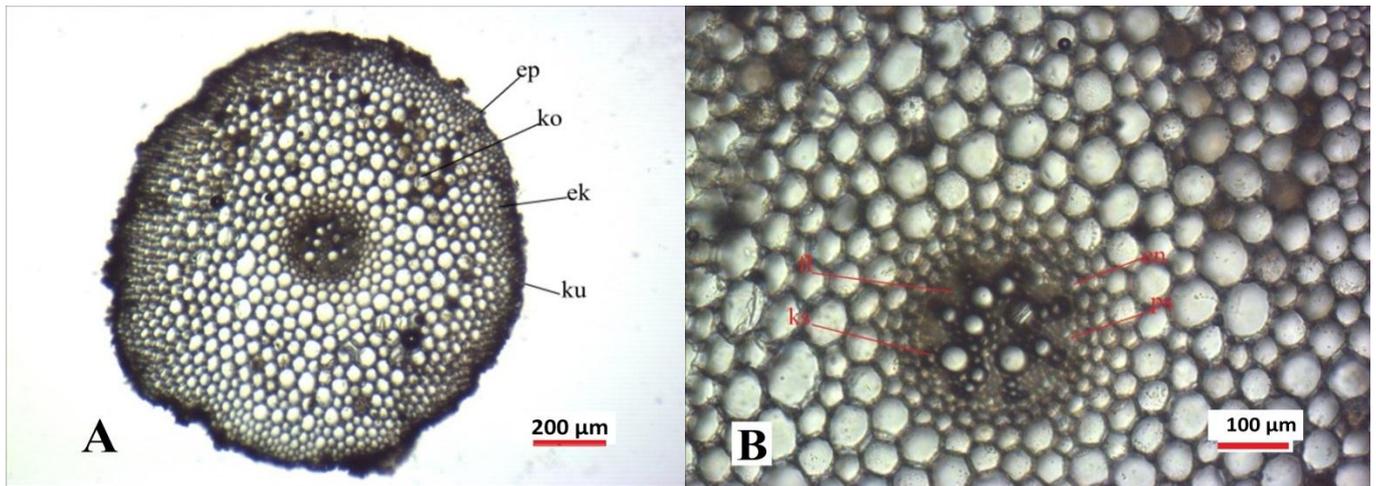
Şekil 10. *Eminium rauwolfii* var. *rauwolfii* yaprak enine kesit (A;4x-B;40x); Aep: alt epidermis, ku: kutikula, hk: hava keseleri, kr: rafit kristal, vd: vasküler demet, Üep: üst epidermis, sp: sünger parankiması, pp: palizat parankiması



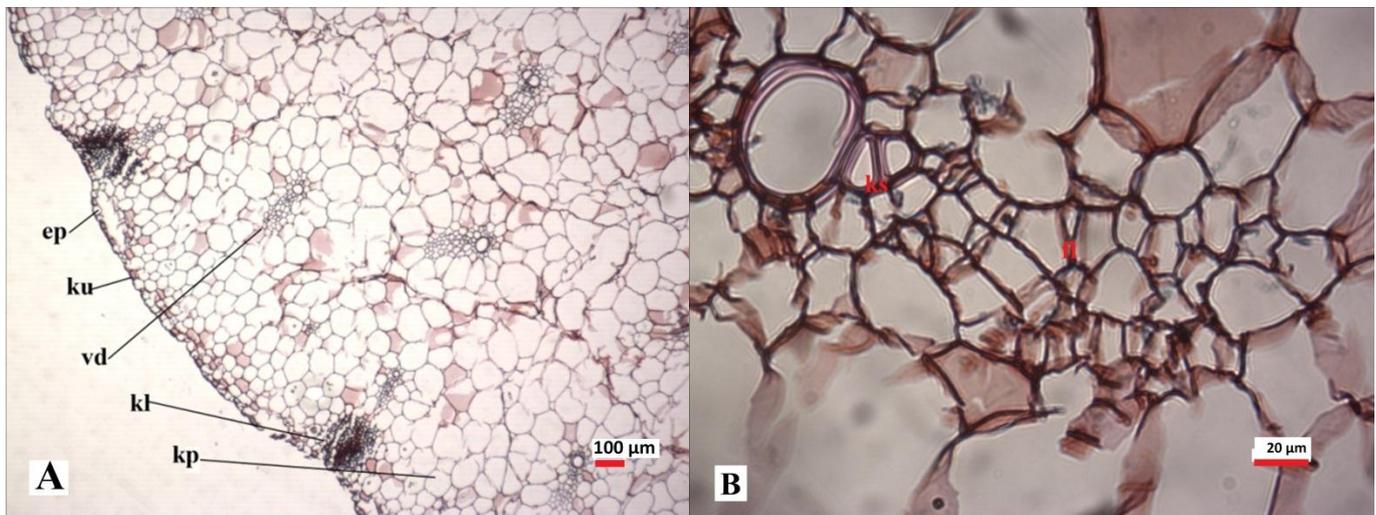
Şekil 11. *Eminium rauwolfii* var. *rauwolfii* stoma dağılışı ve görünüşleri (A;10x-B;40x); st: stoma



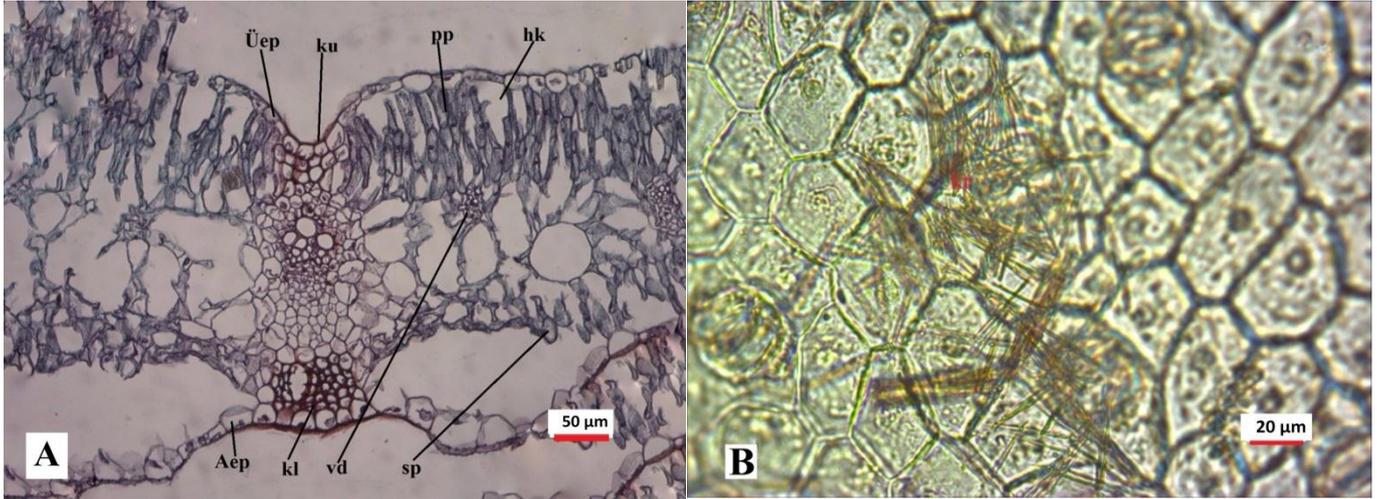
Şekil 12. *Eminium spiculatum*, A-B: Bitkinin çiçeği ve genel görüntüsü



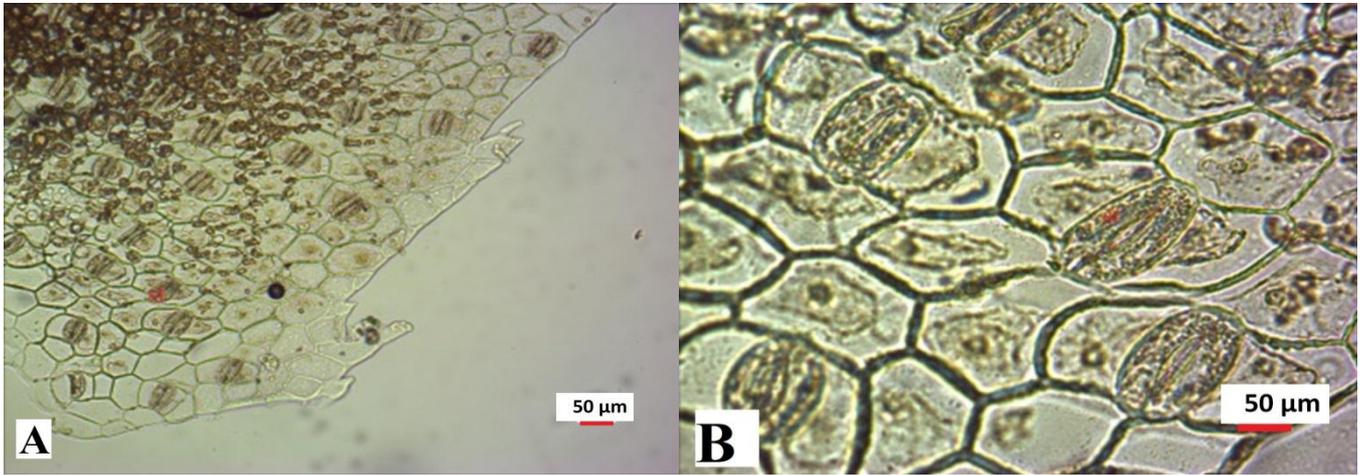
Şekil 13. *Eminium spiculatum* kök (A;4x-B,10x); ek: ekzoderma, en: endoderma ep: epidermis, fl: floem, ko: korteks, ks: ksilem, ku: kutikula, pr: periskl



Şekil 14.. *Eminium spiculatum* skapa (A;4x-B:40x); ep: epidermis, fl: floem kp: korteks parankiması, kl: kollenkima, ks: ksilem, ku: kutikula, vd: vasküler demet



Şekil 15. *Eminium spiculatum* yaprak enine kesit (A;10x-B;40x); Aep: alt epidermis, ku: kutikula, hk: hava keseleri, kr: rafit kristal, vd: vasküler demet, Üep: üst epidermis, sp: sünger parankiması, pp: palizat parankiması



Şekil 16. *Eminium spiculatum* stoma dağılışı ve görünüşleri (A;10x-B;40x); st: stoma

Eminium spiculatum'un anatomik özellikleri

Kök anatomisi

En dışta kökün dış yüzeyinde tek sıralı epidermis hücreleri bulunmaktadır. Epiderminin üzerinde ince bir kutikula tabakası vardır. Epiderminin hemen altında korteks tabakası gelmektedir. Bu tabaka 9-10 katmanlı parankimatik hücrelerden oluşur. Endodermisin korteks tarafına bakan çeperleri süberinleşmiştir. Endodermisin altında tek sıra halinde ince duvarlı hücreler oluşturan periskl tabakası vardır. İletim demeti radyal tiptir. Kökün iletim demetlerini oluşturan ksilem kolları sayısı 8 kolludur, poliarktır. İletim demetlerinin orta bölgesinde 1 merkezi metaksilem vardır. Floem ise ksilem kolları arasında yer alır (Şekil 13).

Skapa anatomisi

En dışta tek sıralı bir epidermis tabakası bulunmaktadır. Epidermis hücreleri dikdörtgen ve kübik şekillidir. Epidermal hücrelerin dış yüzeyinde kutikula tabakasının varlığı ayırt edilebilir.

Epiderminin altında belirli aralıklarla dizilmiş kollenkima hücreleri yer alır. Hücre arası boşluklara sahip olmayan ince duvarlı çokgen ve dairesel çok sıralı parankima hücrelerden oluşan korteks tabakası bulunmaktadır. Vasküler demetler skapada dağılık şekilde bulunmaktadır. Vasküler demetlerde Floem, ksilem'den daha geniş bir alanda gözlemlenir. Rafit kristalleri gözlenmemiştir (Şekil 14).

Yaprak anatomisi

Alt ve üst epidermis tabakası birbirine yakın kalınlıktadır. Mezofil tabakasında 3-4 sıralı palizat parankiması ve sonrasında sünger parankiması bulunur. Palizat parankiması ve sünger parankiması arasında belli aralıklarla vasküler demetler ayırdedilmektedir. Hücreler arası geniş hava boşlukları yer alır. Yaprakta yer yer rafit kristallerine de rastlanmaktadır. Yaprığın her iki yüzeyinde de stomalar yer alır (Şekil 15).

Yaprak orta damarda ve mezofilde aşağıdaki elementler gözlenmiştir; yaprakta üstte tek sıralı üzeri ince bir kutikula ile örtülü epidermis bulunmaktadır.

Üst epidermis alt epidermis ile aynı kalınlıktadır. Epidermiste Stoma hücreleri epidermis hücreleri ile aynı seviyede bulunur (mezomorf). Yaprığın hem alt hem de üst yüzeyinde stomalar bulunur (amfistomatik). Stoma bekçi hücreleri 4-5 yardımcı hücre ile çevrelenmiştir. Tipi anomositik ve parasitik stomadır. Epidermis altında mezofilde palizat ve sünger parankiması bulunur (bifasiyal tip yaprak). Üst epiderminin altında bulunan palizat parankiması, uzun ve sindirik şekillidir. Palizat parankiması 3-4 sıralı olarak şekilde düzenlenmiştir. Palizatın altıdan bazen tam olarak farklılaşmamış bazen daha belirgin şekilde Sünger parankiması ise 8-9 sıralı olarak görülmüştür. Palizat parankiması ve sünger parankiması arasında belli aralıklarla vasküler demetler ayırılmaktadır. Mezofilde kristallere rastlanmıştır. Kristaller rafit tipindedir.

İletim demetleri belirgindir ve farklı büyüklükte parankima hücrelerinden oluşan demet kını ile sarılıdır. Üstte ksilem altında floem olarak düzenlenmiştir (kolletral tip). Orta damarda üste tek sıralı bir epidermis, hemen altıda 2-3 sıralı kollenkima bulunmaktadır. Kollenkimanın altında 2-3 sıra parankima dokusu gelmektedir. Hemen altıda iletim demeti gelir. Üstte ksilem altında floem olarak düzenlenmiştir (kolletral tip) floemin altında 1-2 sıralı parankima tabakası gelip onun hemen altıdan 5-7 sıra kollenkima bulunur. Kollenkimanın altında ise alt epidermis gelmektedir (Şekil 16).

SONUÇ

Bu çalışma ile Şanlıurfa'da yayılış gösteren *Eminium* türlerinin morfolojik ve anatomik özellikleri verilmiştir. *Eminium* türlerine ait araştırma alanından elde edilen morfolojik karakterlerin sonuçları Resimli Türkiye Florası ve Flora of Turkey ile karşılaştırılarak Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1'de Flora of Turkey ile spata, spata tüpü, steril bölge ve meyve bakımından farklılıklar görülürken, Resimli Türkiye Flora'sıyla benzerlikler görülmüştür.

Eminium türlerine ait araştırma alanından elde edilen morfolojik karakterlerin sonuçları Resimli Türkiye Florası ve Flora of Turkey ile karşılatırılarak Çizelge 2'de verilmiştir.

Eminium türlerine ait araştırma alanından elde edilen morfolojik karakterlerin sonuçları Resimli Türkiye Florası ve Flora of Turkey ile karşılatırılarak Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelgede 3'de görüldüğü gibi Flora of Turkey ile apendiks bakımından farklılıklar görülürken, Resimli Türkiye Flora'sıyla benzerlikler görülmüştür.

Eminium türlerinin anatomisinin karşılaştırılması

E. spiculatum, *E. intortum* ve *E. rauwolfii* türlerinin kök anatomisinde dışta tek sıralı epidermis hücreleri

ve onun epiderminin üzerinde ince bir kütikula tabakası yer alır. *E. rauwolfii* ve *E. spiculatum*'da Epiderminin altında 3-4 sıralı, *E. intortum*'da 2-3 sıralı ekzoderma yer alır. *E. intortum*'da korteks tabakası 6-7, *E. spiculatum*'da ve *E. rauwolfii*'de 7-8 tabakalıdır. Endodermisin korteks tarafına bakan çeperleri her üç türde de kalınlaşmıştır. Endodermisin altında tek sıra halinde ince duvarlı hücreler oluşturan periskl tabakası vardır. İletim demeti radyal tiptir. Kökün iletim demetlerini oluşturan ksilem kolları sayısı *E. spiculatum*'da 8, *E. rauwolfii*'de 7-8 *E. intortum*'da 7 kolludur, poliarktiktir. İletim demetlerinin orta bölgesinde *E. spiculatum* ve *E. rauwolfii*'de bir veya daha fazla, *E. intortum*'da ise 3 metaksilem vardır.

Skapa anatomisinde her üç türde de en dışta tek sıralı bir epidermis tabakası bulunmaktadır, epiderminin üstünde ince bir kütikula tabakası yer alır. *E. spiculatum* ve *E. intortum*'da epiderminin altında belirli aralıklarla dizilmiş kollenkima hücre kümeleri gözlenmiş *E. rauwolfii*'de kollenkimatik hücre kümeleri gözlenmemiştir. Her üç türde de hücre arası boşluklara sahip olmayan ince duvarlı çokgen ve dairesel çok sıralı parankima hücrelerden oluşan korteks tabakası bulunmaktadır. İletim demetleri skapade dağınık şekilde bulunmaktadır. Her üç türde de floem, ksilem'den daha geniş bir alanda gözlemlenir. Her üç türde de yaprakta üstte tek sıralı üzeri ince bir kütikula ile örtülü epidermis bulunmaktadır. Üst epidermis alt epidermis ile aynı kalınlıktadır. Epidermiste stoma hücreleri epidermis hücreleri ile aynı seviyede bulunur (mezomorf). Yaprığın hem alt hem de üst yüzeyinde stomalar bulunur (amfistomatik). Stoma tipi anomositik ve parasitik stomadır. Epidermis altında mezofilde palizat ve sünger parankiması bulunur (bifasiyal tip yaprak). Üst epiderminin altında bulunan palizat parankiması, uzun ve sindirik şekillidir.

Palizat parankiması *E. spiculatum*'da 3-4 sıralı *E. intortum*'da 4-5 sıralı, *E. rauwolfii*'de 3-4 sıralıdır. Palizatın altıdan bazen tam olarak farklılaşmamış bazen daha belirgin şekilde Sünger parankiması ise *E. spiculatum*'da 8-9 sıralı, *E. intortum*'da 5-6 *E. rauwolfii*'de 3-4 sıralıdır. Palizat parankiması ve sünger parankiması arasında belli aralıklarla vasküler demetler ayırılmaktadır. Mezofilde kristallere rastlanmıştır. Kristaller rafit tipindedir. İletim demetleri belirgindir ve farklı büyüklükte parankima hücrelerinden oluşan demet kını ile sarılıdır. Üstte ksilem altında floem olarak düzenlenmiştir (kolletral tip).

Eminium cinsi üzerinde yapılmış anatomik çalışmalar sadece kök ile sınırlı kalmıştır. Tıraş (2011)'a göre kökün iletim demetlerini oluşturan ksilem kolları sayısı *E. spiculatum* 5-6, *E. intortum* 6, *E. rauwolfii*'de 9 kolludur.

Çizelge 1. *Eminium intortum* morfolojik özelliklerinin diğer çalışmalarla karşılaştırılması

Karşılaştırılan karakterler	Flora of Turkey (Davis, 1984)	Resimli Türkiye Florası (Güner ve ark., 2018)	Bu araştırmanın sonuçları
Tuber	Yumrular globose 25 x 23-32 mm	2,5-4 cm	2,1-4,5 cm
Yaprak sapı	11-18 cm	7-22 cm	6-25 cm
Yaprak ayası	4,5-8 x 2,5-3 cm	7-10 x 2-3,5 cm	6-12 x 2-3,5 cm
Skapa	6-15 cm	16-34 cm	14-37 cm
Spata	-	10-15 cm	9-16 cm
Spata tüpü	-	Dışta boyuna çizgili, açık yeşil bazen açık mor benekli	Dışta boyuna çizgili, bazen açık mor benekli, içte pembemsi fil dişi
Spata ayası iç ve dış	Düz, yeşil dışında, çikolata mor bordo ve kadife yumuşak iç	Dışta boyuna çizgili yukarılarda açık yeşil, içte pembemsi	İçte kadifemsi ve mor-menekşe renkte Dışta sarımsı yeşil, yoğun koyu mor beneklerle kaplı
Spadiks	5-8 cm	6-7,5 cm	5-7,6 cm
Spadiks steril zon	20-24 mm	3-3,5cm	3-3,5 cm
Spadiks erkek zon	7-8 mm	7-8 mm	7-8 mm
Spadiks dişi zon	H-13 mm	10-15 mm	9-16 mm
Steril çiçek durumu	-	-	Beyazımsı sarı
Meyve	-	-	Küremsi olgunlukta fildişi beyaz renkte
Apendiks	Hafifçe konik, 8-32 x 3-3,5 mm, koyu kestane rengi veya siyahımsı-mor ek silindirik silindiriktir	Konimsi, yüzeyi pürüzsüz, siyah yada koyu-kahverengi	Konimsi, siyaha yakın ya da koyu kahverengi, yüzeyi pürüzsüz

Çizelge 2. *Eminium rauwolffii* morfolojik özelliklerinin diğer çalışmalarla karşılaştırılması

Karşılaştırılan karakterler	Flora of Turkey (Davis, 1984)	Resimli Türkiye Florası (Güner ve ark., 2018)	Bu araştırmanın sonuçları
Tuber	40 x 20-30 mm	2-5 cm	2-5,5 cm
Yaprak sapı	9-17 cm	1-9 cm	1-10 cm
Yaprak ayası	6,5-13,5 x 2-4 (-14) cm	3-15 x 1-5 cm	3-18 x 1-6 cm
Skapa	5-19 cm	5-23 cm	5-25 cm
Spata	8-16 x 2-6,5 cm	7-18 cm	7-18 cm
Spata tüpü	Morumsu üste yakın, üst yarısında beyazımsı	Dışta sarımsı-yeşil, içte açık sarımsı-yeşil	İçte açık sarımsı yeşil, dışta sarımsı yeşil ya da yeşil
Spata ayası iç ve dış	Oval-haçner ovate, genellikle spadiks, yeşil dışında, maroon ve pürüzsüz iç üzerinde kıvrık iç içe	Dik veya geriye yatık, beneksiz, iç siyah-mor pürüzsüz	Dış yüzeyi yeşil, benek bulunmaz, iç yüzeyi koyu mor, kadifemsidir
Spadiks	4,5-7 cm	4-10 cm	4-11 cm
Spadiks steril zon	12-20 mm	18-27 mm	16-28 mm
Spadiks erkek zon	5-9 mm	6-11 mm	5-12 mm
Spadiks dişi zon	10-20 mm	7-14 x 4-7 mm	7-16 x 4-8 mm
Steril çiçek durumu	Sert değil, konik, silindirik	Düzdün dağılımlı, yukarı yönlü	Yukarı doğru kıvrık, mor ya da hafif pembe mor
Meyve	-	-	-
Apendiks	Konik, silindirik, siyah-mor-koyu mor bordo, kısa süreli veya sapsız	Silindirik basık konimsi, siyah mor pürüzsüz	Silindirik ya da basık konimsi, siyahımsı mor renkte, pürüzsüz

Çizelge 3. *Eminium spiculatum* morfolojik özelliklerinin diğer çalışmalarla karşılaştırılması

Karşılaştırılan karakterler	Flora of Turkey (Davis, 1984)	Resimli Türkiye Florası (Güner ve ark., 2018)	Bu araştırmanın sonuçları
Tuber	Basık-globose	2-5,5 cm	2-6 cm
Yaprak sapı	17-31 cm	10-40 cm	12-38 cm
Yaprak ayası	7-9 x 9-16 cm	5-13,5 cm x 0,5-3 cm	2-13 cm x 0,5-2 cm
Skapa	17 cm	5-22 cm	6-24 cm
Spata	7-20 x 4-10 cm	7-18 cm Ayası belirgin kabarcıklı, siğilli yapıda	7-20 cm Ayası belirgin kabarcıklı, siğilli yapıda
Spata tüpü	Benekli	İçte açık sarımsı yeşil çoğunlukla kırmızımsı mor boyalı, dışta açık yeşil mor benekli	Dışta açık yeşil ya da yoğun küçük mor benekli
Spata ayası iç ve dış	Geniş, mor benekli	Çoğunlukla geriye yatık ve dik yatık, etli, şeffaf sivilceli, kırış kırış, dış koyu yeşil, iç siyahımsı mor	Dışta yeşil, bazen koyu mor benekli, içte siyahımsı pürüzlü
Spadiks	10-11 cm	7-11 cm	7-12 cm
Spadiks steril zon	35-40 (-60) mm	2,1-4 cm	2-4 cm
Spadiks erkek zon	11-12 mm	5-12 mm	5-13 mm
Spadiks dişi zon	12-14 mm	8-15 mm	7-14 mm
Steril çiçek durumu	Geniş silindirik, koyu mor, kısa sürede çöker	Yukarı doğru kıvrık, sarı veya açık sarı	Yukarı doğru kıvrık, sarı veya açık sarı
Meyve	-	-	-
Apendiks	-	Silindirik veya dar eliptik silindirik, siyahımsı mor, yüzeyi sivilceli buruşuk	Silindirik yada dar eliptik, siyahımsı mor, yüzeyi sivilceli buruşuk

Bu çalışmada ksilem kolları sayısı *E. spiculatum*'da 8, *E. rauwolfii*'de 7-8, *E. intortum*'da 6-7 kolludur, poliarktır. Farklılığın sebebi Tıraş (2011)'de *E. spiculatum* olarak teşhis edilmiş olan türün yanlış teşhis edilmesinden kaynaklanmaktadır. Doğrusu *E. intortum* olacaktır. *E. intortum* olarak teşhis edilen tür ise *E. rauwolfii* var. *kotschy*'dir. *E. rauwolfii* var. *kotschy* olarak teşhis edilen takson da *E. rauwolfii* var. *rauwolfii* olacaktır. *E. spiculatum* türü ise aslında çalışılmamıştır. Yanlış teşhis sonucu bir çok tür birbirinin yerini almıştır. Bu da bizim çalışmamız ile Tıraş (2011) çalışmasının farklı sonuçlar vermesine neden olmuştur.

Yapılan literatür araştırmalarında Araceae familyasından *Biarum* türü üzerinde anatomik bir çalışma yapılmıştır (Akyol ve ark., 2018). Bu çalışmada yapılan *B. pyrami* (Schott) Engl. var. *pyrami*'nin kök anatomisinde ksilem kolları sayısı 4-5, *B. marmariense* (P.C. Boyce) P.C. Boyce türünde ise ksilem kolları sayısı 6-8 olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada ise ksilem kolları sayısı *E. spiculatum*'da 8, *E. rauwolfii*'de 7-8, *E. intortum*'da 6-7'dir. Her iki çalışmada da Skapa anatomisinde iletim demetleri skapada monokotil bitkilerin bariz özelliği olan dağınık şekilde dizilmişlerdir. Akyol ve ark. (2018) çalışmasında *B. pyrami* var. *pyrami* ve *B. marmariense*'de epidermis altında kollenkima

kümelere gözlemlenmiştir. Bu çalışmada *E. spiculatum* ve *E. intortum*'da epidermisin altında belirli aralıklarla dizilmiş kollenkima hücre kümeleri gözlenmiş *E. rauwolfii*'de kollenkimatik hücre kümeleri gözlenmemiştir. Akyol ve ark. (2018)'e göre *B. marmariense*'de parasitik stoma tipi gözlenirken *B. pyrami* var. *pyrami*'de anomositik stoma tipi kaydedilmiştir. Bu çalışmada her üç türde de anomositik ve parasitik stoma'ya rastlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Laboratuvar imkanlarını kullanmamızı sağlayan Dr. Göksal Sezen ve Dr. Hatice Aktaş'a ve maddi desteklerinden dolayı HÜBAK'a (Proje no 17173) teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Affi Fatma U, Rana Abu-Dahab 2012. Phytochemical Screening and Biological Activities of *Eminium spiculatum* (Blume) Kuntze (Family Araceae). Natural Product Research, 26(9): 878-882.
- Akan H, Aydoğdu M, Korkut MM, Balos MM 2013. An Ethnobotanical Research of the Kalecik Mountain Area (Şanlıurfa, South-East Anatolia). Biological Diversity and Conservation, 6: 84-90.
- Akan H, Korkut MM, Balos MM 2008. Arat Dağı ve

- Çevresinde (Birecik, Şanlıurfa) Etnobotanik Bir Araştırma. Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 20(1): 67-81.
- Akyol Y, Durmuskahya C, Yetişen K, Kocabaş O, Özdemir C 2018. The Anatomical Studies on Two *Biarum* (Araceae) species in Turkey. Acta Botanica Hungarica, 60(1-2): 1-12.
- Alpınar K 1987. Batı Türkiye'nin *Arum* L. Türlerinin Yöresel Ad ve Kullanışları. VI. Bitkisel ilaç Hammaddeleri Toplantısı Bildirileri. Gazi Üniv. Basın Yayın Yüksekokulu Matbaası, Ankara, 287-296.
- Anonim 2017. Şanlıurfa Valiliği Çevre ve Şehircilik İl Müdürlüğü Şanlıurfa İli 2016 Yılı Çevre Durum Raporu. 91.
- Bown D 1988. Aroids: Plants of the *Arum* Family. Timber Press, USA, 392. Bulletin, 44(3): 383-395.
- Boyce PC, Croat TB 2011. The Überlist of Araceae, Totals for Published and Estimated Number of Species in Aroid Genera. <http://www.aroid.org/genera/130307uberlist.pdf> (Erişim tarihi: 26.02.2019).
- Bozdağ B, Kocabaş O, Akyol Y, Özdemir C 2016. Bitki Anatomisi Çalışmalarında El Kesitleri İçin Yeni Boyama Yöntemi. Marmara Pharmaceutical Journal, 20: 184-190.
- Davis PH 1965-1985. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, Volume 1-9.
- Davis PH 1984. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Edinburgh, Volume 8.
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT (edlr.) 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmalar Derneği Yayını 1, İstanbul, 1290.
- Güner A, Kandemir, A, Menemen Y, Yıldırım H, Aslan S, Ekşi G, Güner I, Çimen AÖ (edlr.) 2018. Resimli Türkiye Florası-2. ANG Vakfı Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları, İstanbul, 1054.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Bağcı KHC (edlr.) 2000. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Edinburgh, Vol. 11.
- Johansen DA 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Co, New York, 511.
- Lobin, Wolfram, Peter Boyce. 1991. *Eminium koenenianum* (Araceae), A new species from NE Turkey and A Key to The Genus *Eminium*. Willdenowia 43-51.
- Mayo SJ, Bogner J, Boyce PC 1997. The Genera of Araceae. Kew: Royal Botanic Gardens, UK, 370.
- Ozban N, Özmutlu Ö 1991. Mikropreparasyon Yöntemleri. İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 67-84.
- Riedl H 1980. Tentative Keys for The Identification of Species in *Biarum* and *Eminium*, With Notes on Some Taxa Included in *Biarum*. Aroideana, 3: 24-31.
- Tıraş Z 2011. Türkiye *Eminium* (Blume) Schott (Araceae) Cinsinin Morfolojik, Anatomik, Palinolojik, Nümerik, Sitotaksonomik ve Moleküler Revizyonu. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 140s.
- Yıldırım H 2018. *Eminium*. Şu eserde: Güner, A., Kandemir, A., Menemen, Y., Yıldırım, H., Aslan, S., Ekşi, G., Güner, I. ve Çimen, A.Ö. (edlr.). Resimli Türkiye Florası 2: 510. ANG Vakfı Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları. İstanbul
- Zharylgasina GT, Musina LA, Bagryanskaya IY, Shakirov MM, Tuleuov BI, Shul'ts EE, Adekenov S M 2010. Alkaloids of *Eminium lehmannii*. Chemistry of natural compounds 46(1): 154-157.

Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinde Artan Yapılaşmanın Floraya Etkisinin Belirlenmesi

Muzaffer YÜCEL¹ Zerrin SÖĞÜT² Necattin TÜRKMEN³ Deniz ÇOLAKKADIOĞLU⁴ Barış KAHVECİ⁵
Veli ÇELİKTAŞ⁶

^{1,2,5}Çukurova Üniversitesi, Mimarlık Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, 01330 Sarıçam ADANA, ^{3,6}Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 01330 Sarıçam ADANA, ⁴Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Mimarlık Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, 31100 HATAY

¹<https://orcid.org/0000-0002-7269-6719>, ²<https://orcid.org/0000-0002-0000-6272>, ³<https://orcid.org/0000-0002-7185-5896>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-2946-2036>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-8508-1748>, ⁶<https://orcid.org/0000-0001-7753-1422>

✉: dcolakkadioglu@gmail.com

ÖZET

Türlerin korunması amacıyla dünyada kabul görmüş birincil strateji korunan alanların ilanıdır. Bu kategorilerin dışında devlet kurumlarının bulunduğu alanlar ya da Çukurova Üniversitesinde olduğu gibi, üniversite yerleşkeleri de biyolojik çeşitliliğin korunduğu/korunabileceği önemli alanlardır. Araştırma alanını oluşturan Çukurova Üniversitesi Yerleşkesi, 1 977.26 hektarlık bir alanı kapsamaktadır. Bu alan zengin biyolojik çeşitliliğe sahip olmasına rağmen, artan yapılaşma süreci tehdidi altındadır. Bu gerçekten hareketle çalışmanın amacı, Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinde artan eğitim öğretim dokusu kapsamındaki yapılaşmaların flora üzerine etkilerinin belirlenmesidir. Amacı doğrultusunda araştırmada ilk olarak yerleşkenin 1987 yılı ile 2018 yılı alan kullanımları ArcGIS 10.0 bilgisayar yazılımı ile sınıflandırılmıştır. Arazi çalışmaları kapsamında elde edilen veriler doğrultusunda bitkiler, öncelikle Raunkiaer'in hayat formlarına göre sınıflandırılmış, yerleşkede endemizm oranı saptanmış ve daha sonra yerleşkenin antropojenik değişim derecesi saptanmıştır. Başta endemik türler olmak üzere birçok bitki türü için habitat olan alanların eğitim öğretim dokusu için yapılaşmaya açıldığı belirlenmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 18.03.2019

Kabul Tarihi : 11.09.2019

Anahtar Kelimeler

Biyolojik çeşitlilik
Raunkiaer'in hayat formları
Synantropizm indeksi

Determination of the Effect of Increasing Settlement on Flora in Çukurova University Campus

ABSTRACT

The primary strategy adopted in the world for the protection of the species is the declaration of protected areas. Besides these categories, university campuses like Çukurova University are also important areas where biological diversity can be protected / maintained, as well as in areas where government institutions are located at. Çukurova University Campus, which constitutes the research area, covers an area of 1 977.26 hectares. Although this area has rich biodiversity, it is threatened by an increased structuring process. The aim of this study is to determine the effects of the buildings on the flora of the Çukurova University Campus in the context of increased education and training. In line with its objective, the campus' 1987 land uses and 2018 land uses were classified by ArcGIS 10.0 computer software. In line with the data obtained in the scope of area studies, plants were classified primarily according to the life forms of Raunkiaer, was determined to the rate of endemism on campus, and then the degree of anthropogenic change of the campus was determined. It has been determined that the areas that are habitats for many plant species, especially endemic species, are opened to construction.

Research Article

Article History

Received : 18.03.2019

Accepted : 11.09.2019

Keywords

Biological diversity
Raunkiaer life forms
Synantropizm index

GİRİŞ

Hızla gelişen teknolojinin bilinçsiz kullanımı, sanayi devrimi ile fosil yakıt kullanımındaki artış, artan nüfus ve buna paralel olarak artan ve değişen tüketim alışkanlıkları ile kentleşme gibi insan etkinlikleri sonucu dünyada var olan doğal denge, doğanın aleyhinde hızla değişmektedir (Yücel, 2005). Söz konusu olumsuz değişimler ilk başlarda hava, su, toprak ve gürültü kirliliği gibi çeşitli çevre sorunları ile sonuçlanırken; günümüzde türlerin ve yaşam alanlarının varlığının tehlikeye girmesi ve/veya yok olması olarak ciddi boyutlara ulaşmıştır.

Doğada süregelen insan baskısının olumsuz etkilerini önlemek amacıyla türlerin ve yaşam alanlarının, buna ek olarak kültürel, jeolojik, arkeolojik ve tarihi değerlerin korunması gerekliliği fikri oluşmuştur (Demirel, 2005). Bu fikir gereği oluşturulan korunan alanlar Gülez (1992)'in de belirttiği gibi, tehlike altında, nadir ve ender bulunan türler ile yaşam alanlarının korunmasını sağlayarak; dünyadaki ekolojik dengenin ve süreçlerin devamlılığını garanti altına almayı amaçlamaktadır. Söz konusu amacın gerçekleştirilmesinde ise korunan alanların sayıca ve alansal olarak artırılması tüm ülkelerce birincil strateji olarak kabul edilmiş ve 100 yılı aşkın bir süredir birbirinden farklı koruma kategorileriyle korunan alanlar ilan edilmiştir (Chape ve ark., 2005; Liu ve ark., 2010; Lu ve Qu, 2018, Hummel ve ark., 2019).

Kültürel ve biyolojik çeşitlilik açısından çok zengin olan ülkemizde ise biyolojik çeşitlilik, milli parklar, doğa koruma alanları ve doğal sitler gibi 10 farklı kategoride 60 yılın üzerinde bir süredir korunmaktadır. 27 Aralık 1996 tarihinde Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi'ne de taraf olan ülkemizde, biyolojik çeşitliliğin korunması amacıyla gerçekleştirilen alansal koruma çalışmaları, korunan alanların sayıca artırılmasıyla devam etmektedir. Ancak biyolojik çeşitliliğin korunmasında sadece koruma altına alınmış alanlar değil, henüz bir koruma statüsü olmayan, buna rağmen yüksek düzeyde biyolojik çeşitliliğe sahip olup korunması gerekli alanlar da bulunmaktadır. Ülkemizde özellikle devlet kurumlarının bulunduğu alanlar ve Çukurova Üniversitesi Yerleşkesi gibi üniversite yerleşkeleri de doğru planlama süreci ile biyolojik çeşitliliğin korunmasına katkı sağlayacak önemli alanlardandır.

Araştırmaya konu olan Çukurova Üniversitesi Yerleşkesi, Adana kentinin kuzeyinde Seyhan Baraj Gölü kıyısında yer alması, sınırları içinde değişken topografik yapı özelliklerine sahip olması, Yaban Hayatı Geliştirme Sahası sınırları içerisinde yer alması ve en önemlisi de kentleşme baskısından korunmuş olması gibi nedenlerle biyolojik çeşitlilik açısından oldukça zengindir. Yerleşkenin doğal yapısı

kapsamında yapılan önceki çalışmalar da yerleşkenin zengin biyolojik çeşitliliğini kanıtlamıştır. Yerleşkenin ilk kurulduğu yıllarda Türkmen (1987) tarafından yapılan araştırma sonuçlarına göre yerleşkede 67 familya ve 265 cinse ait 415 bitki türü saptanmış, ayrıca türlerin habitat ve yaşam formları açısından çeşitliliğine de vurgu yapılmıştır. Ünal (1995), doğal bitki örtüsünün rejenerasyon süreci içerisinde ortaya çıkan bitki taksonlarının sosyolojik özellikleri konusunda detaylı araştırmalar gerçekleştirerek, yerleşkedeki ağaçlandırma alanlarını; ibrelili türler ve yapraklı türler olmak üzere iki sınıfta saptamıştır. Göçük (1996) ise gerçekleştirdiği araştırmasında yerleşkenin soğanlı, yumrulu ve rizumlu türler bakımından da zenginliğini ortaya koymuştur. Gövrek (1997); Altunkasa ve ark. (1999) ise gerçekleştirdikleri çalışmalarında yerleşkenin doğal potansiyelini belirleyerek, bu potansiyel kapsamında farklı biyotop özellikleri gösteren alanların çeşitliliğini ortaya koyarak, bu alanların biyolojik çeşitlilik için önemini vurgulamışlardır. Darıcı ve ark. (2016) ise dünyanın pek çok ülkesini temsil eden ağaç ve çalıların Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinde yetiştiğini belirttikleri çalışmalarında yerleşkenin bir botanik bahçesi kadar zengin olduğunu belirtmişlerdir.

Ülkemizin biyolojik çeşitlilik açısından en önemli yerleşkelerinden biri olan Çukurova Üniversitesi, her yıl açılan yeni fakülteler ve buna bağlı olarak artan karayolu ulaşım ağı nedeniyle önemli bir yapılaşma baskısı altındadır. Yapılaşmanın biyolojik çeşitlilik üzerine en belirgin olumsuz etkisi de bitki türlerinin yetişme ve yaşama alanlarının daralması ve/veya yok olması şeklinde kendini göstermektedir. Araştırma alanında gerçekleştirilen farklı çalışmalarla bu etki, farklı yıllar için belirlenmiştir (Türkmen, 1987; Ünal, 1995; Göçük, 1996; Gövrek, 1997; Altunkasa ve ark., 1999). Ancak özellikle 2010 yılı sonrasında yerleşke yapılaşma süreci geçmiş yıllara göre hız kazanmış ve yapılaşma alanı, yerleşkenin florası için oldukça önemli alanlar olan yerleşke güneydoğusuna doğru yönelmiştir. Bu durum da flora üzerinde önemli baskılara neden olmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinde hızla artan yapılaşma sürecinin flora üzerindeki etkisini belirlemek ve biyolojik çeşitliliği korumaya yönelik çözüm önerileri geliştirmektir.

MATERYAL ve METOT

Araştırma alanını Çukurova Üniversitesi Yerleşkesi oluşturmaktadır. Çukurova Üniversitesi Yerleşkesi, Adana kenti kuzeyinde, Sarıçam ilçe sınırları içerisinde, Seyhan Barajı Gölü'nün doğusunda yer almakta olup, coğrafik konum olarak 37°00'34" – 37°05'00" kuzey enlemleri ile 35°20'15"–35°23'30" doğu boylamları arasındaki 1 977.26 hektarlık bir

alanı kapsamaktadır. Alanın kuzeyinde Menekşe Köyü, doğusunda Koza Arena Stadyumu (eski asfalt şantiyesi) ile Sofulu Mahallesi, güneyinde TEM-90 Otoyolu, Köprülü, Kışla, PTT Evleri Mahalleleri ve DSİ kanalı, batısında Seyhan Baraj Gölü yer almaktadır (Şekil 1).

30.11.1973 tarihinde çıkan 1786 Sayılı Kanun ile 2 Fakülte olarak kurulan Çukurova Üniversitesi'nde, 2019 yılı Ocak ayı itibarıyla 18 Fakülte, 4 Enstitü, 4 Yüksekokul, 12 Meslek Yüksekokulu, 1 Devlet Konservatuvarı ile 25 Araştırma ve Uygulama Merkezi ile eğitim, araştırma ve bilimsel faaliyetler sürdürülmektedir.

Araştırmada yerleşkedeki artan yapılaşma sürecinin floraya olan etkisi, 5 aşamada belirlenmiştir.

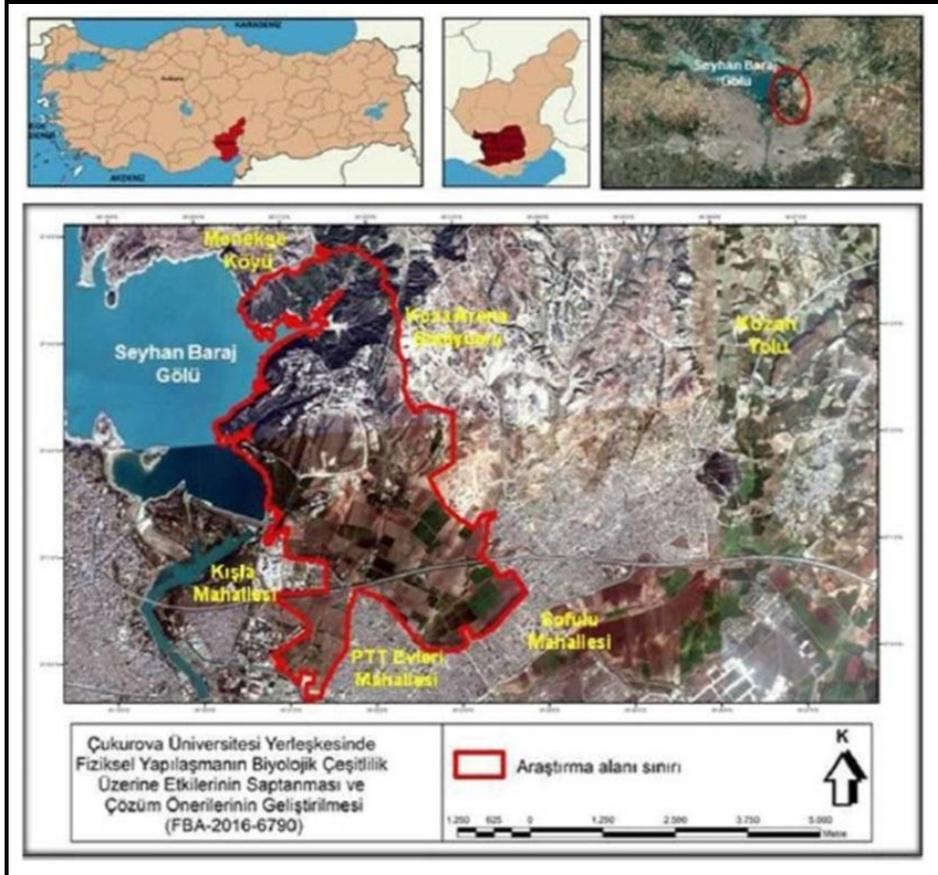
Yerleşkede yapısal değişimin mevcut floraya etkisinin belirlenmesi ve günümüz floristik değişimin belirlenmesi için Çukurova Üniversitesi Yerleşkesi alanındaki ilk floristik çalışma olan Türkmen (1987) referans alınmıştır. Dolayısıyla araştırmada ilk olarak yerleşkenin 1987 yılı alan kullanımları ile günümüz (2018 yılı) alan kullanımları Googleearth uydu görüntüsü verileri kullanılarak, ArcGIS 10.0 bilgisayar yazılımı ile sınıflandırılmıştır.

Araştırmanın ikinci aşamasında, yerleşkenin günümüz florasının belirlenmesi için floristik arazi çalışmaları yapılmıştır.

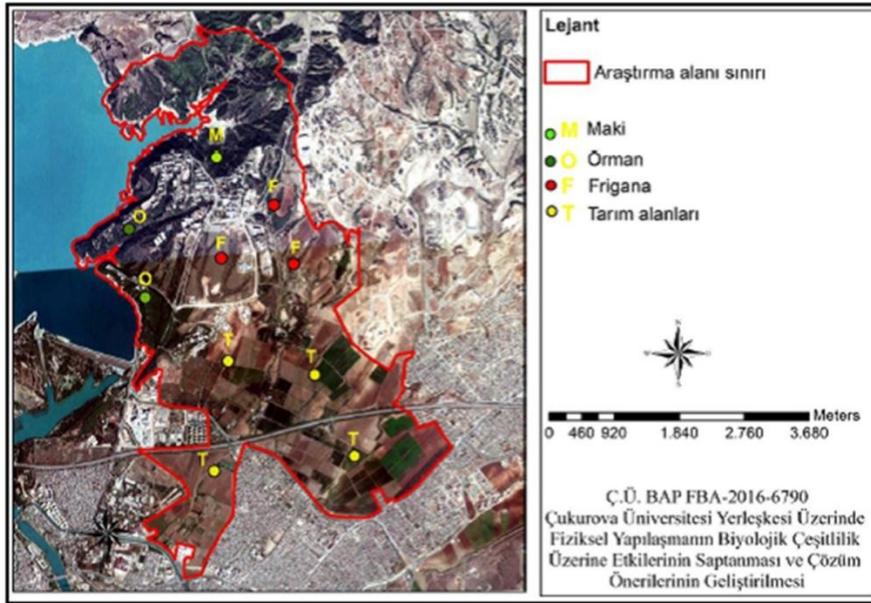
Araştırma alanında eksiksiz bir floristik tarama yapabilmek için öncelikle alan, farklı habitat özellikleri gösteren Şekil 2'deki bölgelere ayrılmış ve bu bölgelere göre floristik arazi çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Floristik arazi çalışmaları, en az ayda bir kez olmak üzere, 2016-2018 yıllarını kapsayan 2 yıl boyunca yapılmıştır. Arazi çalışmaları sırasında mevcut bitki türleri yerinde fotoğraflanarak teşhis edilmiş, teşhis edilemeyenlerden örnek alınarak başta Flora of Turkey (Davis, 1965-1985) olmak üzere çeşitli flora ile ilgili kaynaklar (Güner ve ark., 2000; Güner ve ark., 2012) yardımıyla tanıları yapılmıştır. Alanda saptanan endemik ve nadir türlerin tehlike sınıfları ise Ekim ve ark. (2000), IUCN (2012), IUCN (2016)'ye göre belirlenmiştir. Bu aşamada ayrıca yerleşkede endemizm oranı da saptanmıştır.

Araştırmanın üçüncü aşamasında arazi çalışmaları kapsamında elde edilen veriler doğrultusunda bitkiler, öncelikle Raunkiaer'in hayat formlarına göre sınıflandırılmıştır (Raunkiaer, 1934). Daha sonra yerleşkenin antropojenik değişim derecesi saptanmıştır. Yerleşkenin antropojenik değişim derecesinin belirlenmesinde synantropizm indeksi kullanılmış olup, Eşitlik 1'e göre hesaplanmıştır (Jackowiak, 1990; Antipina, 2003; Kaminski, 2006).



Şekil 1. Araştırma alanının konumu



Şekil 2. Araştırma alanında floristik arazi çalışmaları için belirlenen bölgeler

Synantropizm İndeksi= $(Ap + An) / (Ap + Sp + An) \times 100$ (1)

Burada;

Apofitler (Ap) : Synantropik doğal türler (insanlar tarafından oluşturulan alanlarda yayılan doğal bitkiler).

Spontanofitler (Sp): non-synantropik doğal türler (yayılmada insan etkisi olmayan türler)

Antropofitler: (An): alien (yabancı) türler (insanlar tarafından oluşturulan alanlarda yayılan bölge için doğal olmayan bitkiler).

Yerleşkedeki bitki türlerinin önemli bir kısmı, bitkilendirme çalışmaları kapsamında oluşturulmuştur. Bu nedenle araştırmanın dördüncü aşamasında, bitkilendirme çalışmaları kapsamında kullanılan türler, doğal ve yabancı yurtlu olmak üzere iki sınıfta değerlendirilerek, tür bazında tespit edilmiştir.

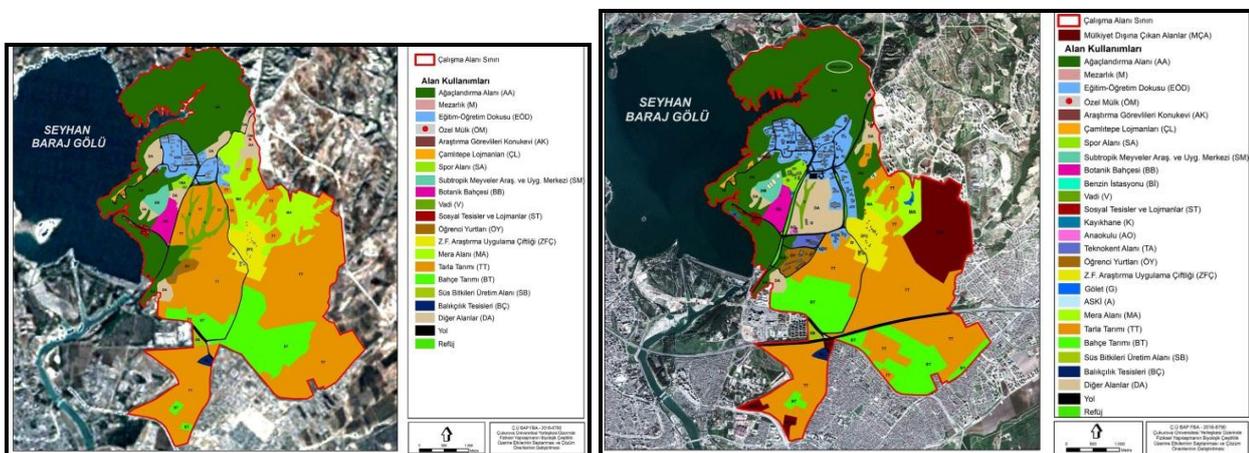
Araştırmanın beşinci ve son aşamasında, yerleşkedeki tür değişimlerinin belirlenmesi amacıyla

Türkmen (1987)'in yerleşkede gerçekleştirdiği floristik arazi çalışması bulguları ile bu araştırma kapsamında gerçekleştirilen floristik arazi çalışma bulguları karşılaştırılmış ve yerleşkede 1987 yılına göre günümüzde kaybolan ve/veya yeni gelen türler belirlenmiştir. Böylece yerleşkedeki yapılaşma sürecinin flora üzerindeki etkisi belirlenerek, yapılaşma riski altındaki alanlar ArcGIS 10.0 bilgisayar yazılımı ile haritalanmış ve bu alanlar için öneriler geliştirilmiştir.

BULGULAR

Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinin Alan Kullanım Değişimi

Araştırma alanının 1987-2018 yılları arasındaki zaman diliminde alan kullanımlarında önemli oranda bir değişim olduğu belirlenmiştir (Şekil 3). Bu değişim en belirgin olarak eğitim ve öğretim dokusu ile kara yolu ulaşım ağlarındaki artışta gözlemlenmiştir.



Şekil 3. Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinin 1987 yılı (solda) ve 2018 yılı (sağda) alan kullanımları

Yerleşkenin kurulduğu ilk dönemler olan 1980'li yıllarda araştırma alanının kuzeyinde yer alan eğitim öğretim dokusu, zaman içinde alanın güneydoğusuna doğru hızla ilerlemeye başlamıştır. Eğitim öğretim dokusu 1987 yılında 75.05 ha ile toplam alanın % 3.50'sini oluştururken, 2018 yılında 148.74 ha ile alanın % 6.90'nına ulaşmıştır. Yapılaşma nedeniyle alanın güneyinde bulunan tarım alanları ve zengin floraya sahip vadi alanları başta olmak üzere mera ve ağaçlandırma alanları da tahrip olmuştur.

Yapılaşma sürecine paralel olarak artan öğrenci ve personel sayısı nedeniyle de, hem mevcut karayolu

ulaşım ağları genişletilmiş hem de yeni ulaşım ağları oluşturulmuştur. Karayolu ulaşım ağları, hem geçtiği güzergah boyunca habitatların yok olmasına hem de geçtiği alan içinde habitatların bölünmesine neden olarak yerleşkenin biyolojik çeşitliliğini olumsuz yönde etkilemiştir.

Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinin Florası

Bu araştırma kapsamında gerçekleştirilen floristik arazi çalışmaları sonucunda yerleşke alanında 71 familya, 290 cins, 439 tür ve 454 doğal takson saptanmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinde saptanan bitki familya cins, tür ve takson sayıları

No	Familya	Cins (adet)	Tür (adet)	Takson (adet)
1	AMARANTHACEAE	1	2	2
2	ANACARDIACEAE	3	5	5
3	APIACEAE	13	17	17
4	APOCYNACEAE	1	1	1
5	ARACEAE	1	1	1
6	ARALIACEAE	1	1	1
7	ASPARAGACEAE	1	1	1
8	ASTERACEAE	43	59	64
9	BORAGINACEAE	9	10	10
10	BRASSICACEAE	13	14	14
11	CAMPANULACEAE	2	3	3
12	CAPPARACEAE	1	1	1
13	CAPRIFOLIACEAE	1	1	1
14	CARYOPHYLLACEAE	7	10	11
15	CHENOPODIACEAE	1	3	3
16	CISTACEAE	3	8	8
17	CONVOLVULACEAE	1	4	4
18	CUCURBITACEAE	1	1	1
19	CUSCUTACEAE	1	1	1
20	CYPERACEAE	3	4	4
21	DIPSACACEAE	2	2	2
22	EPHEDRACEAE	1	1	1
23	EQUISETACEAE	1	1	1
24	ERICACEAE	2	2	2
25	EUPHORBIACEAE	4	9	9
26	FABACEAE	25	66	67
27	FAGACEAE	1	1	1
28	GENTIANACEAE	2	2	2
29	GERANIACEAE	2	6	7
30	HYPERICACEAE	1	3	3
31	ILLECEBRACEAE	1	1	1
32	IRIDACEAE	4	5	5
33	JUNCACEAE	1	1	1
34	LAMIACEAE	15	17	17
35	LAURACEAE	1	1	1
36	LILIACEAE	13	22	22
37	LINACEAE	1	2	2
38	MALVACEAE	5	7	7
39	MORACEAE	1	1	1
40	MYRTACEAE	1	1	1
41	OLEACEAE	4	4	5
42	ORCHIDACEAE	3	4	4

43	OROBANCHACEAE	1	1	1
44	OXALIDACEAE	1	2	2
45	PAPAVERACEAE	4	5	5
46	PINACEAE	1	1	1
47	PLANTAGINACEAE	2	6	6
48	PLUMBAGINACEAE	1	1	1
49	POACEAE	32	49	52
50	POLYGALACEAE	1	2	2
51	POLYGONACEAE	2	3	3
52	PORTULACACEAE	1	1	1
53	PRIMULACEAE	2	2	3
54	RANUNCULACEAE	6	12	14
55	RESEDACEAE	1	1	1
56	RHAMNACEAE	3	4	4
57	ROSACEAE	5	5	5
58	RUBIACEAE	5	8	8
59	RUTACEAE	1	1	1
60	SANTALACEAE	1	1	1
61	SCROPHULARIACEAE	7	12	12
62	SOLANACEAE	3	4	4
63	STYRACACEAE	1	1	1
64	TAMARICACEAE	1	1	1
65	THYMELAEACEAE	2	2	2
66	TYPHACEAE	1	1	1
67	URTICACEAE	1	1	1
68	VALERIANACEAE	1	1	1
69	VERBENACEAE	3	3	3
70	VITACEAE	1	1	1
71	ZYGOPHYLLACEAE	1	1	1
Toplam		290	439	454

Bu 454 taksondan 1 tanesi Pteridophyta (eğreltiler), 453 tanesi Spermatophyta (Tohumlu veya çiçekli bitkiler) bölümüne (division) aittir. Bu taksonlar içerisinde 2 tanesi Gymnospermae (Açıktohumlu), 452 tanesi Angiospermae (Kapalıtohumlu) alt bölümüne dahildir. Angiospermae alt bölümüne dahil bitkilerden 91 tanesi Monokotiledon (Tekçenekli) sınıfında yer alırken, 363 tanesi Dikotiledon (Çiftçenekli) sınıfında yer almaktadır.

Yerleşkedeki Taksonların Hayat Formlarına Göre Sınıflandırılması

Araştırma alanında tespit edilen taksonların Raunkiaer'in hayat formlarına göre sınıflaması, Şekil 4'de belirtilmiştir.

Şekil 4'de belirtildiği gibi, hayat formları açısından Yerleşkedeki taksonların yarısı terofitlerden, % 22'si hemikriptofitlerden, % 10'u ise geofitlerden oluşmaktadır. Yerleşkede hayat formları açısından en az bulunan takson ise % 5 ile kamefitlerdir.

Hayat formlarına göre araştırma alanında bulunan türlerin % 13'ü odunsu karakterde, geri kalanının ise otsu karakterde olduğu tespit edilmiştir.

Yerleşkedeki Endemik Bitkiler

Yerleşkede endemizm oranı ise % 4.4 bulunmuş olup,

yerleşke alanındaki toplam 21 taksonun Türkiye için endemik olduğu saptanmıştır. Bu taksonlar Çizelge 2'de tehlike sınıfları ile verilmiştir.

Endemik türlerin habitatları incelendiğinde %19'unun (4 takson) daha korunaklı sayılabilecek maki ve orman alanlarında yaşadığı, % 42'sinin (9 takson) frigana, % 38'inin (8 takson) terk edilmiş tarım alanlarında yer aldığı belirlenmiştir. Buna göre büyük çoğunluğunun yaşadığı alanlar, alan kullanımlarının değişmesi tehdidi ile karşı karşıyadır. Yerleşkedeki endemik türlerden IUCN tehlike sınıflarına göre 4 tür VU (Vulnerable-Duyarlı), 4 tür CR (Critically Endangered-Kritik), 7 tür LC (Least Concern-Düşük riskli) ve 6 tür de NT (Near Threatened-Tehdite yakın) tehlike sınıflarına girmektedir.

Yerleşke Alanında Antropojenik Değişim Derecesi

Araştırmanın bu bölümünde türlerin antropojenik değişim derecesi, synantropizasyon indeksinin hesaplanması ile belirlenmiştir. Floristik arazi çalışmaları ve yapılan önceki çalışmalar doğrultusunda, araştırma alanındaki bitki türleri Apofitler, Spontanofitler ve Antropofitler olarak sınıflandırılmıştır (Çizelge 3 ve Şekil 5).

Yerleşkedeki bitki türlerinin % 25'i apofitlerden, % 9'u antropofitlerden ve % 66'sı da spontanofitlerden

oluşmaktadır. Şekil 5'deki veriler kullanılarak, araştırma alanının antropojenik değişim derecesi hesaplanmış ve % 33.5 bulunmuştur.

Yerleşkede Bitkilendirme Çalışmaları ve Kullanılan Türler

Yerleşkedeki bitkilendirme çalışmaları kuruluş

yıllarından itibaren sürdürülmektedir. Kuruluş yıllarında çam türleri (*Pinus* sp.), servi türleri (*Cupressus* sp.), yalancı akasya (*Robinia pseudoacacia*) ve okaliptüs (*Eucalyptus camaldulensis*) başta olmak üzere çeşitli türlerle bitkilendirmeler yapılmıştır.

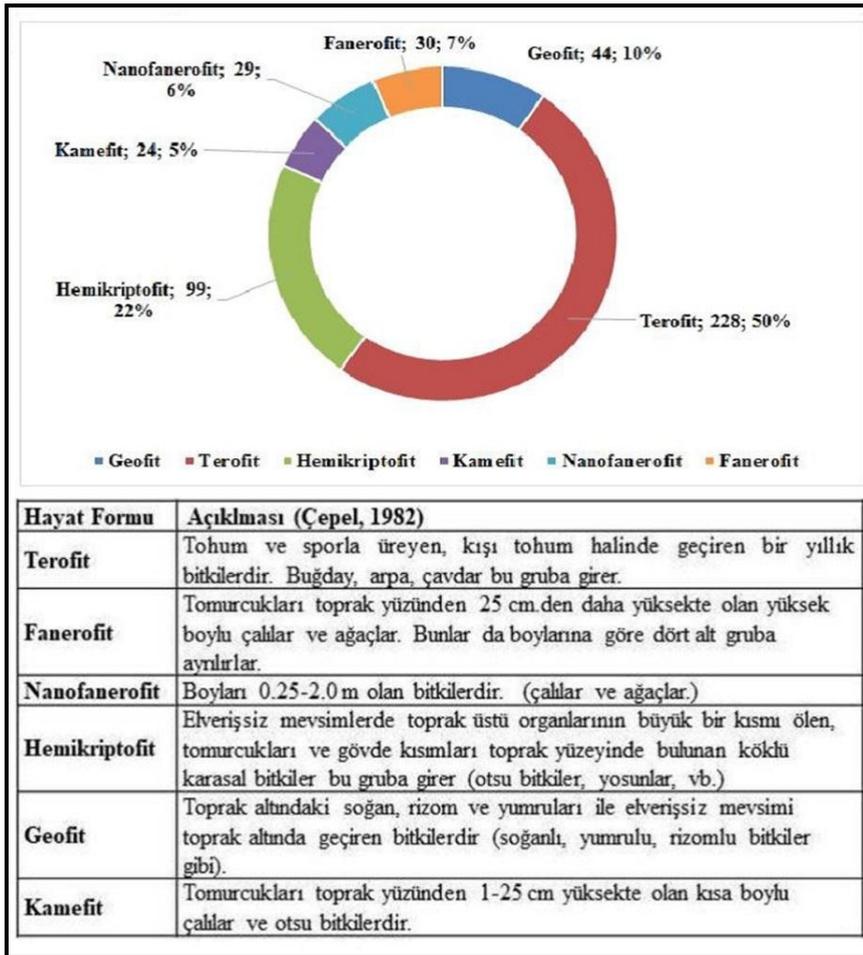
Çizelge 2. Yerleşke alanı endemik bitkileri, tehlike sınıfları, hayat formları ve habitatları IUCN (2012, IUCN, 2016)

No	Adı	Türkçe adı	IUCN tehlike sınıfı*	Hayat Formu	Habitat
APIACEAE					
1	<i>Bupleurum polyactis</i> Post ex Snogerup	Koca şeytanayağı	VU	Terofit	Maki
ASTERACEAE					
2	<i>Centaurea calcitrapa</i> L. subsp. <i>cilicica</i> (Boiss. et Bal.) Wagenitz	Çobanzıplatan	CD	Terofit	Terkedilmiş Tarım Alanları
3	<i>Centaurea haradjianii</i> Wagenitz	Kaputkulak	VU	Hemikriptofit	Terkedilmiş Tarım Alanları
4	<i>Centaurea solstitialis</i> L. subsp. <i>carneola</i> (Boiss.) Wagenitz	Al kababaş	NT	Terofit	Terkedilmiş Tarım Alanları
5	<i>Centaurea solstitialis</i> L. subsp. <i>pyracantha</i> (Boiss.) Wagenitz	Kababaş dikenli	NT	Terofit	Terkedilmiş Tarım Alanları
6	<i>Onopordum boisseri</i> Willk.	Kahve dikenli	NT	Hemikriptofit	Frigana
FABACEAE					
7	<i>Onobrychis tournefortii</i> (Willd.) Desv.	Evliya otu	LC	Hemikriptofit	Frigana
8	<i>Trifolium aintabense</i> Boiss. et Hausskn.	Antep tırfılı	NT	Terofit	Terkedilmiş Tarım Alanları
9	<i>Trigonella kotschy</i> Fenzl	Ak boyotu	LC	Terofit	Terkedilmiş Tarım Alanları
HYPERICACEAE GUTTIFARAE					
10	<i>Hypericum polyphyllum</i> Boiss. et Bal. subsp. <i>polyphyllum</i> Boiss. et Bal.	Hoş kantaron	NT	Hemikriptofit	Frigana
LAMIACEAE					
11	<i>Stachys annua</i> (L) L. subsp. <i>cilicica</i> (Boiss.) Bhattacharjee	Dağ çayçesi	LC	Terofit	Ormanlık Alanlar
12	<i>Stachys sparsipilosa</i> Bhattacharjee et Hub. Mor.	Seyrek deliçay	LC	Hemikriptofit	Terkedilmiş Tarım Alanları
13	<i>Thymus cilicicus</i> Boiss. et Bal.	Kılıç kekliği	LC	Kamefit	Frigana
LILIACEAE					
14	<i>Allium gayi</i> Boiss.	Küçük soğan	NT	Geofit	Frigana
15	<i>Bellevalia modesta</i> Wendelbo	Tarla sümbülü	CD	Geofit	Frigana
16	<i>Hyacinthella glabrescens</i> (Boiss.) K. Persson et Wendelbo	Köse sümbül	CD	Geofit	Frigana
17	<i>Hyacinthella heldreichii</i> (Boiss.) Chouard	Gece sümbülü	LC	Geofit	Frigana
18	<i>Hyacinthella hispida</i> (J. Gay) Chouard	Kıllı sümbül	VU	Geofit	Terkedilmiş Tarım Alanları
19	<i>Muscari muscarimi</i> Medikus	Müşkürüm	VU	Geofit	Frigana
RHAMNACEAE					
20	<i>Rhamnus hirtellus</i> Boiss.	Has cehri	LC	Fanerofit	Maki
SCROPHULARIACEAE					
21	<i>Scrophularia trichopoda</i> Boiss. et Bal.	Üç sıraca	CD	Hemikriptofit	Maki

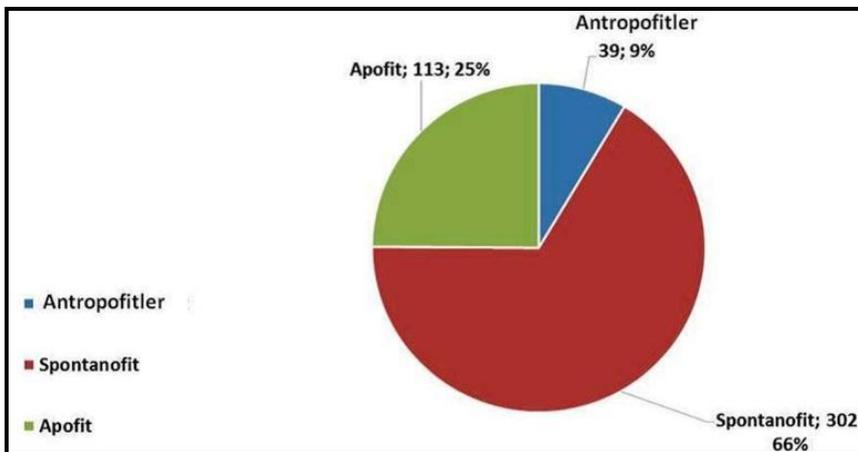
* VU-Duyarlı, CD-Korumaya tabi, LC-Düşük riskli, NT-Tehdite yakın

Çizelge 3. Türlerin antropojenik değişim indeksi değerlerinin açıklaması

Antropojenik Dönüşüm Sınıfı	Açıklaması
Apofitler (Ap)	Synantropik doğal türler (insanlar tarafından oluşturulan alanlarda yayılmacı doğal türler/antropofilik türler).
Spontanofitler (Sp)	Non-synantropik doğal türler (doğal alanlara özgü insan aktivitelerinden olumsuz etkilenen türler/antropofobik türler).
Antropofitler (An)	Alien yani alanda önceden olmayan yabancı türler (araştırma alanına sonradan katılan antropofilik/synantropik ve non-synantropik/antropofobik türler).



Şekil 4. Taksonların hayat formları ve yüzdelerinin dağılımları



Şekil 5. Türlerin antropojenik değişim indeksi değerlerine dağılımları

Ancak, bu konuda belirli bir plan çerçevesinde yapılmış projeler bulunmamaktadır. Yeni yapılan bazı birimlerin çevreleri için bazı peyzaj projeleri üretilmekle birlikte, bunlar yerleşke geneli ile oranlandığında küçük parçalar halinde kalmaktadır. Aynı zamanda bu projelerin uygulanmasında da genelde sert zemin tasarımlarına ağırlık verilmekte, bitkisel tasarımda ise projelere daha az uyum sağlanmaktadır.

Araştırma alanında bitkilendirme çalışmaları

kapsamında 181 adet tür saptanmış olup, bu türlerden 138 adedi yabancı yurtdışı türlerden, sadece 43 adedi ise doğal bitki örtüsüne ait olan türlerden oluşmaktadır (Çizelge 4).

Yerleşke genelinde bitkilendirme çalışmaları kapsamında yabancı yurtdışı türlerin kullanımı yoğunudur. Kent genelinde kullanım yoğunluğu fazla olan türler yerleşke genelinde de yoğun kullanılmıştır. Örneğin kent genelinde yollar boyunca kullanılan palmiyelere yerleşkedeki yollarda da

rastlanmaktadır. Son zamanda yapılan düzenleme ile yerleşkeye giriş-çıkış yolu boyunca neredeyse 1 m arayla palmyeler dikilmiştir. Ayrıca yerleşke içindeki tüm alanlara gereğinden sık düzende çok sayıda *Ficus microcarpa* türünün bireyleri dikilmektedir. Yabancı yurtlu ve tropik bölgelere ait olan bu türü düşük sıcaklıklardan korumak amacıyla da çeşitli önlemler alınmaktadır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çukurova Üniversitesi Yerleşkesi bulunduğu bölge Akdeniz havzası içinde önemli bir koridor üzerinde yer almaktadır (Critical Ecosystem, 2017). Dolayısıyla tüm Akdeniz havzasında Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinin de içinde bulunduğu bölge, Türe ve Böcük (2010)'ün de belirttiği gibi yüksek koruma gereksinimi olan bölgeler arasındadır.

Yerleşke alanında bulunan bitki türlerinin Akdeniz Havzası, Türkiye ve Adana ili ölçeğindeki çeşitlilik durumu incelendiğinde, Türkiye'deki bitkilerin % 10.7'sini barındıran Adana İlinin toplam doğal

taksonlarının % 32.3'ünün Çukurova Üniversitesi Yerleşkesinde temsil edildiği anlaşılmaktadır (Çizelge5).

Dolayısıyla araştırma alanı olan Çukurova Üniversitesi Yerleşkesi, Darıcı ve ark. (2016)'nın da belirttikleri gibi dünyanın pek çok ülkesini temsil eden ağaç ve çalıları barındırması ve bir botanik bahçesi kadar zengin olması nedenleriyle, bitki türlerinin ve bu türlerin yaşam alanlarının korunmasında oldukça önemli bir alandır. Ancak Yerleşkenin eğitim öğretim dokusu ve ulaşım gibi yapılaşma süreci de devam etmektedir. Yerleşke yapılaşma sürecinin flora üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla, yerleşke sınırlarında flora konusunda yapılan ilk çalışma olan Türkmen (1987) referans alınarak, bu araştırma kapsamında yapılan floristik arazi çalışma bulguları ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda yerleşke florasındaki değişimler tespit edilmiş ve familya, cins, tür ve alt tür düzeyindeki değişiklikler Çizelge 6'da belirtilmiştir.

Çizelge 6. Floristik bulguların kıyaslanması

	Türkmen (1987)	Floristik arazi çalışması bulguları (2017-2018)
Familya sayısı	67	71
Cins sayısı	265	290
Tür ve tür altı takson sayısı	415	454

Bu araştırmanın floristik bulguları değerlendirildiğinde, yerleşkenin 30 yıllık değişim süreci kapsamında Türkmen (1987) bulgularına göre yerleşke florasında takson kaybı olmadığı, yerleşke florasına 4 yeni familya, 25 cinse ait 39 tür veya tür altı takson eklendiği tespit edilmiştir. Bunların 18 tanesi (*Arum dioscorides*, *Bidens bipinnata*, *Carduus pycnocephalus* subsp. *albidus*, *Chrysanthemum segetum*, *Taraxacum hellenicum*, *Nonea ventricosa*, *Hirschfeldia incana*, *Ochtodium aegyptiacum*, *Vaccaria pyramidata*, *Stellaria media*, *Medicago sativa*, *Trifolium pratense*, *Geranium molle*, *Ficus carica*, *Oxalis pes-caprae*, *Veronica polita*, *Anagallis arvensis* var. *arvensis*, *Adonis microcarpa*) synantropik doğal taksonlar, geriye kalan 21 tanesi ise non-synantropik doğal taksonlardır (Çizelge 7).

Söz konusu alanda takson sayısı artışının nedenlerinin başında, alanın dışarıdan gelen kentsel yapılaşma baskısından korunması gelmektedir.

Bu araştırma sonuçları ile kayda geçen yeni taksonlarla yerleşkenin tür ve tür altı takson sayısı 454, cins sayısı 290 ve familya sayısının 71 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, yerleşke alanında endemizm oranının % 4.4 olduğu belirlenerek, toplam 21 taksonun Türkiye için endemik olduğu saptanmıştır. Çizelge 7'de belirtilen yeni eklenen taksonlar, hayat formlarına göre sınıflandırılmış ve Türkmen (1987)'in gerçekleştirdiği araştırma bulguları ile karşılaştırılarak Çizelge 8'de taksonların hayat

formlarına göre değişimleri tespit edilmiştir. Yeni eklenen taksonların özellikle terofit formunda artış olduğu gözlenmiştir. Yerleşkenin terofitler olarak oldukça zengin bir alan olduğu saptanmıştır.

Yerleşkeye yeni eklenen taksonların habitat dağılımları (Şekil 6) değerlendirildiğinde ise, özellikle yerleşkedeki terk edilmiş tarım alanlarının ve friganaların yerleşkeye yeni eklenen taksonlar için önemli alanlar olduğu belirlenmiştir.

Yeni eklenen taksonlarla birlikte tüm yerleşke florasındaki taksonlar değerlendirildiğinde ise, en fazla takson içeren Fabaceae familyasının % 23.9'u (16 takson) maki, % 55.2'si (37 takson) terk edilmiş tarım alanları, % 9 (6 takson) frigana, % 11.9 (8 takson) nemli yerlerde yer aldığı saptanmıştır.

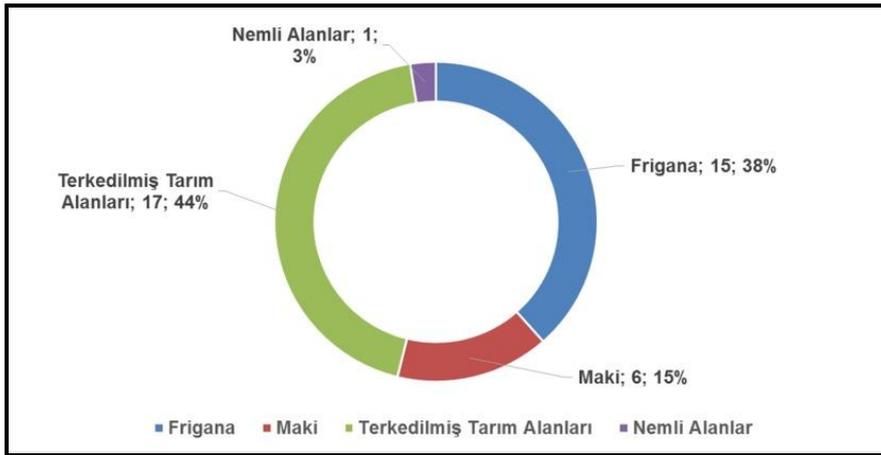
Bu familya üyelerinden sadece % 23.9'u daha korunaklı alanlar olarak kabul edilebilecek maki formasyonu içinde yaşam alanı bulmuştur. Diğer taksonlar ise özellikle yeni yapılaşmaların olduğu terk edilmiş tarım alanları, frigana ve nemli alanlarda yaşamaktadır. Benzer şekilde Asteraceae familyasının sadece % 15.6'sı (10 takson) daha korunaklı sayılabilecek maki içinde, Poaceae familyası üyelerinin % 21.1'i (11 takson) maki ve orman alanlarında, Liliaceae familyasının % 27.27'si (6 takson) de yine daha korunaklı sayılabilecek maki ve orman alanlarında yaşamaktadır.

Çizelge 7. Yerleşke florasında yeni kayda geçen taksonlar (**koyu renkli olanlar synantropik**, diğerleri non-synantropik taksonlardır)

Sıra	Familyası	Adı	Habitatı
1	Araceae	<i>Arum dioscorides</i> SM.	Frigana
2	Araliaceae	<i>Hedera helix</i> L.	Maki
3	Asparagaceae	<i>Ruscus aculeatus</i> L.	Maki
4	Asteraceae	<i>Bidens bipinnata</i> L.	Frigana
5		<i>Carduus pycnocephalus</i> L. subsp. <i>albidus</i> (BIEB.) KAZMI	Terkedilmiş Tarım Alanları
6		<i>Chrysanthemum segetum</i> L.	Terkedilmiş Tarım Alanları
7		<i>Inula viscosa</i> (L.) AITON	Frigana
8		<i>Taraxacum hellenicum</i> DAHLST	Terkedilmiş Tarım Alanları
9	Boraginaceae	<i>Nonea ventricosa</i> (SM.) GRISEB.	Terkedilmiş Tarım Alanları
10	Brassicaceae	<i>Hirschfeldia incana</i> (L.) LAG.-FOSS	Terkedilmiş Tarım Alanları
11		<i>Ochtodium aegyptiacum</i> L.	Terkedilmiş Tarım Alanları
12		<i>Vaccaria pyramidata</i> MEDIK.	Terkedilmiş Tarım Alanları
13	Caryophyllaceae	<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	Frigana
14	Cistaceae	<i>Fumana arabica</i> L.	Frigana
15	Ericaceae	<i>Arbutus andrachne</i> L.	Maki
16	Fabaceae	<i>Cercis siliquastrum</i> L.	Maki
17		<i>Medicago sativa</i> L.	Terkedilmiş Tarım Alanları
18		<i>Pisum sativum</i> L. subsp. <i>sativum</i> L. var. <i>arvense</i> POIRET	Terkedilmiş Tarım Alanları
19		<i>Trifolium pratense</i> L.	Terkedilmiş Tarım Alanları
20	Geraniaceae	<i>Geranium molle</i> L.	Terkedilmiş Tarım Alanları
21	Liliaceae	<i>Hyacinthella glabrescens</i> (BOISS.) K. PERSSON ET WEND.	Frigana
22		<i>Hyacinthella heldreichii</i> (BOISS.) CHOUARD	Frigana
23		<i>Hyacinthella hispida</i> (J. GAY) CHOUARD	Terkedilmiş Tarım Alanları
24		<i>Muscari tenuiflorum</i> TAUSCH	Frigana
25		<i>Smilax excelsa</i> L.	Frigana
26	Moraceae	<i>Ficus carica</i> L.	Frigana
27	Orchidaceae	<i>Ophrys umbilicata</i> DESF.	Frigana
28		<i>Orchis italica</i> POIRET	Frigana
29	Oxalidaceae	<i>Oxalis pes-caprae</i> L.	Terkedilmiş Tarım Alanları
30	Plantaginaceae	<i>Misopates orontium</i> (L.) RAFIN.	Frigana
31	Poaceae	<i>Phragmites australis</i> (CAV.) TRIN. EX STEUDEL	Nemli yerler
32	Primulaceae	<i>Anagallis arvensis</i> L. var. <i>arvensis</i> L.	Terkedilmiş Tarım Alanları
33	Ranunculaceae	<i>Adonis microcarpa</i> DC.	Terkedilmiş Tarım Alanları
34		<i>Clematis vitalba</i> L.	Frigana
35	Rhamnaceae	<i>Rhamnus oleoides</i> L.	Maki
36	Rosaceae	<i>Rosa canina</i> L.	Maki
37	Rubiaceae	<i>Putoria calabrica</i> (L. FIL.) DC.	Terkedilmiş Tarım Alanları
38	Scrophulariaceae	<i>Anarrhinum orientale</i> BENTHAM	Frigana
39		<i>Veronica polita</i> FRIES	Terkedilmiş Tarım Alanları

Çizelge 8. Hayat formlarındaki değişimin kıyaslanması

	Geofit	Terofit	Hemikriptofit	Kamefit	Nanofanerofit	Fanerofit	Toplam
Yeni Veriler	43	229	99	24	29	30	454
Türkmen (1987)	35	211	98	21	28	22	415
Değişim	8	18	1	3	1	8	39



Şekil 6. Yeni eklenen taksonların habitatlara göre dağılımı

Endemik türlerin yaşam alanları incelendiğinde ise % 19'unun (4 takson) daha korunaklı sayılabilecek maki ve orman alanlarında yaşadığı, % 42'sinin (9 takson) frigana, % 38'inin (8 takson) terkedilmiş tarım alanlarında yaşadığı belirlenmiştir. Yerleşkedeki endemik türlerden IUCN tehlike sınıflarına göre VU sınıfındaki 4 tür ve CR sınıfındaki 4 tür makilik alanlarda, terkedilmiş tarım alanları ve friganada; NT sınıfındaki 6 tür ise frigana ve tarım alanlarında yer almaktadır. Dolayısıyla IUCN kategorilerine göre endemik türler için frigana, maki ve terkedilmiş tarım alanları oldukça önemli yaşam alanlarıdır.

Yerleşkenin coğrafi özellikler bakımından zengin olması, bir bölümünün korunan alan sınırları içerisinde olması (Şekil 7) ve alanın kamu alanı olmasından dolayı kent kaynaklı yapılaşma baskısından korunması, yerleşkedeki flora zenginliğinin önemli nedenleri arasındadır. Ayrıca yerleşkedeki artan eğitim öğretim dokusu kaynaklı yapılaşma süreci her ne kadar doğal yapı üzerinde olumsuz etkilere neden olsa da, söz konusu yapılaşan alanlar çevresinde yapılan bitkilendirme çalışmaları da florada artan takson sayısının nedenleri arasında yer almaktadır. Ancak söz konusu bitkilendirme çalışmaları yerleşke genelinde yapılan bir planlama kapsamında oluşturulmamakta, yeni yapılaşan alanlar çevresinde projelerle oluşturulmaktadır. Bu durum da yerleşkedeki yeşil alanlardan beklenen fonksiyonların elde edilememesine sadece yeşil alan miktarının arttırılmasına katkı sağlamaktadır. Oysa Çukurova Üniversitesi Yerleşkesi sadece kendi içinde değil, Adana genelinde de yaşamsal önemde bir yeşil alan niteliğindedir. Dolayısıyla Yerleşke genelinde belirli bir plan dâhilinde, doğal yapıyı koruyacak ve geliştirecek, yeşil alanlardan beklenen fonksiyonları yerine getirebilecek bir bitkilendirme yapılması ve bakım uygulamalarıyla da bu alanların sürdürülebilirliğinin sağlanması gerekmektedir. Bu kapsamda yerleşke geneli için yapılacak genel bitkilendirme esasları, sınıflandırılmış alanlara uygun olarak ele alınmalıdır. Genel olarak eğitim

dokusu içinde kullanıcıların konforuna ve eğitimlerine; ayrıca bölgenin doğal yapısına destek veren bir anlayışla bitkilendirme çalışmaları yapılmalıdır. Bu kapsamda Yerleşke alanı için hazırlanacak bir plan-proje dâhilinde bitkilendirme çalışmalarının yeniden ele alınması ve bakım-yönetim işinin kurumsallaşarak, bitkilendirme ve bakım çalışmalarına belirli bir bütçenin ayrılması gerekmektedir.

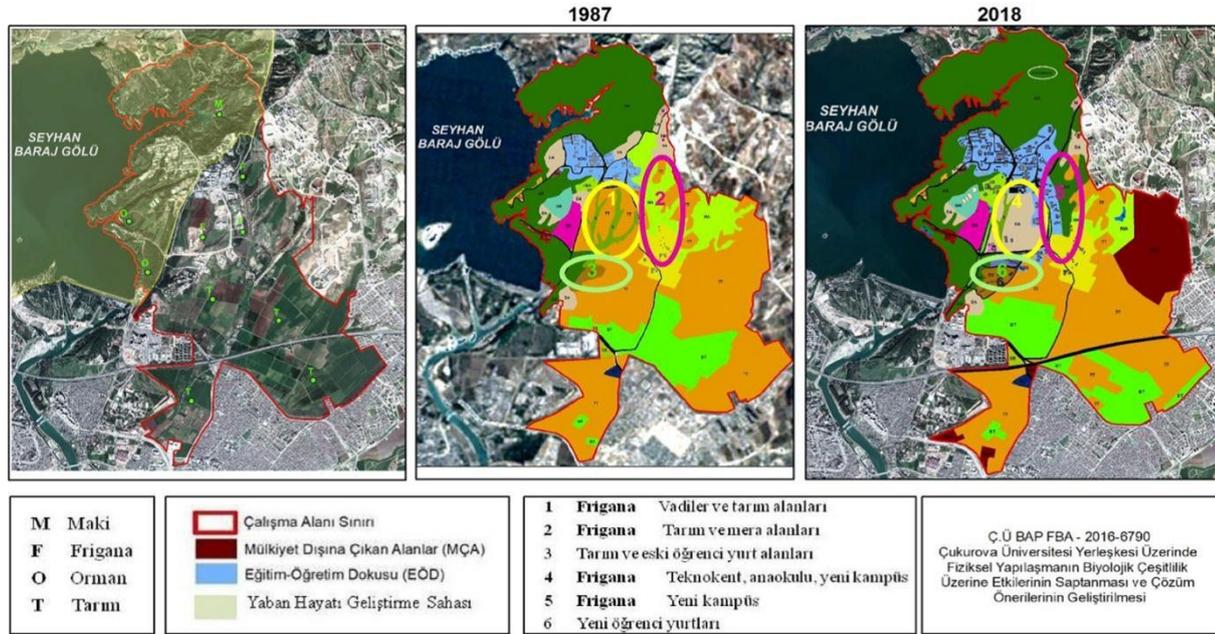
Sonuç olarak, yerleşke alanındaki mevcut doğal flora, 30 yıl öncesindeki doğal flora göre hem synantropik, hem de non-synantropik doğal türlerin yerleşmesiyle 415 taksondan 454 taksona artmıştır. Sayısal olarak gerçekleşen bu artış, florada belirgin bir değişime neden olmuştur. Yerleşkenin 30 yıl önceki florasının synantropik dönüşüm derecesi Türkmen (1987) tarafından % 27.2 olarak belirlenmişken; bu araştırma ile günümüzdeki synantropik dönüşüm derecesi % 33.5 olarak saptanmıştır. Bu değerler, yerleşke florasının synantropik değişim derecesinin gittikçe arttığını göstermektedir. Bu değişimin olumlu yönde mi yoksa olumsuz yönde mi sonuçlanacağı, ilerleyen yıllarda bu araştırmaya benzer çalışmaların yapılmasıyla daha somut olarak görülecektir. Ancak söz konusu süreç kapsamında yerleşkedeki yapılaşma sürecinin flora üzerinde yaptığı olumsuz etkiler Şekil 7'de açıkça görülmektedir. Floradaki takson sayısı her ne kadar artış göstermiş olsa da, yerleşkedeki yapılaşma süreci, taksonların yaşam alanlarına hem doğrudan, hem de dolaylı olarak zarar vermektedir. Özellikle yerleşkedeki yeni eğitim öğretim dokusu ile Teknokent alanları ve bu alanlara ulaşımı sağlayan karayolu ağlarının yoğunluğu flora için riskli alanlarda yapılandırılmaktadır. Ayrıca endemik taksonların büyük çoğunluğunun yaşadığı alanlar, alan kullanımlarının değişmesi tehdidi ile karşı karşıyadır (Şekil 7).

Şekil 7'de de görüldüğü gibi yerleşkenin kuzey ve batı kısmı yaban hayatı geliştirme sahası içerisinde yer almaktadır ve dolayısıyla da bu alanda yapısal alan

dışındaki yerler maki ve ormanlık alanlarla örtülü durumdadır. Böylece bu alanlardaki flora, yerleşkenin diğer alanlarındaki flora göre kısmen de olsa daha iyi korunmuştur.

Yaban hayatı geliştirme sahası sınırları dışında kalan alanlarda ise makinin tahribi ile oluşan frigana yer almaktadır. Şekil 7'deki 1 nolu alan flora çalışmaları için temel alınan 1987 yılında frigana olup, floranın zengin olduğu vadiler ve vadiler dışında ise tarım

yapılan alanlardır. Flora için oldukça önemli olan bu frigana alanı günümüzde (Şekil 7'deki 4 nolu alan) Teknokent, anaokulu, kongre merkezi gibi yapılaşma baskısı altında kalmıştır. Ayrıca yine 1987 yılında tarım ve mera alanı olarak kullanılan Şekil 7'deki 2 nolu frigana örtülü alan, günümüzde (Şekil 7'deki 5 nolu alan) yeni eğitim öğretim dokusu ve karayolu ulaşım ağı ile yapılaşmış ve flora geri dönülemez şekilde tahrip olmuştur.



Şekil 7. Yerleşke florası için önemli habitatların yapılaşma baskısı ile değişimi

Şekil 7'de görülen 3 nolu alan ise eski öğrenci yurtlarının olduğu alan olup, bu alan çevresi tarım alanları olarak kullanılmaktaydı. Ancak günümüzde artan öğrenci sayısı gereksinimleri doğrultusunda yeni yurtların inşaatı ve Teknokent yapısal alanları ile bu terk edilmiş tarım alanlarındaki (Şekil 7'deki 6 nolu alan) floranın da geri dönülemez şekilde yok etmiştir.

Yerleşkenin yapılaşma süreci devam etmektedir. Yeni fakülte inşaatları Şekil 7'deki 5 nolu alanın güneyine doğru devam etmektedir. Bir diğer ifadeyle yapılaşma süreci başta frigana olmak üzere, terk edilmiş ve/veya mevcutta halen tarım yapılmakta olan alanlarda devam etmektedir. Bu durumun da mevcut flora üzerindeki baskıyı artırması kaçınılmazdır.

Synantropik türler, genellikle kozmopolit ve tahribata dirençli oldukları için toprak yüzeyleri betonla kaplanmadığı sürece varlıklarını devam ettirebilmektedir. Non-synantropik türler ise hem endemik taksonları kapsamaları hem de antropojenik aktivitelere / tahribata dirençsiz olmaları nedeniyle koruma önlemlerinde ilk sırada yer almalıdır. Bu nedenle non-synantropik türlerin doğal habitatlarının (maki, frigana) ve terk edilmiş tarım alanlarının yerleşke koruması, yerleşke florasının sürdürülebilirliği için son derece önem taşımaktadır.

TEŞEKKÜR

Araştırmanın gerçekleştirilmesine maddi destekleriyle katkı sağlayan Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: FBA_2016_6790) teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Altunkasa F, Yücel M, Yılmaz KT, Atmaca M, Uslu C, İlter A 1999. Çukurova Üniversitesi Kampüsünde Fiziksel Planlamada Kullanılacak Verilerin Bilgisayar Yardımıyla Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma Projesi - Proje No: BAP-PM-96/01, Adana.
- Antipina, G. S, 2003. Urban Flora as a Component of the Urban Ecosystems in the Taiga Zone: An Example of Karelian Cities. Russian Journal of Ecology 34(4): 215-218.
- Chape S, Harrison J, Spalding M, Lysenko I 2005. Measuring The Extent And Effectiveness of Protected Areas As An Indicator For Meeting Global Biodiversity Targets. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. <http://doi.org/10.1098/rstb.2004.1592>
- Critical Ecosystem, 2017. Ecosystem Profile, Mediterranean Basin Biodiversity Hotspot. BirdLife International. <https://www.cepf.net/sites/>

- default/files/mediterranean-basin-2017-ecosystem-profile-english_0.pdf (Erişim Tarihi: 07.03.2018).
- Çepel N, 1982. Ekoloji Terimleri Sözlüğü, İ.Ü.Orman Fakültesi Yayınları No:3048/324 İstanbul.
- Darıcı C, Sağlıker H., Kızıldağ N, Gül Dİ 2016. Çukurova Üniversitesi Kampüs Bitkileri. Adana. ISBN: 978-975-487-212-5.
- Davis, PH 1965–1985. Flora of Turkey And The East Aegean Islands. Vols 1–9, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Demirel Ö 2005. Doğa Koruma ve Milli Parklar. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Genel Yayın No. 219, Fakülte Yayın No. 37, KTÜ Matbaası, Trabzon.
- Ekim T, Koyuncu M, Vural M, Duman H, Aytaç Z, Adıgüzel N 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler). Türkiye Tabiatını Koruma Derneği ve Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ankara.
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT. (edlr.) 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını.
- Güner A, Özhatay, Ekim T, Başer KHC. (eds.) 2000. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Vol 11 (Supplement 2), Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Göçük S 1996. Çukurova Üniversitesi Kampüs Alanındaki Bazı Soğanlı, Yumrulu ve Rizumlu Bitkilerin Fenolojik Özellikleri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Peyzaj Mimarlığı Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 75 sy.
- Gövrek A 1997. Çukurova Üniversitesi Kampüsü Doğal Potansiyelinin Belirlenmesi ve Biyotopların Haritalanması Üzerinde Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Peyzaj Mimarlığı Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 57 sy.
- Güleç S 1992. A Method for Evaluating Areas for National Park Status. Environmental Management, 16(6): 811-818.
- Hummel C, Poursanidis D, Orenstein D, Elliott M, Adamescu MC, Cazacu C, Ziv G, Chrysoulakis N, van der Meer J, Hummel H 2019. Protected Area Management: Fusion and Confusion with the Ecosystem Services Approach. Science of The Total Environment, 651(2), 2432-2443. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.033>
- IUCN 2016. Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 12. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee.
- IUCN 2012. Guidelines for Application of IUCN Red List Criteria at Regional and National Levels: Version 4.0. Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN. iii + 41pp. http://www.iucnredlist.org/documents/reg_guidelines_en.pdf.
- Jackowiak B 1990. Anthropogenic Changes in The Flora of Vascular Plants of Poznań. Univ. A. Mickiewicz in Poznań, 208 pp.
- Kaminski D 2006. Floristic Diversity on The Medieval Earthworks of Chelmo Land (Ziemia Chelminska) in North-West Poland. Biodiversity Research and Conservation 3(4): 344-347.
- Liu J, Ouyang Z, Miao H 2010. Environmental Attitudes of Stakeholders and Their Perceptions Regarding Protected Area-Community Conflicts: A Case Study in China. Elsevier, Journal of Environmental Management 91(11): 2254-2262.
- Lu M, Qu Y 2018. Biodiversity Conservation Development Based on Systematic Conservation Planning in Urban Areas. Energy Procedia, 153: 484-488. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.10.027>
- Raunkiaer C 1934. The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography: Oxford at the Clarendon Press. <https://archive.org/details/in.ernet.dli.2015.271790> (Erişim Tarihi: 19.03.2018)
- Tübives 2018. Türkiye Bitkileri Veri Servisi. <http://www.tubives.com/> (Erişim Tarihi: 19.03.2018).
- Türe C, Böcük H 2010. Distribution Patterns of Threatened Endemic Plants in Turkey: A Quantitative Approach for Conservation. Journal for Nature Conservation 18: 296-303.
- Türkmen N 1987. Çukurova Üniversitesi Kampüs Alanının Doğal Bitkileri, Hayat Formları ve Habitatları. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 201 sy.
- Ünal Ö 1995. Ç.Ü. Kampüsü Ağaçlandırma Alanındaki Alt Örtünün Bitki Sosyolojisi Yönünden İrdelenmesi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Lisans Tezi, 117 sy.
- Yücel M 2005. Doğa Koruma. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No:265, Ders Kitapları Yayın No: A-85, Adana.

Zeatin ve Farklı Oksin Kombinasyonlarının Önemli Tıbbi Bitki *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr.'nin *In Vitro* Mikroçoğaltımı Üzerine Etkisi

Muhammet DOĞAN

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karaman, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0003-3138-5903>

✉: mtdogan1@gmail.com

ÖZET

Bu çalışma, tıbbi bitki *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr.'nin doku kültürü teknikleriyle hızlı ve verimli bir şekilde üretilmesi üzerine Zeatin (ZEA) ve oksin kombinasyonlarının etkilerini sunmaktadır. *L. aromatica*'nın yaprak eksplantları 0.10-1.60 mg L⁻¹ ZEA ve 0.10 mg L⁻¹ indol-3-asetik asit (IAA), indol-3-butirik asit (IBA) ve naftalen asetik asit (NAA) eklenmiş Murashige ve Skoog (MS) besin ortamında altı hafta boyunca kültüre alınmıştır. Hormon uygulamaları kıyaslandığında eksplant başına maksimum sürgün sayısı 0.10 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ IBA içeren MS besin ortamında elde edilmiştir (25.29 adet), ardından 0.10 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ IBA içeren MS besin ortamında tespit edilmiştir (23.72 adet). Sürgün uzunlukları ZEA+IAA uygulamalarında 1.24-1.41 cm, ZEA+IBA uygulamalarında 1.28-1.47 cm ve ZEA+NAA uygulamalarında 1.16-1.34 cm olarak elde edilmiştir. En uzun sürgünler ZEA+IBA'nın kullanıldığı kültür ortamlarında kaydedilmiştir. Rejenere sürgünler, 0.25 mg L⁻¹ IBA içeren MS ortamında köklendirilmiş ve köklenmiş bitkiler akvaryuma başarıyla alıştırılmıştır. Sonuç olarak *in vitro* üretim için en uygun hormon kombinasyonu 0.10 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ IBA olarak tespit edilmiştir. Bu üretim protokolü, ticari olarak büyük ölçekte üretim için faydalı olabilir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 19.04.2019

Kabul Tarihi : 17.07.2019

Anahtar Kelimeler

Doku kültürü

L. aromatica

Mikroçoğaltım

Oksin

Yaprak eksplant

Zeatin

The Effect of Zeatin and Different Auxin Combinations on *In Vitro* Micropropagation of *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr., an Important Medicinal Plant

ABSTRACT

This study presents the effects of Zeatin (ZEA) and auxin combinations on the fast and efficient production of medicinal plant *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr. by tissue culture techniques. The leaf explants of *L. aromatica* were cultured on Murashige and Skoog (MS) nutrient medium supplemented with 0.10-1.60 mg L⁻¹ ZEA and 0.10 mg L⁻¹ indole-3-acetic acid (IAA), indole-3-butyric acid (IBA) and naphthaleneacetic acid (NAA) for six weeks. The maximum number of shoots per explant compared to hormone applications were obtained in MS nutrient medium containing 0.10 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ IBA (25.29), followed by in the MS nutrient medium containing 0.10 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ IBA (23.72). The shoot lengths were obtained as 1.24-1.41 cm in ZEA + IAA applications, 1.28-1.47 cm in ZEA + IBA applications and 1.16-1.34 cm in ZEA + NAA applications. The longest shoots were recorded in culture media using ZEA + IBA. The regenerated shoots were rooted on MS medium containing 0.25 mg L⁻¹ IBA and then the rooted plantlets were successfully acclimatized in an aquarium. As a result, the most suitable hormone combination for *in vitro* production was determined as 0.10 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ IBA. This production protocol may be useful for commercially large scale production.

Research Article

Article History

Received : 19.04.2019

Accepted : 17.07.2019

Keywords

Tissue culture

L. aromatic

Micropropagation

Ouxin

Leaf explant

Zeatin

GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızla artması ve buna bağlı olarak artan antropojenik aktiviteler, doğal ekosistemi hızla aşındırmakta ve çok sayıda bitki türünün doğal yaşam alanı tahrip etmektedir. Ayrıca birçok bitkinin habitatlarından aşırı toplanması, bitkilerin neslini tehlikeye sokmaktadır. Bitkilerin geleneksel yöntemler ile üretilmesi birçok kısıtlamayı beraberinde getirir. Tohum yoluyla yetiştirilen bitkinin çoğu yüksek heterozigottur ve büyüme-gelişme ve verim açısından büyük farklılıklar gösterebilir. Ayrıca, bitkilerin birçoğu kesme ve aşılama yoluyla vejetatif çoğalmaya elverişli olmadığından istenen çeşitlerin üretilmesi sınırlıdır. Bu endişe verici durumla başa çıkmak için en önemli yöntemlerin başında biyoteknolojik bir uygulama olan bitki doku kültürü gelmektedir (Sharma ve ark., 2010).

Bitki doku kültürü ışık, nem ve sıcaklık kontrollü ve aseptik koşullar altında suni bir besin ortamında bitki hücre ve dokularından yeni bitki ve bitkisel ürünlerin elde edilmesi olarak tanımlanabilir (El-Sherif, 2018). Bu kontrollü üretim sistemi, aynı genetik özelliklere sahip yüksek verimli bitkilerin üretilmesine imkan verir ve üretimde homojenlik ve standardizasyonun sağlanır (Chaturvedi ve ark., 2007). Bu teknik ile çeşitli alanlarda kullanılabilen biyoaktif bileşiklerin üretimi ve özellikle de biyolojik çeşitliliğin sürdürülebilir bir şekilde korunması sağlanabilir (Karuppusamy, 2009). 1994 yılında Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), bitki hücresi ve doku kültürü tekniklerini gıda amaçlı doğal bileşikler üretme süreci olarak desteklemiştir (Anand, 2010; Roberto ve Francesca, 2011; Diasa ve ark., 2016).

Mikroçoğaltım, bitkilerin dokularından veya tohumlarından bitkisel büyütme ve çoğaltma sürecidir (Zhou ve Wu, 2006). Mikroçoğaltım, bitki hücrelerinin ve dokularının yepyeni bir bitkiye dönüşme yeteneği olan totipotensi kavramına dayanır. Geleneksel üretimde, birçok bitki filizlenmez, çiçek açmaz, belirli iklim koşullarında tohum üretmez veya uzun büyüme ve çoğalma sürelerine sahiptir. Mikroçoğaltım, minimum alan ve zaman kullanarak düzenli bir şekilde bitki tedariki sağlayabilir. Bitkinin *in vitro* mikroçoğaltımının avantajları aşağıda listelenmiştir (Sidhu, 2010)

- Yüksek çoğaltım oranı
- Bitkinin özel ihtiyaçlarını karşılayarak, kontrollü ortamda üretim.
- Tüm yıl boyunca, bölgesel veya mevsimsel değişikliklerden bağımsız üretim
- İstenilen özelliklere sahip klonların üretimi
- Sekonder metabolitlerin üretimi
- Genetik olarak geliştirilmiş bitkiler üretilebilir
- Tehdit altındaki bitki türlerinin korunması
- Kriyoprezervasyonla genetik materyalin korunması

Mikroçoğaltım çalışmalarında kitlesel üretim için bitki büyüme düzenleyicileri / bitki hormonları etkin rol oynamaktadır. Bitki hormonları, düşük konsantrasyonlarda fizyolojik süreçleri etkileyen organik bir gruptur. Etkilenen süreçler genel olarak büyüme, farklılaşma ve gelişmedir. Ancak stoma hareketi gibi diğer süreçler de etkilenebilir. Bitki organları arasındaki morfolojik farklılıkların, hormon kompozisyonlarındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Davies, 2010). Aynı zamanda bitki hormonları olarak da bilinen bitki büyüme düzenleyicilerinin keşfedilmesi, bitkilerin çimlenmesinden büyüme-gelişmesine kadar tüm fizyolojik sürecin kontrol edilmesine izin verilerek, organ ve doku gibi özelleşmiş hücrelerden *in vitro* bitki kültürünün gelişmesinde önemli katkı yapmıştır (Diasa ve ark., 2016). Son yıllarda bitki büyüme düzenleyicilerin farklı konsantrasyonlarda etkilerinin araştırıldığı güncel birçok çalışma yayınlanmıştır (Sun ve ark., 2018; Emsen ve Dogan, 2018; Dogan, 2018, 2019, Imtiaz ve ark., 2019).

Limnophila aromatica (Lamk.) Merr. tıbbi ve baharat amaçlı kullanılan bir bitkidir. *L. aromatica*, tamamlayıcı tıp uygulamalarında diyare, bazı bakteriyel enfeksiyonlar, sindirim sorunu, ülser, iltihap, nefes darlığı ve kan damarı hastalıklarının iyileştirilmesinde yararlanılmaktadır (Kukongviriyapan ve ark., 2007). Bu çalışmada, Zeatin (ZEA) ve farklı oksin kombinasyonunun *L. aromatica*'nın yaprak eksplantlarından *in vitro* mikroçoğaltımı üzerine etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada kullanılan *L. aromatica* bitkileri, Türkiye'nin Konya ilinde akvaryum bitkileri satan bir mağazadan temin edilmiştir. Ön sterilizasyon işlemi olarak 3-5 boğum bölgesini içeren üst gövde parçaları kesildi ve 15 dakika boyunca musluk suyu altında bekletilmiştir. Bitkinin yüzey sterilizasyonu için bu üst gövde parçaları 10 dakika boyunca % 20 çamaşır suyu (NaOCl) ile muamele edilmiştir. Ardından her biri 3 defa 5 dakika boyunca sürekli karıştırılarak sterilize distile su ile durulanmıştır. Yüzey sterilizasyonundan sonra, boğum eksplantları steril koşullar altında izole edilmiş ve % 3 sukroz (Duchefa) ile takviye edilmiş ve % 0.65 agar (Duchefa) ile katılaştırılmış Murashige ve Skoog (MS) (1962) ortamında dört hafta boyunca kültüre alınmıştır. Stok bitki oluşturulması için kültür ortamlarına herhangi bir büyüme düzenleyicisi ilave edilmemiştir.

Çoğaltım çalışmalarında buralardan elde edilen steril sürgünlerin yaprak eksplantları kullanılmıştır. Yaprak eksplantları % 3 sukroz, % 0.65 agar ve farklı konsantrasyonlarda Zeatin (ZEA) ile 0.10 mg L⁻¹ indol-3-asetik asit (IAA), indol-3-butirik asit (IBA) ve naftalen asetik asit (NAA) içeren MS besin ortamında

altı hafta süre ile kültüre alınmıştır. Eksplantlar ayrıca kontrol grubu olarak büyüme varyantları olmayan MS ortamında kültüre alınmıştır (Çizelge 1).

Bitki büyüme düzenleyicileri, uygun çözücülerle çözüldükten sonra 1 mg mL⁻¹ oranında stok solüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan stok solüsyonlar -20 °C'de saklanmıştır. Hazırlanan kültür ortamlarına aktarılacak ZEA, IBA ve IAA filtre ile steril edildikten sonra MS besin ortamlarına aktarılmıştır. NAA ise MS besin ortamları ile birlikte otoklavda steril edilmiştir.

Tüm ortamların pH'ı otoklavlanmadan önce 1N NaOH ve 1N HCl ile 5.8 ± 0.1'e ayarlanmıştır. Ardından ortamlar 120 °C'de 20 dakika boyunca 118 kPa atmosferik basınçta otoklavlanmıştır. Bütün

kültürler, beyaz floresan lambalar altında 16 saat ışık fotoperiyodunda (5000 lüks), 24±1 °C'de inkübe edilmiştir. Altı haftalık kültürden sonra, deney sonlandırılmış ve sürgün rejenerasyon verileri alınmış ve analiz edilmiştir.

Aseptik koşullar altında rejenerasyon sürgünler yaklaşık 3 cm uzunluğunda kesilmiş ve *in vitro* köklendirme için 0.25 mg L⁻¹ IBA'lı MS ortamını içeren Macenta GA⁷ kaplarında kültüre alınmıştır. Dört haftalık kültürden sonra, köklenen sürgünler üzerindeki agar akan musluk suyu altında dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Daha sonra bitkiler, iklimlendirme için musluk suyu ve kum içeren akvaryuma transfer edilmiştir ve üç hafta beklenmiştir (16 saat ışık; 23 °C).

Çizelge 1. Çoğaltım çalışmalarında kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri

Zeatin (ZEA - mg L ⁻¹)	İndol-3-asetik asit (IAA - mg L ⁻¹)	İndol-3-butirik asit (IBA - mg L ⁻¹)	Naftalen asetik asit (NAA - mg L ⁻¹)
0	0	0	0
0.10	0.10	-	-
0.20	0.10	-	-
0.40	0.10	-	-
0.80	0.10	-	-
1.60	0.10	-	-
0.10	-	0.10	-
0.20	-	0.10	-
0.40	-	0.10	-
0.80	-	0.10	-
1.60	-	0.10	-
0.10	-	-	0.10
0.20	-	-	0.10
0.40	-	-	0.10
0.80	-	-	0.10
1.60	-	-	0.10

Her deneysel uygulama, altı tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler SPSS 21 for Windows programı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Post Hoc testleri için de Duncan testleri uygulanmıştır. Veriler arasındaki korelasyon analizi için Pearson tek yönlü analiz kullanılmıştır. Yüzdelerde verilen veriler istatistiksel analizden önce arkine dönüşüme tabi tutulmuştur (Snedecor ve Cochran, 1997).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, *L. aromatica*'nın yaprak eksplantları *in vitro* mikroçoğaltım amacıyla farklı konsantrasyonlarda ZEA ve 0.10 mg L⁻¹ IAA, IBA ve NAA içeren kültür ortamında altı hafta boyunca inkübe edilmiş ve bitkilerin etkin üretimi başarıyla sağlanmıştır. Doku kültürü teknikleri ile bitkilerin üretiminde yaprak eksplantları önemli bir doku parçasıdır. Bu nedenle yaprak eksplantları kullanılarak *in vitro* bitki üretimi konusunda son yıllarda güncel raporlar yayınlanmaktadır. Üretimi gerçekleştirilen bitkilere *Aechmea ramosa* var. *ramosa* Mart. ex Schult. (Faria ve ark., 2018), *Prunus*

pseudocerasus Lindl (Sun ve ark., 2018) ve *Echinops kebericho* (Enyew ve Feyissa, 2019) verilebilir.

Mevcut çalışmada, yaprak eksplantlarından ilk sürgünlerin çıkışı, IBA'lı MS besin ortamında 14. günde, NAA'lı MS besin ortamında 16. günde ve IAA'lı MS besin ortamında 18. günde gözlenmiştir. Üç hafta sonunda kültür ortamındaki yaprak eksplantlarından çoklu sürgünler belirgin şekilde gözlenmeye başlanmıştır. Altı hafta sonunda deneme sonlandırılmış ve rejenerasyon verileri alınarak varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 2).

Çizelge 2'de görüldüğü gibi, ZEA + IAA uygulamalarında sürgün rejenerasyon yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısı $p < 0.01$ seviyesinde anlamlı bulunurken, sürgün uzunluğu $p < 0.05$ seviyesinde anlamlı bulunmuştur. ZEA + IBA ve ZEA + NAA uygulamalarında sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri $p < 0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bu farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla Duncan testi yapılmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 2. ZEA+IAA, ZEA+IBA ve ZEA+NAA kombinasyonlarının *L. aromatica*'nın yaprak eksplantlarından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		Kareler Ortalaması ₁	F değeri	Kareler Ortalaması	F değeri	Kareler Ortalaması	F değeri
ZEA + IAA							
Ortam	5	1407.656	13.03**	64.12	21.39**	0.03	3.43*
Hata	12	108.03	-	3.00	-	0.01	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-
** $p < 0.01$ düzeyinde önemli; * $p < 0.05$ düzeyinde önemli							
ZEA + IBA							
Ortam	5	666.82	7.20**	186.85	24.43**	0.04	4.32**
Hata	12	92.61	-	7.65	-	0.01	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-
** $p < 0.01$ düzeyinde önemli							
ZEA + NAA							
Ortam	5	805.76	5.80**	97.10	15.53**	0.02	3.33**
Hata	12	138.91	-	6.25	-	0.01	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-
** $p < 0.01$ düzeyinde önemli							

Çizelge 3. ZEA+IAA, ZEA+IBA ve ZEA+NAA kombinasyonlarının *L. aromatica*'nın yaprak eksplantlarında sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg L ⁻¹)		Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
ZEA	IAA			
0	0	44.44 ^c	3.11 ^d	1.15 ^b
0.10	0.10	88.89 ^{ab}	9.20 ^c	1.37 ^a
0.20	0.10	94.44 ^a	11.53 ^c	1.41 ^a
0.40	0.10	100.00 ^a	15.27 ^{ab}	1.35 ^a
0.80	0.10	100.00 ^a	15.61 ^a	1.29 ^{ab}
1.60	0.10	72.22 ^b	12.32 ^{bc}	1.24 ^{ab}
ZEA	IBA			
0	0	61.11 ^b	3.16 ^c	1.18 ^c
0.10	0.10	83.33 ^a	25.29 ^a	1.45 ^{ab}
0.20	0.10	100.00 ^a	23.72 ^a	1.47 ^a
0.40	0.10	100.00 ^a	18.33 ^b	1.42 ^{ab}
0.80	0.10	94.44 ^a	18.30 ^b	1.35 ^{abc}
1.60	0.10	94.44 ^a	15.16 ^b	1.28 ^{bc}
ZEA	NAA			
0	0	55.55 ^b	3.44 ^c	1.12 ^c
0.10	0.10	100.00 ^a	15.40 ^{ab}	1.28 ^{ab}
0.20	0.10	100.00 ^a	19.50 ^a	1.34 ^a
0.40	0.10	88.89 ^a	17.58 ^{ab}	1.27 ^{ab}
0.80	0.10	83.33 ^a	16.34 ^{ab}	1.23 ^{abc}
1.60	0.10	88.89 ^a	13.42 ^b	1.16 ^{bc}

ZEA+IAA ZEA+IBA ve ZEA+NAA uygulamaları için aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark $p < 0.05$ düzeyinde önemlidir.

Sürgün rejenerasyon yüzdeleri ZEA+IAA içeren MS besin ortamında % 72.22-100.00, ZEA+IBA ve ZEA+NAA içeren MS besin ortamlarında % 83.33-100.00 arasında değişmiştir. Maksimum sürgün rejenerasyon oranları (% 100) ZEA+IAA

uygulamalarında 0.40 ve 0.80 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ IAA içeren kültür ortamında, ZEA+IBA uygulamalarında 0.20 ve 0.40 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ IBA içeren kültür ortamında ve ZEA+NAA uygulamalarında 0.10 ve 0.20 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg

L^{-1} NAA içeren kültür ortamında tespit edilmiştir. Genel olarak yüksek sürgün rejenerasyon değerleri kaydedilmiştir. En düşük sürgün rejenerasyon frekansları ise tüm denemelerde bitki büyüme düzenleyici içermeyen (kontrol grubu) MS besin ortamlarında belirlenmiştir. Mevcut çalışmayla uyumlu olarak, yüksek oranda stokinin ve düşük oranda oksin içeren kültür ortamlarının *in vitro* çoğaltım için etkin kullanımı daha önce Ayyav ve ark. (2012), Maheshwari ve Kumar (2006) ve Sivanesan ve Jeong (2007) tarafından raporlanmıştır. Tafvizi ve ark. (2009) *Gossypium hirsutum* L.'in *in vitro* sürgün rejenerasyonu üzerine ZEA'nın etkisini araştırmış ve çoklu sürgün indüksiyonu için en iyi uygulamanın ZEA'nın düşük oranda (0.1 mg L^{-1}) kullanıldığı MS besin ortamında tespit etmiştir. Buna karşın, Enyew ve Feyissa (2019) *E. kebericho*'in yaprak eksplantlarını $1.0-2.5 \text{ mg L}^{-1}$ BAP + 0.5 mg L^{-1} NAA içeren MS besin ortamına aktarmış ve düşük oranda sürgün rejenerasyon frekansları kaydetmiştir (% 6.67-33.33). Bu sonuçlar, sürgün rejenerasyonu üzerine hormonların etki mekanizmalarının bitki türlerine göre farklılık gösterebileceğini ortaya koymuştur.

Eksplantlarının ZEA ve farklı oksin hormonları ile kombinasyonlarına verdikleri tepkiler farklılık göstermiştir. Örneğin, ZEA+IBA uygulamasında ZEA'nın orta seviyelerde kullanılması ve ZEA+NAA uygulamasında ise genel olarak ZEA'nın düşük seviyelerde kullanılması hücrelerin rejenerasyon kabiliyetini pozitif yönde teşvik etmiştir. Diğer yandan ZEA+IAA denemelerinde ZEA'nın yüksek seviyelerde kullanılması hücrelerin rejenerasyon kabiliyetini olumlu teşvik etmiştir. Bu farklı etkiler, hormonların yapısal farklılığından veya hormonların eksplant

üzerindeki etki mekanizmasındaki farklılıklarından kaynaklanabilir. Bu bulguları destekleyen sonuçları Haddadi ve ark. (2013) *Fragaria x ananassa* cv. Camarosa'da bildirmiştir. $0-16 \mu\text{M}$ ZEA, kinetin ve $6-\alpha,\alpha$ -dimethylallylamino pürine içeren kültür ortamında en yüksek *in vitro* sürgün çoğaltımını $4-\mu\text{M}$ ZEA içeren MS kültür ortamında elde etmiştir.

Eksplant başına sürgün sayısı istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. ZEA + IAA eklenmiş kültür ortamında 9.20-15.61 adet, ZEA + IBA eklenmiş kültür ortamında 15.16-25.29 adet, ZEA + NAA eklenmiş kültür ortamında 13.42-19.50 adet olarak sayılmıştır (Çizelge 3). ZEA + IAA uygulamalarında en yüksek sayıda sürgünler 15.61 adet ile 0.80 mg L^{-1} ZEA + 0.10 mg L^{-1} IAA içeren kültür ortamında (Şekil 1a), ardından ise 15.27 adet ile 0.40 mg L^{-1} ZEA + 0.10 mg L^{-1} IAA içeren kültür ortamında elde edilmiştir. ZEA + IBA uygulamalarında eksplant başına maksimum sürgün sayısı 25.29 adet ile 0.10 mg L^{-1} ZEA + 0.10 mg L^{-1} IBA içeren MS besin ortamında (Şekil 1b), ardından 23.72 adet ile 0.20 mg L^{-1} ZEA + 0.10 mg L^{-1} IBA içeren MS besin ortamında tespit edilmiştir. ZEA + NAA denemelerinde en fazla sürgün sayısı 19.50 adet ile 0.20 mg L^{-1} ZEA + 0.10 mg L^{-1} NAA içeren MS besin ortamında (Şekil 1c), ardından 17.58 adet ile 0.40 mg L^{-1} ZEA + 0.10 mg L^{-1} NAA içeren MS besin ortamında kaydedilmiştir. Masekesa ve ark. (2019) tatlı patates bitkilerinin doku kültürü ile üretimi için farklı konsantrasyonlarda sitokinleri içeren (ZEA, Kinetin ve Tidiazuron) kültür ortamında deneme kurmuşlardır. En yüksek sürgün sayısı ve rejenerasyonunu 0.2 mg L^{-1} ZEA içeren MS besin ortamında elde etmişlerdir.



Şekil 1. Sekiz hafta sonunda ZEA+IAA, ZEA+IBA ve ZEA+NAA içeren MS besin ortamında *L. aromatica*'nın yaprak eksplantlarından *in vitro* sürgün rejenerasyonları. (a) 0.80 mg L^{-1} ZEA + 0.10 mg L^{-1} IAA içeren kültür ortamındaki *in vitro* sürgünler (b) 0.10 mg L^{-1} ZEA + 0.10 mg L^{-1} IBA içeren kültür ortamındaki *in vitro* sürgünler (c) 0.20 mg L^{-1} ZEA + 0.10 mg L^{-1} NAA içeren kültür ortamındaki *in vitro* sürgünler

Eksplant başına sürgün sayısı bakımından her üç farklı hormon uygulamaları karşılaştırıldığında en yüksek sonuçlar ZEA+IBA'da, en düşük sonuçlar ZEA+IAA'da tespit edilmiştir. Ayrıca, IBA ve NAA uygulamalarında ZEA'nın düşük seviyede kullanılması yaprak eksplantlarından sürgün çıkışı

olumlu yönde etkilerken, IAA uygulamalarında ZEA'nın yüksek seviyelerde kullanımı daha iyi sonuçlar vermiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde sürgün sayısı üzerinde oksin hormonlarının farklı etkiler gösterdiği anlaşılabilir.

Yaprak eksplantlarından çıkan rejenere sürgünlerin

uzunlukları istatistiksel olarak $p < 0.05$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Sürgün uzunlukları ZEA+IAA uygulamalarında 1.24-1.41 cm, ZEA+IBA uygulamalarında 1.28-1.47 cm ve ZEA+NAA uygulamalarında 1.16-1.34 cm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 3). IBA içeren kültür ortamındaki sürgünlerin boyları, IAA ve NAA içeren kültür ortamındaki sürgünlerden daha uzun olarak ölçülmüştür. Ayrıca 0.20 mg L⁻¹ ZEA içeren kültür ortamları sürgün uzunluğu bakımından daha iyi sonuçlar vermiştir. Buna karşın, en kısa sürgünler ise 1.60 mg L⁻¹ ZEA içeren kültür ortamında belirlenmiştir. Bu sonuçlar, *L. aromatica* için sitokin ve oksinlerin yüksek oranda kombinasyonunun sürgün uzunluğunu azaltıcı etki yapabileceğini göstermiştir. Benzer şekilde yüksek sitokin ve oksin uygulamasının sürgün uzunluğunu azaltıcı etkisi daha önce *Ruta graveolens* L. (Ahmad ve ark., 2010), *Jatropha curcas* (Kumar ve Reddy, 2010) ve *Toddalia asiatica* (L.) Lam (Anand ve ark., 2015) bitkilerinde de bildirilmiştir.

Çizelge 4'de verilen korelasyon matrislerine göre, eksplant başına sürgün sayısı ile sürgün rejenerasyon

değerleri arasında pozitif yönlü ilişki olduğu tespit edilmiştir (ZEA+IAA için $r = 0.747$, $p < 0.01$; ZEA+IBA için $r = 0.477$, $p < 0.05$; ZEA+IBA için $r = 0.712$, $p < 0.01$). Eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu arasında ZEA+IBA ($r = 0.752$, $p < 0.01$) ve ZEA+NAA ($r = 0.634$, $p < 0.01$) için pozitif yönlü bir ilişki belirlenirken, ZEA+IAA uygulamasında anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir ($r = 0.390$, $p > 0.05$). Bu sonuçlar bize sürgün rejenerasyon, sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verilerinin birbiriyle ilişkili parametreler olduğunu göstermiştir.

Rejenere sürgünlerin *in vitro* köklendirilmesi için yaklaşık 3 cm uzunluklarında kesilen üst gövde parçaları 0.25 mg L⁻¹ IBA içeren kültür ortamına transfer edilmiştir. Köklendirme işlemi dört hafta sonunda başarıyla sağlanmıştır. Köklü bitkiler ardından *ex vitro* koşullara alıştırılması için su içeren akvaryumlara aktarılmıştır. İlk bir haftada bitkilerin yapraklarında ve boylarında uzamalar gözlenmiştir. Üçüncü haftada doku kültürü şartlarında çoğaltılan bitkiler akvaryum ortamına başarıyla alıştırılmıştır sağlamıştır.

Çizelge 4. Farklı ZEA+IAA, ZEA+IBA ve ZEA+NAA uygulamaları için *L. aromatica*'da Pearson korelasyon katsayıları

ZEA+IAA uygulamaları	Sürgün Rejenerasyonu	Eksplant Başına Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu
Sürgün Rejenerasyonu	1	0.747**	0.666**
Eksplant Başına Sürgün Sayısı	0.747**	1	0.390
Sürgün Uzunluğu	0.666**	0.390	1
ZEA+IBA uygulamaları	Sürgün Rejenerasyonu	Eksplant Başına Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu
Sürgün Rejenerasyonu	1	0.477*	0.550**
Eksplant Başına Sürgün Sayısı	0.477*	1	0.752**
Sürgün Uzunluğu	0.550**	0.752**	1
ZEA+NAA uygulamaları	Sürgün Rejenerasyonu	Eksplant Başına Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu
Sürgün Rejenerasyonu	1	0.712**	0.652**
Eksplant Başına Sürgün Sayısı	0.712**	1	0.634**
Sürgün Uzunluğu	0.652**	0.634**	1

*Korelasyon 0.05 seviyesinde önemli (Tek yönlü)

**Korelasyon 0.01 seviyesinde önemli (Tek yönlü)

SONUÇ

In vitro mikroçoğaltım çalışmaları, tıbbi ve ticari açıdan önemli bitkilerin üretilmesi için önemli bir yöntemdir. Ayrıca bu yöntem eczacılık alanında ve ilaç sanayinde kullanılan bitkilerin büyük ölçekli üretimine imkan sağlayabilmektedir. Mevcut bu çalışma, ZEA'nin farklı oksin hormonları ile kombinasyonu durumunda *L. aromatica*'nın yaprak eksplantlarından *in vitro* hızlı ve çoklu üretimini sunmaktadır. Yaptığımız literatür araştırmalarına göre ZEA ve farklı oksinleri içeren kültür ortamında *L. aromatica*'nın yaprak eksplantı ile bir doku kültürü çalışması tespit edilmemiştir. ZEA ve oksin etkileşimini içeren bu çalışma *L. aromatica* için ilk rapordur. ZEA+IAA, ZEA+IBA ve ZEA+NAA karşılaştırıldığında maksimum sayıda sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu ZEA+IBA kombinasyonunda tespit edilmiştir. Sürgün sayısı bakımından en iyi hormon kombinasyonları ise 0.80 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ IAA, 0.10 mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ IBA ve 0.20

mg L⁻¹ ZEA + 0.10 mg L⁻¹ NAA olarak bulunmuştur. *L. aromatica* önemli bir tıbbi ve aromatik bitkidir. Bu üretim protokolü, ticari olarak büyük ölçekte üretim için faydalı olabilir. Ayrıca, *L. aromatica*'nın doğal ortamlarından toplanmasının önüne geçerek neslinin korunmasına yardımcı olabilir.

KAYNAKLAR

- Ahmad N, Faisal M, Anisa M, Aref IM 2010. *In vitro* Callus Induction and Plant Regeneration from Leaf Explants of *Ruta graveolens* L. South African Journal of Botany, 76(3): 597-600.
- Anand S 2010. Various Approaches for Secondary Metabolite Production Through Plant Tissue Culture. Pharmacia 1: 1-7.
- Anand SP, Velmurugan G, Doss A 2015. *In-vitro* Direct Regeneration from Nodal Explants of *Toddalia asiatica* (L.) Lam. Asian Journal of Plant Science and Research, 5(1): 49-53.
- Ayyavu M, Devarajan T, Gabriel M. 2012. Rapid *In*

- Vitro* Plant Regeneration From Leaf Explants of *Launaea sarmentosa* (Willd.) Sch. Bip. ex Kuntze. *Biological Research*, 45: 131-136.
- Chaturvedi HC, Jain M, Kidwai NR 2007. Cloning of Medicinal Plants Through Tissue Culture-A Review. *Indian Journal of Experimental Biology*, 45: 937-948.
- Davies PJ 2010. The Plant Hormones: Their Nature, Occurrence, and Functions. (In: Davies P.J. (eds) *Plant Hormones*. Springer, Dordrecht) 1-15.
- Diasa MI, Sousa MJ, Alves RC, Ferreira ICFR 2016. Exploring Plant Tissue Culture to Improve the Production of Phenolic Compounds: A Review. *Industrial Crops and Products*, 82: 9-22.
- Dogan M 2018. *In Vitro* Micropropagation from Nodal Explants of the Medicinal Plant *Lysimachia nummularia* L.. *KSU Journal of Agriculture and Nature*, 21(6): 875-881.
- Dogan M 2019. Multiple Shoot Regeneration Via Indirect Organogenesis from Shoot Tip and Nodal Meristem Explants of *Ceratophyllum demersum* L. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 29(2): 568-577.
- El-Sherif NA 2018. Impact of Plant Tissue Culture on Agricultural Sustainability. (In: Negm A., Abubashim M. (eds) *Sustainability of Agricultural Environment in Egypt: Part II. The Handbook of Environmental Chemistry*, Springer, Cham.) 93-107.
- Emsen B, Dogan M 2018. Evaluation of Antioxidant Activity of *In Vitro* Propagated Medicinal *Ceratophyllum demersum* L. Extracts. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 17(1): 23-33.
- Enyew M, Feyissa T, 2019. *In Vitro* Shoot Regeneration From Leaf Explants of *Echinops kebericho*: An Endangered Endemic Medicinal Plant. *Plant Biosystems*, 153(2): 199-204.
- Faria DV, Simao MJ, Cipriano R, Werner ET, Soares TCB, Aoyama EM, Lima-Gontijo ABP 2018. *In vitro* Morphogenesis and Micropropagation of *Aechmea ramosa* var. *ramosa* Mart. ex Schult. f. (Bromeliaceae) from Leaf Explants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 54(5): 530-536.
- Haddadi F, Abd Aziz M, Kamaladini H, Rayanfar SA 2013. Thidiazuron- and Zeatin-Induced High-Frequency Shoot Regeneration from Leaf and Shoot-Tip Explants of Strawberry. *Horttechnology*, 23(3): 276-281.
- Imtiaz M, Khattak AM, Khan MA, Jalal F, Hussain S, Said F, Bo H, 2019. Rapid *In-Vitro* Propagation of *Chrysanthemum morifolium* Through Shoot Bud Explants. *Pakistan Journal of Botany*, 51(3): 1093-1098.
- Karuppusamy S 2009. A Review On Trends In Production Of Secondary Metabolites from Higher Plants by *In Vitro* Tissue, Organ And Cell Cultures. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3: 1222-1239.
- Kukongviriyapan U, Luangaram S, Leekhaosong S, Kukongviriyapan V, Preeprame S, 2007. Antioxidant and Vascular Protective Activities of *Cratoxylum formosum*, *Syzygium gratum* and *Limnophila aromatica*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(4): 661-666.
- Kumar N, Reddy MP 2010. Plant Regeneration Through the Direct Induction of Shoot Buds from Petiole Explants of *Jatropha curcas*: a Biofuel Plant, *Annals of Applied Biology*, 156(3): 367-375.
- Maheshwari P, Kumar A 2006. Organogenesis, Shoot Regeneration, And Flowering Response of *Vernonia cinerea* to Different Auxin And Cytokinin Combinations. *In Vitro Cell Dev Biol*. 42: 589-595.
- Masekesa TR, Gasura E, Ngadze E, Icishahayo D, Kujeke GT, Chidzondo F, Robertson I 2016. Efficacy of Zeatin, Kinetin and Thidiazuron in induction of adventitious root and shoot from petiole explants of sweetpotato cv. Brondal. *South African Journal of Botany*, 104: 1-5.
- Murashige T, Skoog F 1962. A Revised Medium For Rapid Growth And Bioassays With Tobacco Tissue Cultures. *Physiological Plantarum*, 15: 473-497.
- Roberto T, Francesca M 2011. Sustainable Sourcing Of Natural Food Ingredients by Plant Cell Cultures. *Agro Food Industry Hi Tech*, 22: 26-28.
- Sharma S, Rathi N, Kamal B, Pundir D, Kaur B, Arya S 2010. Conservation of Biodiversity of Highly Important Medicinal Plants of India Through Tissue Culture Technology- A Review. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(5): 827-833.
- Sidhu Y 2010. *In Vitro* Micropropagation Of Medicinal Plants By Tissue Culture. *The Plymouth Student Scientist*, 4(1): 432-449.
- Sivanesan I, Jeong BR 2007. Direct Shoot Regeneration From Nodal Explants of *Sida cordifolia* Linn. *In Vitro Cell Dev Biol*. 43: 436-441.
- Snedecor GW, Cochran WG 1997. *Statistical Methods*. The Iowa State University Press, Iowa, USA.
- Sun QR, Sun HY, Bell RL, Guan QZ 2018. Plant Regeneration From *In Vitro* Leaf Explants of *Prunus pseudocerasus* Lindl. *Propagation of Ornamental Plants*, 18(1): 3-11.
- Tafvizi F, Farahanei F, Sheidai M, Nejadstattari T 2009. Effects of Zeatin And Activated Charcoal in Proliferation of Shoots And Direct Regeneration In Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *African Journal of Biotechnology*, 8(22): 6220-6227.
- Zhou LG, Wu JY 2006. Development and Application of Medicinal Plant Tissue Cultures for Production of Drugs and Herbal Medicinals in China. *Natural Product Reports*, 23: 789-810

Apricot Culture in Container for Earliness

Sara DEMİRAL¹, Salih ÜLGER^{2*}

¹Regional Agriculture Department, Antalya-Turkey, ²Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Akdeniz University, Antalya-Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-3518-7226>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3314-2369>

✉: ulger@akdeniz.edu.tr

ABSTRACT

The aim of this research was to induce earliness in apricot cultivars Aurora, Ninfa and Roxana grown in containers in greenhouse under the Antalya environmental conditions. The plants were planted in 30 L black plastic containers filled with peat: manure (%60:%40) mixture. The plants were treated with control, Dormex 2.5%, 200 ppm gibberellic acid (GA₃) and artificial chilling (30 days/720 hours at 5 °C). Then they were transferred into the greenhouse, and kept there until harvest. During the vegetation periods, some phenological and pomological parameters were determined. Among the apricot cultivars, Ninfa treated with Dormex %2.5 was the earliest one in flowering and harvesting time. On the other hand, artificial chilled Ninfa was the best in terms of fruit set ratio and yield. The better results were recorded in respect to soluble solid content in Roxana cultivars treated with 200 ppm GA₃. The results showed that selection of suitable cultivars such as Ninfa for Antalya climatic conditions in apricots seemed quite important. Aurora and Roxana apricots were poor in fruit sets in control plants. The low production could be related to inadequate chill requirements. About 7 to 10 days earliness in fruit harvesting can be obtained in selected apricot cultivars under the same conditions when all the required treatments and cultivation practices are properly followed.

Research Article

Article History

Received : 06.05.2019

Accepted : 19.07.2019

Keywords

Apricot

Container growing

Earliness

Saksıda Erkenci Kayısı Yetiştiriciliği

ÖZET

Araştırmanın amacı, Antalya ekolojik koşullarında plastik serada saksıda yetişen Aurora, Ninfa ve Roxana kayısı çeşitlerinde erkenciliği sağlamaktır. Bitkiler içerisinde %60 torf:%40 çiftlik gübresi karışımı bulunan 30 litrelik saksılarda yetiştirilmiştir. Bitkilere kontrol, %2.5 Dormex, 200 ppm GA₃ ve soğuk depoda (30 gün/720 saat) uygulamaları yapılmıştır. Daha sonra plastik seralara taşınmışlar ve meyve hasatları yapılmaya kadar plastik serada bekletilmişlerdir. Deneme süresince bitkilerde bazı fenolojik ve pomolojik özellikler belirlenmiştir. Kayısı çeşitleri arasında, en erken çiçeklenme ve hasada gelme bakımından %2.5 Dormex uygulanmış Ninfa olmuştur. Diğer taraftan, soğukta bekletilmiş Ninfa, meyve tutumu ve bitki başına verim bakımından en iyi sonuçları vermiştir. En iyi suda çözünebilir kuru madde miktarı 200 ppm GA₃ uygulanmış Roxana çeşidinden elde edilmiştir. Araştırma sonuçları, Antalya ekolojik koşulları için Ninfa gibi soğuklama ihtiyacı düşük çeşitlerin seçiminin önemliliğini göstermiştir. Aurora ve Roxana çeşitlerinin kontrol bitkileri meyve verimleri düşük olmuştur. Bu durum soğuklamanın yeterli karşılanamaması ile ilgili olabilir. Aynı uygulamalar yapılmasına rağmen, sera koşullarında yetişen kayıslarda dış koşullarda ortamda yetişenlere göre yaklaşık 7-10 gün erkencilik sağlanmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 06.05.2019

Kabul Tarihi : 19.07.2019

Anahtar Kelimeler

Kayısı

Erkencilik

Saksıda yetiştiricilik

INTRODUCTION

Turkey is an important apricot producing country in the world with 985.000 tons production and 64.000 tons exported as table consumption (Anonymous, 2018). Most of the world table apricot exports are made by apricot producing Mediterranean countries (Gülcan et al., 2000). Earliness in apricot production is important to increase producer income (Ayanoğlu and Kaşka, 1993). Most of the table apricot production in Turkey takes place nearby Mediterranean coast (Son, 2018). The most important limiting factors for apricot growing in the subtropical region is the chilling requirements (Aşkın, 1989; Zhuang et al., 2016).

Artificial chilled apricot (cv. Canino and Sayeb) and sweet cherry (Cv. Burlat and pollinators) in plastic containers filled with volcanic tuff were grown in Hamat Gader in the Jordan valley area at 100 m below to the sea level. The apricot trees bloomed (early January) earlier than sweet cherries (late January), and they ripened 7 and 5 weeks earlier, respectively that of the corresponding cultivars in the coastal plain of Israel (Ran and Erez, 1993).

Different hydrogen cyanamide (H_2CN_2) concentrations were sprayed to Trinto apricot cultivar grown in containers. After application, some trees were grown in controlled conditions ($23^\circ C \pm 1$) for 15–20 days, and others outside. Higher concentrations of H_2CN_2 inhibited flower bud break, but lowest concentration promoted flower bud break. Leaf buds showed better HCN tolerance than flower buds treated later and at higher concentrations (Bartolini et al., 1997).

The performance of 42 apricot varieties was studied in the greenhouse, the best results were obtained from 9803 type. Chilling requirement of 9803 types was 490 chilling unit (CU). In this type, the fruits were ripened in mid-April, flower initiation was started 10-15 days after harvest, and suitable pruning types was V shape (Xiang He et al., 2004).

H_2CN_2 has many effects on dormancy breaking, early and uniform bud break and chilling requirements in almond, apple, actinidia, fig, grapevine, peach, persimmon and plum. H_2CN_2 also reduce catalase activity (Shulman et al., 1986).

Chilling requirements of peach trees grown in small containers filled with volcanic tuff or mixtures of volcanic tuff and peat moss were fulfilled by artificial chilling and transferring the trees in autumn to 450 m higher mountain. The trees were trained to the mechanized meadow orchard system. Artificial chilling gave good results than transferring to mountains in terms of leafing, bloom and yield. But, artificial chilling was determined more expensive (Erez et al., 1993).

The result of Dormex (%49 H_2CN_2) and promalin application to Tokaloglu and Karacabey apricots and

Papaz plum bloomed early 2 - 5 days, and 4 - 8 days, respectively, gave good fruit set, fruit weight increased, and harvested 2 - 9 days earlier than control plants (Son and Küden, 2005).

Liu (2018) has reported that Guozhixian and Moorpark apricots varieties are more profitable for producers when they are grown in greenhouses in Liaoning province in China.

Zhai and Liu (2018) have made selection for low chill apricot genotypes to determine early fruit bearing types in greenhouse conditions and Xiajin type were found to be promising for further studies in Yuncheng district of Shanxi Province in China

The aim of this research was to induce earliness in fruit production in apricots (Aurora, Ninfa, Roxana) grown in containers in the plastic greenhouse under the Antalya environmental conditions.

MATERIALS and METHODS

This research was conducted in a plastic greenhouse in the Research and Application Field of Agriculture Faculty of Akdeniz University. The greenhouse was 51 m long, 18 m wide and 6 m high and it was composed of three tunnels. The greenhouse was located at $36^\circ 54' 028'' N$, $030^\circ 38' 810'' E$ and 38 m above sea level.

In this research, 1-year old Aurora, Ninfa and Roxana apricot trees grafted on apricot seedling were used.

Drip irrigation was used as an irrigation system and one spaghetti tube (having 2 L/h water discharge) was placed in each container.

The trees were planted in 30-liter containers and 60% peat + 40% organic manure (sheep manure) was used as the growing media. During planting, the taproot was cut in order to prevent taproot development, and other roots were pruned normally. The trees were planted so that the graft union was 15 cm above the growing media.

Trees were pruned to an open vase style. During planting, trees were topped at 60 cm and shoots, which were located in the first 30 cm, were removed. Three to four scaffold branches 5-10 cm apart were evenly distributed in 360° . As a result of branch selection, an open vase style was formed as middle of the canopy stayed open. Then, summer pruning was done in the middle of June until bearing by selecting lateral branches on the scaffold branches and the angle of scaffold branches was set at 45° - 60° from horizontal. Following that, winter pruning was done in early January every year.

In order to preserve plants from hot weather in summer, the trees were placed in a shade area covered with a net, which transmitted 40% light. In the second and later years, control, 2.5% Dormex (contains 49% H_2CN_2 , Agrikem), 200 ppm GA_3 and artificial chilling (30 days/720 hours at $5^\circ C$) treatments were applied.

Treatments were applied after 15th January every year. Dormex and 200 ppm GA₃ treatments were applied with a knapsack sprayer until trees were completely wet. Distilled water was sprayed on control plants with a knapsack sprayer, and subsequently plants were moved to cold storage, which had 80-85% humidity and 5 °C temperature for the 30-day holding treatment. At bloom time, bumblebee hives were placed (2 hives inside and 1 hive outside of the greenhouse) to insure pollination. After fruit harvest, plants inside and outside of the greenhouse were moved to a 40% shade area in order to preserve plants from hot summer weather. The plants were held in that area until the treatments for the next year. Following second year of the experiment, the same treatments were done as in the first year.

Fertilization scheduling was prepared according to soil and leaf analysis results and 30 g N.P.K (15:15:15) was given to each container using fertigation in early March, April, May and June. Additionally, Fe-EDTA

was sprayed to leaves with a knapsack sprayer to prevent chlorosis in plants.

Phenological observations like blooming time, fruit set percentages, harvest time, and yield per plant were made on each tree. Furthermore, pomological analyses like total soluble solids, and titratable acidity were made at harvest.

The experiment was conducted with 3 replications, SAS software was used for statistical analyses of data and comparison of means was done with LSD test.

RESULTS and DISCUSSION

Bloom time

The earliest flowering was obtained at the end of February in 2.5% Dormex treatment, to Ninfa, followed by 2.5% Dormex applied to Aurora and artificial chilled to Roxana. Treatments induced early flowering more than control. Flowering date lasted 2 - 5 days depending on the year (Table 1).

Table 1. Average flowering dates in apricots

Cultivars	Treatments	Average flowering times		
		First bloom	Full bloom	End of bloom
Ninfa	Control	March 13	March 15	March 18
	2.5% Dormex	February 26	March 01	March 04
	200 ppm GA ₃	March 02	March 05	March 07
	Artificial chilling	March 08	March 09	March 12
Aurora	Control	March 26	March 27	March 28
	2.5% Dormex	March 10	March 11	March 12
	200 ppm GA ₃	March 13	March 16	March 18
	Artificial chilling	March 11	March 13	March 16
Roxana	Control	March 25	March 26	March 28
	2.5% Dormex	March 17	March 19	March 20
	200 ppm GA ₃	March 19	March 21	March 23
	Artificial chilling	March 14	March 16	March 18

Fruit set

The highest fruit set was determined in artificial chilled apricots with 33.96%, and lowest in control with 8.60%. Approximately same results were obtained

from 200 ppm GA₃ and 2.5% Dormex applications (Figure 1).

Fruit set rate was significantly higher in Ninfa and Aurora than Roxana, and the highest fruit set rate in Ninfa with 27.54% (Figure 2).

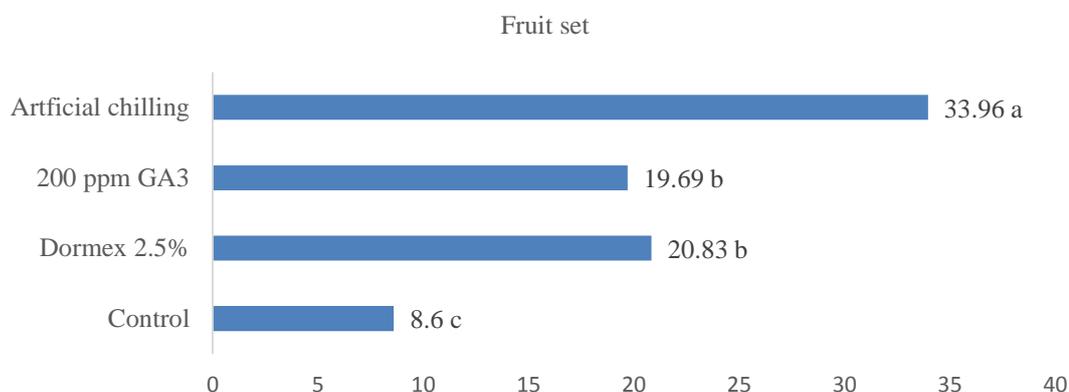


Figure 1. Average fruit set according to applications (LSD_{5%}: 6.5549).



Figure 2. Average fruit set in Aurora, Ninfa and Roxana apricot cultivars (LSD_{5%}: 5.9467)

Harvest date

Treatments were matured fruits earlier than control, and the earliest harvest was in Dormex treated apricots, and 200 ppm GA₃ and artificial chilling treatments were followed it. Ninfa was matured earlier than Aurora and Roxana. The earliest harvest was done in Ninfa on May 3, and latest was made in Roxana on May 18 (Table 2).

Table 2. Average harvest dates in apricot cultivars according to treatments

Cultivars	Treatments	Harvest date
Ninfa	Control	May 13
	2.5% Dormex	May 03
	200 ppm GA ₃	May 05
	Artificial chilling	May 08
Aurora	Control	May 15
	2.5% Dormex	May 04
	200 ppm GA ₃	May 05
	Artificial chilling	May 08
Roxana	Control	May 18
	2.5% Dormex	May 06
	200 ppm GA ₃	May 07
	Artificial chilling	May 10

Yield per plant

Treatments were increased yield according to the control. The highest yield was obtained in artificial chilling with 980.44 g/plant, and lowest in control with 170.63 g/plant. The results of Dormex 2.5% and 200 ppm GA₃ treatments were not significant (Figure 3).

Among the apricot cultivars, Ninfa showed the highest yield with 1088.84 g/plant, and yield of Aurora and Roxana were almost the same with 358.50 and 322.62 g/plant, respectively (Figure 4).

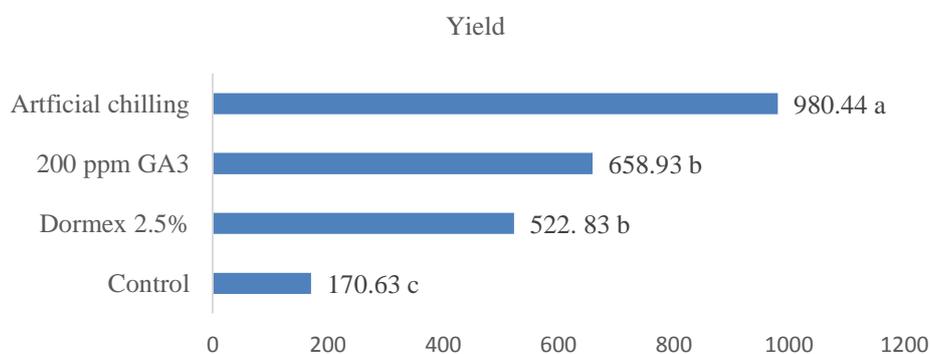


Figure 3. Yield per plant according to the treatments (g/plant) (LSD_{5%}: 202.65)

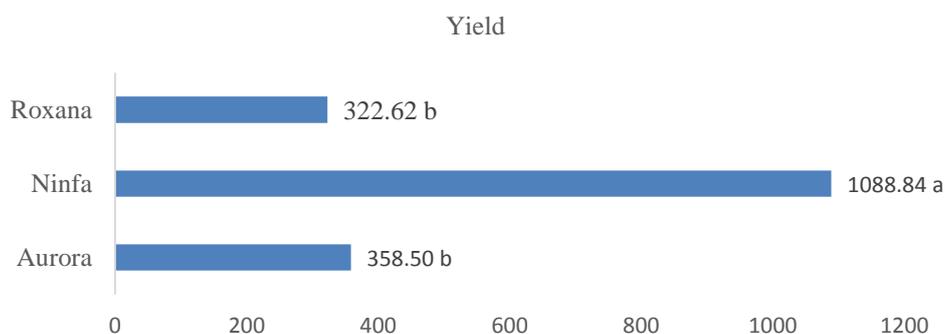


Figure 4. Yield per plant in Aurora, Ninfa and Roxana apricot cultivars (g/plant) (LSD_{5%}: 88.873)

Soluble solid content

Treatments affected soluble solids content according to control, but soluble content did not change more amongst the treatments, the highest soluble solids content was with 200 ppm GA3 treatment with 14.85 (Figure 5).

Among the apricot cultivars, the highest soluble content was in Roxana with 18.03, followed by Aurora with 16.68 and Ninfa with 11.89, respectively (Figure 6).

Titrateable acidity

Treatments increased acidity. The highest acidity was shown in artificial chilling with 1.56 g/100 ml, and the lowest was in control with 1.09 g/100 ml (Figure 7).

The highest titrateable acidity was in Aurora with 1.61 g/100 ml, and lowest in Ninfa with 1.14 g/100 ml (Figure 8).

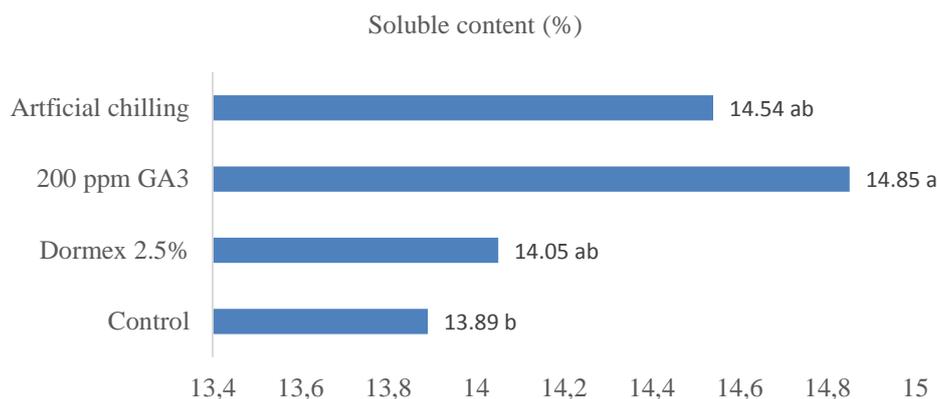


Figure 5. Total soluble content according to treatments (%) (LSD_{5%}: 0.9565)



Figure 6. Soluble content in Aurora, Ninfa and Roxana apricot cultivars (%) (LSD_{5%}: 0.658)

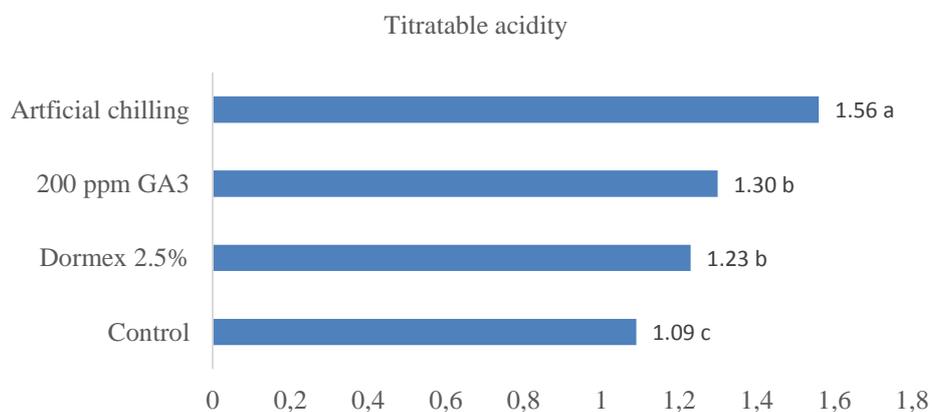


Figure 7. Titrateable acidity according to treatments (g/100 ml) (LSD_{5%}: 0.0955)

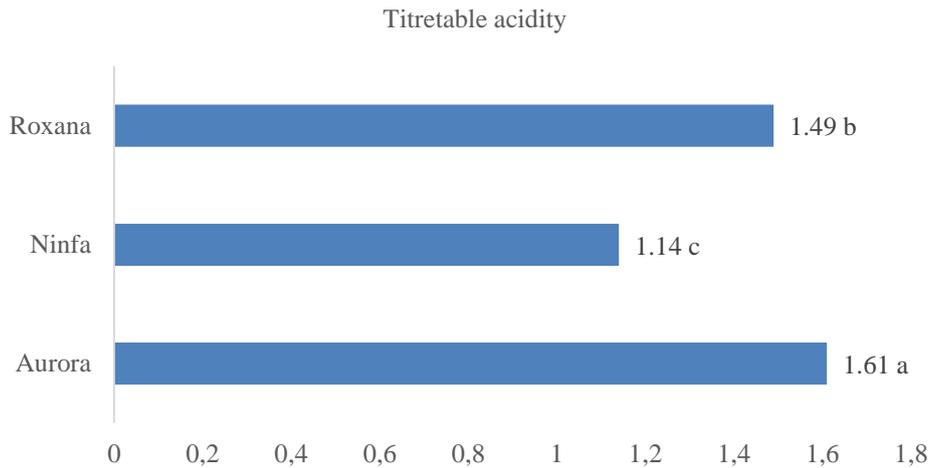


Figure 8. Titratable acidity in Aurora, Ninfa and Roxana apricots (g/100 ml) (LSD_{5%}: 0.1177)

DISCUSSION

Some chemicals affected dormancy breaking, early bud break and chilling requirements in many fruits. Dormex and GA₃ treated apricots shown early bud break and bloomed higher than control plants (Shulman et al., 1986; Son and Küden, 2005; Westwood, 1993). In the experiment, similar results were obtained, and early bud break and bloom were seen in Dormex%2.5 and 200 ppm GA₃ treatments. Control plants bloomed later than treatment plants. Environment also had an important role on early bud break and bloom. Untreated Roxana apricots bloomed 19 February in Kahramanmaraş which is 150 km inside from Mediterranean Sea, and has micro climate zone, climatic conditions (Yılmaz, 2002). Nevertheless, in the experiment in Antalya conditions which is near the Mediterranean Sea, control Roxana apricots bloomed early and mid-March. This may be a result from weather temperatures. Because, there was a cold weather in Antalya during the experiment. Thus, Asma and Ozturk (2005) indicated that apricot cultivars can bud break in late February or mid-March according to the years.

Failure to meet the cold demand is a major problem for growing of temperate fruits in the Mediterranean region, and there are some methods to provide chilling such as chemical treatments, cold storage, and transference to high altitudes in pots. Bartolini et al. (1997) determined that Dormex treatment provided chilling requirement and early bud break in apricots. In this experiment, Dormex treatment shown early bloom, but good fruit set and yields was obtained from artificial chilling. The results indicated that cold storage is an appropriate method to achieve chilling requirement.

Ninfa was early blooming cultivar in some experiments (Yılmaz, 2002; Asma, 2012). Similar result was obtained in the experiment, and Ninfa bloomed earlier than Aurora and Roxana.

Fruit set, harvest dates, and yield varies according to years, age, cultivar, self-fertilization capability, pollinator use and environmental conditions. In the experiment, fruit set varied between 6-25%, and the highest fruit set recorded was with 27.35% in Ninfa from artificial chilled apricots. Polat and Çalışkan (2014) indicated that fruit set rate varied between 2.3-14% in apricots in Hatay environmental conditions. Çalışkan et al. (2012) harvested Ninfa, Aurora and Roxana in 2, 6 and 25 May, respectively. Ninfa was harvested in 26 May in Italy (Bianco et al., 2010) and in 31 May in Kahramanmaraş (Yılmaz, 2002). Yield varied between 322.68 and 1.088.84 g/plant in cultivars, and the highest yield was obtained from artificial chilled Ninfa with 1.1150 g/plant in the experiment. Similarly, (Yılmaz (2002) obtained 1.018 g/plant yield from Ninfa. Mratinic et al. (2011) found 4-34 kg yield/plant in apricots, and Uğurluay (2009) determined 4.97 kg/plant in Hacıhaliloglu apricot cultivar in Manisa.

Treatments increased soluble solids content and titratable acidity in apricot cultivars, the highest soluble content and acidity was obtained from 200 ppm GA₃ treatment with 14.85% and artificial chilled treatment with 1.56 g/100 ml. Bianco et al. (2010) was 13.8% soluble content in Ninfa, and Oparnica et al. (2005) measured 1.45 g/100 ml acidity in Ninfa and Aurora. The results of the experiment were consistent with the results of previous experiments researchers.

The results shown that Ninfa can be grown in Antalya environmental conditions without encountering chilling problems. But, Aurora and Roxana cultivars could face with inadequate chilling.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work is part of the Ph.D. experiment and it was financially supported by the Research and Fund of Akdeniz University.

REFERENCES

- Anonim 2018. Kayısı - T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Araştırma Kuruluşları. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr> > Belgeler > 2018-Temmuz Kayısı
- Asma BM 2012. A new early-ripening apricot, 'Dilbay. Hortscience, 47(9): 1367-1368.
- Asma BM, Ozturk K 2005. Analysis of Morphological, Pomological and Yield Characteristics of Some Apricot Germplasm in Turkey. Genetic Resources and Crop Evolution, 52: 305-313.
- Aşkın A 1989. Ege Bölgesinde Düzenli Meyve Vermeyen Bazı Kayısı Çeşitleri Üzerinde Biyolojik Çalışmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 133 sy.
- Ayanoglu H, Kaska N 1993. Preliminary Results of Local Apricot Adaptation Studies in The Mediterranean Region of Turkey. Acta Horticulturae, 384: 117-122.
- Bartolini S, Vitagliano C, Cinelli F, Scalabrelli G 1997. Effect of Hydrogen Cyanamide on Apricot Bud Break and Catalase Activity. Acta Horticulturae, 441: 159-166.
- Bianco R, Farina V, Giuseppe I, Filizzola F, Aagozzino P 2010. Fruit Physical, Chemical and Aromatic Attributes of Early, Intermediate and Late Apricot Cultivars. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90: 1008-1019.
- Caliskan O, Bayazit S, Sumbul A 2012. Fruit Quality and Phytochemical Attributes of Some Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Cultivars as Affected by Genotypes and Seasons. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici, 40(2): 284-294.
- Erez A, Nir G, Lerner H, Yablowitz Z 1993. Container Grown Peach Trees: Evaluation of a Commercial Endeavor. Acta Horticulturae, 349: 43-47.
- Gülcan R, Tekintaş FE, Mısırlı A, Sağlam H, Günver G, Adanacıoğlu H 2000. Meyvecilikte Üretim Hedefleri. Türkiye Ziraat Mühendisleri V. Teknik Kongresi, Ankara, s. 587-615.
- Liu N 2018. Protected Cultivation of Apricot in Liaoning Province, China. Acta Horticulturae, 1214: 103-108. Doi: 10.17660/ActaHortic. 2018.1214.17
- Mratinic E, Popovs Ki B, Milosevic IC T, Popovs Ka M 2011. Evaluation of Apricot Fruit Quality and Correlations Between Physical and Chemical Attributes. Czech Journal of Food Science, 29(2): 161-170.
- Oparnica C, Velickovic M, Radivojevic D 2005. Biological and Pomological Characters of The Introduce Apricot Cultivars in The Region of Belgrade. Voc'arstvo, 39(3): 313-318.
- Polat AA, Caliskan O 2014. Fruit Set and Yield of Apricot Cultivars Under Subtropical Climate Conditions of Hatay, Turkey. Journal of Agricultural Science and Technology, 16(4): 863-872.
- Ran I, Erez A. 1993. Advancement of Ripening of Apricot and Sweet Cherry Preliminary Study With a Mobile Orchard. Acta Horticulturae, 349: 6.
- Shulman Y, Nir G, Lavee S 1986. Oxidative Processes in Bud Dormancy and The Use of Hydrogen Cyanamide in Breaking Dormancy. Acta Horticulturae, 179: 141-148.
- Son L, Kuden AB 2005. Dormex and Promalin Affects Fruit Set and Earliness of Apricot (*Prunus armeniaca*) and Plum (*Prunus domestica*) Cultivars. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 33(1): 59-64.
- Son L 2018. Bazı Sofralık Kayısı Çeşitlerinin Silifke/Mersin Ekolojik Koşullarındaki Verim ve Kalite Özellikleri Üzerine Araştırmalar. Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi, 33(2): 17-22
- Ugurluay D 2009. Karboksil Uygulamasının İhraç Edilen Üzüm, Kayısı, Kiraz Meyvelerindeki Verim ve Kalite Üzerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 37 sy.
- Westwood MN 1993. Hormones and Growth Regulators. Temperate Zone Pomology: Physiology and Culture. Timber Press, Inc. 9999 S.W. Wilshire, Suite 124, Portland, Oregon 97225.
- Xianghe Y, Jiayan Z, Weisheng L, Ning L, Feng Z, Yuping Z, Meng S 2004. Varieties and techniques of cultivation of apricot in greenhouse. Journal of Fruit Science, 21(1): 76-78.
- Yılmaz KU 2002. Kahramanmaraş'ta Dışsatıma Yönelik Sofralık Kayısı Yetiştiriciliği Üzerine Araştırmalar. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, 89 sy.
- Zhai QY, Liu ZH 2018. Breeding of a Fine Apricot Cultivar, 'Xiajin', for Protected Cultivation. Acta Horticulturae, 1214: 199-202. Doi:10.17660/ActaHortic.2018.1214.34
- Zhuang WB, Cai BH, Gao ZH, Zhang Z 2016. Determination of Chilling and Heat Requirements of 69 Japanese Apricot Cultivars. European Journal of Agronomy, 74: 68-74. Doi:10.1016/j.eja. 2015.10.006

Dry Matter Partitioning and Salt Tolerance via Salicylic Acid Treatment in Strawberry Plant Under Salt Stress

Servet ARAS^{1*}, Ahmet EŞİTKEN²

¹Yozgat Bozok University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, 66200, Yozgat, Turkey, ²Selcuk University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, 42030, Konya, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-0347-6552>, ²<https://orcid.org/0000-0002-6140-7782>

✉: servet.aras@bozok.edu.tr

ABSTRACT

The objective of this experiment was to investigate the effects of exogenous salicylic acid (SA) on strawberry plants under NaCl stress. The strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) cv Kabarla was used in the experiment. Until the beginning of the experiment, all plants were irrigated with tap water and 1-month after planting, all plants were applied with three different SA doses (1, 2 and 4 mM) and were watered with 35 mM NaCl solution. Control and salt plants were not applied with SA, salt plants were watered with NaCl solution and compared to controls. Three months after the salinity (in March), salt stress decreased root volume by 37% compared to control. Overall, 4 mM SA and control had the highest values of root tissue density (0.113 and 0.117 g cm⁻³, respectively). Moreover, 4 mM SA treatment increased stomatal conductance by 87% compared to salt plants. The dry matter was less partitioned to roots in salt stressed strawberry plant. Dry matter partitioning between shoots and roots was differently affected by supply of SA under salinity condition.

Research Article

Article History

Received : 28.03.2019

Accepted : 19.07.2019

Keywords

Dry matter distribution,
Salicylic acid,
Salt stress,
Strawberry

Tuz Stresi Altındaki Çilek Bitkilerinde Salisilik Asit Uygulamasıyla Kuru Madde Dağılımı ve Tuz Toleransı

ÖZET

Çalışmanın amacı, dışarıdan uygulanan salisilik asidin (SA) tuz stresi koşulu altında yetiştirilen çilek bitkilerindeki etkileri incelemektir. Kabarla çilek (*Fragaria × ananassa* Duch.) çeşidi çalışma için seçilmiştir. Deneme başlayana kadar tüm bitkiler musluk suyu ile sulanmıştır ve dikimden 1 ay sonra bitkilere 3 farklı dozda SA (1, 2 ve 4 mM) uygulanmış ve 35 mM NaCl çözeltisi verilmiştir. Kontrol ve tuz bitkilerine SA uygulanmamış olup tuz uygulanan bitkiler kontrol bitkileriyle kıyas edilmiştir. Üç aylık tuz stresi sonucunda (Mart ayında), tuz stresi kök hacmini kontrol bitkilerine kıyasla %37 azaltmıştır. 4 mM SA ve kontrol grubu en yüksek kök yoğunluğuna (sırasıyla 0.113 ve 0.117 g cm⁻³) sahip olmuştur. Ayrıca, 4 mM SA uygulaması stoma iletkenliğini tuz bitkisine kıyasla %87 artırmıştır. Tuz uygulaması sonucunda kuru madde köke daha az gönderilmiştir. Kök ve sürgünler arasında kuru madde dağılımı SA uygulaması ile farklı derecede etkilenmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 28.03.2019

Kabul Tarihi : 19.07.2019

Anahtar Kelimeler

Kuru madde dağılımı,
Salisilik asit,
Tuz stresi,
Çilek

To Cite : Aras S, Eşitken S 2019. Dry Matter Partitioning and Salt Tolerance via Salicylic Acid Treatment in Strawberry Plant Under Salt Stress. KSU J. Agric Nat 22(Suppl 2): 337-341. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.545825

INTRODUCTION

In many areas of the world, salinity has been considerably the main constraint for crop production. High concentration of NaCl, the dominant salt in the soil (Pessarakli and Szabolcs, 2010), diminishes fruit yield and quality in many plants (Colla et al., 2006; Huang et al., 2009). Growth reduction due to the

presence of sodium chloride (NaCl) at certain concentrations was reported in many fruit species (Aras et al., 2015; Akçay and Eşitken, 2017; Aras and Eşitken, 2018). Among these fruit species, strawberry was suggested to be salt-affected and salt stress may cause decrease in strawberry fruit yield and quality (Garriga et al., 2015). Salinity causes physiological

dysfunctions (Yin et al., 2010), ion imbalance (Karlidag et al., 2011), depression in photosynthesis (Galli et al., 2016), leading to growth reduction (Kaya et al., 2002) and decrease in fruit quality and taste (Kaya et al., 2002; Keutgen and Pawelzik, 2008) in strawberry.

Plant growth regulator treatments were found to play an important role in plant responses to stress factors (Chakrabarti and Mukherjee, 2003). Salicylic acid (SA) plays an important role in the regulation of plant growth, development and responses to abiotic stresses (Noreen and Ashraf, 2008; Miura and Tada, 2014). Application of exogenous SA enhanced the salt stress resistance of many plants (Szepesi et al., 2009; Nazar et al., 2011). Gunes et al. (2007) found that SA treatment increased the plant growth in maize plants under salinity. In addition, some studies showed that exogenous SA could alleviate the salinity damage in strawberry (Karlidag et al., 2009; Tohma and Esitken, 2011). SA could increase chlorophyll content and maintain the stability of cell membranes, which was beneficial to plant growth under salinity condition (Gunes et al., 2007; Szepesi et al., 2009).

Environmental stress factors affect dry matter partitioning between root and shoot and plant morphological traits such as root and shoot fresh and dry weights, root tissue density, root:shoot dry weight in many plants (Marschner et al., 1996; Chartzoulakis et al., 2002; Aras and Esitken, 2018). Many studies have supported clear evidences that SA treatment ameliorates salinity stress and increases plant growth in many plants. However, evidence is scarce for dry matter distribution in strawberry plant. The objective of the this study was to assess the effect of SA on plant growth and dry matter partitioning in strawberry plant under salinity condition.

MATERIALS and METHODS

Pot trials and experimental design

The study was conducted between November of 2015 and March of 2016 in a heated greenhouse located in Department of Horticulture at Selcuk University, Konya, Turkey. Well-rooted frigo strawberry plant (*Fragaria × ananassa* Duch.) cv. Kabarla was used for the experiment. The experiment was a randomized plot design with three replication, three plants each. The plants were potted in 5 L plastic pots filled with mixture of soil, peat and perlite in a volume ratio of 1:4:1. Until the beginning of the experiment, all plants were irrigated with tap water and 1-month after planting, all plants were applied with three different SA doses (1, 2 and 4 mM) and were watered with 35 mM NaCl solution (growing media's salinity of plants exposed salt stress maintained in a range of 2.0-2.5 mS cm⁻¹ EC through applying 35 mM NaCl). SA was applied to the roots of strawberry plants for once with irrigation water. Control and salt plants were not applied with SA, salt plants were watered with NaCl

solution. When the growing media's salinity exceeded 2.5 cm⁻¹ EC plants were irrigated with tap water and when the media's salinity was belowed the 2 cm⁻¹ EC NaCl solution were used for irrigation. Three months after the salinity (in March), many plant growth properties were evaluated.

Growth, SPAD and Stomatal Conductance Measurements

The growth promoting effects of SA treatments were evaluated by determination of root volume, root and shoot dry and fresh weights. Root volume was calculated by displacement of water in the volumetric cylinder. Root and shoot dry weights were measured after drying the plant material at 70°C for 48-72 hours. The value of root:shoot dry weight was calculated as dry weights of root:shoot. Moreover, root volume, root mass ratio (RMR, root dry weight:whole dry weight, g g⁻¹), shoot mass ratio (SMR, shoot dry weight/whole dry weight, g g⁻¹), and root tissue density (RTD, root dry weight/root volume, g cm⁻³) were calculated as reported previously (Lupini et al., 2016).

Relative chlorophyll (SPAD) value was measured with a Minolta SPAD-502 chlorophyll meter (Minolta Camera Co, Ltd, Osaka, Japan). Stomatal conductivity was conducted on the youngest fully expanded leaves on upper branches of the plants with leaf porometer.

Statistical analyses were performed with SPSS, version 20.0. The means were compared by the Duncan's Multiple Range Test *te* at 5% level.

RESULTS

Compared to the salt plants, SA-induced salinity tolerance was reflected in the significant alterations of root volume, root tissue density, root mass ratio, shoot mass ratio, root:shoot dry weight, SPAD value and stomatal conductance (Table 1 and 2). Salt stress decreased root volume by 37% compared to control. Overall, 4 mM SA treatment sustained the lowest root volume. On the contrary, 4 mM SA and control sustained the highest root tissue density (0.113 and 0.117 g cm⁻³, respectively). Exogenous SA increased the root mass ratio by 86% compared to salt plant. In case of non-SA condition, shoot mass ratio showed a slight change under salt stress (Table 1).

SPAD value for leaves treated with SA decreased more slowly than those non-treated salt plants (Table 2). SA treatments led increases in stomatal conductance under salt stress. Moreover, 4 mM SA treatment increased stomatal conductance by 87% compared to salt plants.

DISCUSSION

Salt stress affects the morphological and physiological characteristics of plants due to physiological disruptions, nutrient imbalance, chlorophyll loss (Yin

et al., 2010; Aras and Eşitken, 2018). In the current study, we investigated the ameliorative effects of exogenous SA on strawberry growth under salinity condition. Compared to salt plants, many growth traits

were manifested as a significant decrease as a result of salinity and alleviated by SA treatment. The change trend between morphological characteristics was more obvious when SA concentration was 4 mM.

Table 1. Effect of SA on root volume, root tissue density, root and shoot mass ratio and root:shoot dry weight in salt-treated strawberry plants

	Root volume (cm ³)	Root tissue density (g cm ⁻³)	Root mass ratio (g g ⁻¹)	Shoot mass ratio (g g ⁻¹)	Root:shoot dry weight
Control	45.0 a	0.117 a	0.269 ab	0.730 a	0.370 b
Salt	28.3 b	0.077 b	0.211b	0.771 a	0.280 e
SA (1 mM) + Salt	28.7 b	0.076 b	0.227 b	0.772 a	0.288 c
SA (2 mM) + Salt	29.0 b	0.077 b	0.224 b	0.775 a	0.285 d
SA (4 mM) + Salt	20.0 c	0.113 a	0.393 a	0.606 b	0.637 a

Means separation within column by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$

Table 2. Effect of SA on SPAD and stomatal conductance in salt-treated strawberry plants

	SPAD	Stomatal Conductance (mmolm ⁻² s ⁻¹)
Control	45.46 a	111.6 bc
Salt	38.40 b	102.83 c
SA (1 mM) + Salt	41.73 ab	180.93 ab
SA (2 mM) + Salt	39.62 b	148.93 abc
SA (4 mM) + Salt	39.86 b	192.30 a

Means separation within column by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$

Root tissue density reflects root functional status that is associated with physiological activities in plant body (Wahl and Ryser 2000; Ostonen et al., 2007). The tissue density is affected by cell wall material, lignin and percentage of air space (Koike, 1988; Garnier and Laurent, 1994). In our study, 4 mM SA increased root tissue density, although the lowest root volume was in 4 mM SA treatment. Low tissue density enables a fast growth rate with a low investment on dry matter (Hummel et al. 2007). Some studies showed that higher root respiration result in decrease in dry matter accumulation in roots, which, in turn, leads to decrease in root tissue density (Wardlaw, 1990; Masoni et al., 2007). In the current experiment, salt stress decreased root tissue density when compared with control may be due to increase in root respiration triggered by salt stress. High density tissue leads a better protection against adverse environment with a high investment on dry matter (Pammenter et al., 1986). Thus, SA treatment provided better root growth via dry matter partitioning to roots.

SA treatments increased root:shoot dry weight in strawberry. Root:shoot dry weight was about 2-fold by 4 mM SA treatment to that of control plants. In a previous study it was reported that acquisition of necessary nutrients for photosynthesis such as nitrogen and Sulphur could be performed by SA treatment and photosynthesis increases (Nazar et al., 2011). In our experiment, increase in root:shoot dry

weight by 4 mM SA might be attributed to increment in photosynthesis and then higher transport and use of photoassimilates in the roots.

Decrease in the root mass ratio was more obvious in salt plants as compared to the controls. Moreover, there was a slight decrease in shoot mass ratio. These changes show that shoot growth was less affected than root growth. This finding confirms the evidence regarding the effect of salinity on root by decreasing root:shoot dry weight under salt stress. Therefore, salinity in strawberry may alter the pattern of dry matter distribution favoring the shoot. Apparently, salt stressed strawberry plants partitioned more carbon to the shoots during salt stress period.

Chlorophyll (SPAD value) content was significantly decreased by 35 mM NaCl treatment. Similarly, Tohma and Eşitken (2011) also reported that chlorophyll content was decreased by salt stress in strawberry. Salt stress damages cell membrane and causes the leakage of chlorophyll molecules and declines chlorophyll content (Mehta et al., 2010). Furthermore, decline in chlorophyll content could be due to an increase in the chlorophyll degradation (Eldesouky and Atawia, 1998). In our experiment, there are considerable preventions of the chlorophyll reductions by SA compared to salt plant. Szepesi et al. (2009) also reported SA treatment prevented the chlorophyll loss in tomato plants under salinity condition. Moreover, SA treatment increased stomatal conductance under salinity. Stomatal conductance recorded on plants treated with 4 mM SA was 87% higher than those recorded in salt plants. Reduction in stomatal conductance was due mainly to an increase in Na⁺ content (Zrig et al., 2011). A protective effect of SA on stomata was reported under salt stress in many studies (Nazar et al., 2011).

CONCLUSION

SA treated plants sustained better growth and this may be attributed more chlorophyll and stomatal conductance compared to salt stressed plant. The

interpretation of the presented data indicated that the dry matter was less partitioned to roots in salt stressed strawberry plant and more allocated in leaves compared to control. Dry matter partitioning between shoots and roots was differently affected by supply of SA under salinity condition. Root tissue density and root:shoot dry weight could be used as indices of dry matter partitioning between root and shoots. In conclusion, our data show that SA, especially 4 mM dose, provided the dry matter distribution to roots and decreased the adverse effects of salt stress in strawberry plant growth.

REFERENCES

- Akçay D, Eşitken A 2017. MM106 Anacı ve Üzerine Aşılı Golden Delicious Elma Çeşidine Tuz Stresinin Etkileri. Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi, 3(2): 228-232.
- Aras S, Arslan E, Esitken A 2015. Biochemical and Physiological Responses of Lemon Plant Under Salt Stress. 2nd International Conference on Sustainable Agriculture and Environment, , 30 September–3 October 2015, Konya.
- Aras S, Eşitken A 2018. Physiological Responses of Cherry Rootstocks to Short Term Salinity. Erwerbs-Obstbau, 60: 161-164.
- Chakrabarti N, Mukherjee S 2003. Effect of Phytohormones Pretreatment on Nitrogen Metabolism in *Vigna radiata* Under Salt Stress. Biologia Plantarum, 36: 63–66.
- Chartzoulakis K, Loupassaki M, Bertaki M, Androulakis I 2002. Effects of NaCl Salinity on Growth, Ion Content and CO₂ Assimilation Rate of Six Olive Cultivars. Scientia Horticulturae, 96(1-4): 235-247.
- Colla G, Roupahel Y, Cardarelli M, Rea E 2006. Effect of Salinity on Yield, Fruit Quality, Leaf Gas Exchange, and Mineral Composition of Grafted Watermelon Plants. HortScience, 41(3): 622-627.
- El-Desouky SA, Atawia AAR 1998. Growth Performance of Some Citrus Rootstocks Under Saline Conditions. Alexandria Journal of Agricultural Research, 43: 231–254.
- Galli V, da Silva Messias R, Perin EC, Borowski JM, Bamberg AL, Rombaldi CV 2016. Mild Salt Stress Improves Strawberry Fruit Quality. LWT-Food Science And Technology, 73: 693-699.
- Gamier E, Laurent G 1994. Leaf Anatomy, Specific Mass and Water Content In Congeneric Annual and Perennial Grass Species. New Phytologist, 128: 725-736.
- Garriga M, Muñoz CA, Caligari PD, Retamales JB 2015. Effect of Salt Stress on Genotypes of Commercial (*Fragaria X ananassa*) and Chilean Strawberry (*F. chiloensis*). Scientia Horticulturae, 195: 37-47.
- Gunes A, Inal A, Alpaslan M, Eraslan F, Bagci EG, Cicek N 2007. Salicylic Acid Induced Changes on Some Physiological Parameters Symptomatic For Oxidative Stress and Mineral Nutrition In Maize (*Zea mays* L.) Grown Under Salinity. Journal of Plant Physiology, 164(6): 728-736.
- Huang Y, Tang R, Cao Q, Bie Z 2009. Improving the Fruit Yield and Quality of Cucumber by Grafting onto the Salt Tolerant Rootstock Under NaCl Stress. Scientia Horticulturae, 122(1): 26-31.
- Hummel I, Vile D, Violle C, Devaux J, Ricci B, Blanchard A, Garnier E, Roumet C 2007. Relating Root Structure and Anatomy to Whole-Plant Functioning In 14 Herbaceous Mediterranean Species. The New Phytologist, 173: 313–21.
- Karlıdag H, Yildirim E, Turan M 2009. Salicylic Acid Ameliorates the Adverse Effect of Salt Stress on Strawberry. Scientia Agricola, 66(2): 180-187.
- Karlıdag H, Yildirim E, Turan M 2011. Role of 24-Epibrassinolide In Mitigating the Adverse Effects of Salt Stress on Stomatal Conductance, Membrane Permeability, and Leaf Water Content, Ionic Composition In Salt Stressed Strawberry (*Fragaria x ananassa*). Scientia Horticulturae, 130(1): 133-140.
- Kaya C, Kirnak H, Higgs D, Saltali K 2002. Supplementary Calcium Enhances Plant Growth and Fruit Yield In Strawberry Cultivars Grown at High (NaCl) Salinity. Scientia Horticulturae, 93(1): 65-74.
- Keutgen AJ, Pawelzik E 2008. Quality and Nutritional Value of Strawberry Fruit Under Long Term Salt Stress. Food Chemistry, 107(4): 1413-1420.
- Koike T 1988. Leaf Structure and Photosynthetic Performance as Related to the Forest Succession of Deciduous Broad-Leaved Trees. Plant Species Biology, 3: 77-87.
- Lupini A, Sorgonà A, Princi MP, Sunseri F, Abenavoli MR 2016. Morphological and Physiological Effects of Trans-Cinnamic Acid and Its Hydroxylated Derivatives on Maize Root Types. Plant Growth Regulation, 78: 263–273.
- Marschner H, Kirkby EA, Cakmak I 1996. Effect of Mineral Nutritional Status on Shoot-Root Partitioning of Photoassimilates and Cycling of Mineral Nutrients. Journal of Experimental Botany, 47: 1255-1263.
- Masoni A, Ercoli L, Mariotti M, Arduini I 2007. Post-Anthesis Accumulation and Remobilization of Dry Matter, Nitrogen and Phosphorus in Durum Wheat as Affected by Soil Type. European Journal of Agronomy, 26(3): 179-186.
- Mehta P, Jajoo A, Mathur S, Bharti S 2010. Chlorophyll a Fluorescence Study Revealing Effects of High Salt Stress on Photosystem II in Wheat Leaves. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 16-20.
- Miura K, Tada Y 2014. Regulation of Water, Salinity, and Cold Stress Responses by Salicylic Acid. Frontiers in Plant Science, 5: 1-12.

- Nazar R, Iqbal N, Syeed S, Khan NA 2011. Salicylic Acid Alleviates Decreases in Photosynthesis Under Salt Stress by Enhancing Nitrogen and Sulfur Assimilation and Antioxidant Metabolism Differentially in Two Mungbean Cultivars. *Journal of Plant Physiology*, 168(8): 807-815.
- Noreen S, Ashraf M 2008. Alleviation of Adverse Effects of Salt Stress on Sunflower (*Helianthus annuus* L.) by Exogenous Application of Salicylic Acid: Growth and Photosynthesis. *Pakistan Journal of Botany*, 40(4): 1657-1663.
- Ostonen I, Lohmus K, Helmisaari HS, Truu J, Meel S 2007. Fine Root Morphological Adaptations in Scots Pine, Norway Spruce and Silver Birch along a Latitudinal Gradient in Boreal Forests. *Tree Physiology*, 27(11): 1627-1634.
- Pammenter NW, Drennan PM, Smith VR 1986. Physiological and Anatomical Aspects of Photosynthesis of Two *Agrostis* Species at a Sub-Antarctic Island. *New Phytologist*, 102: 143-160.
- Pessarakli M, Szabolcs I 2010. Soil Salinity and Sodicity as Particular Plant/Crop Stress Factors. In: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*, thirded. CRC Press, Boca Raton, pp: 3-21.
- Szepesi Á, Csiszár J, Gémes K, Horváth E, Horváth F, Simon ML, Tari I 2009. Salicylic Acid Improves Acclimation to salt stress by Stimulating Abscisic Aldehyde Oxidase Activity and Abscisic Acid Accumulation, and Increases Na⁺ Content in Leaves without Toxicity Symptoms in *Solanum lycopersicum* L. *Journal of Plant Physiology*, 166(9): 914-925.
- Tohma O, Esitken A 2011. Response of Salt Stressed Strawberry Plants to Foliar Salicylic Acid Pre-Treatments. *Journal of Plant Nutrition*, 34(4): 590-599.
- Wahl S, Ryser P 2000. Root Tissue Structure is Linked to Ecological Strategies of Grasses. *New Phytologist*, 148:459-471.
- Wardlaw IF 1990. The Control of Carbon Partitioning in Plants. *New Phytologist*, 116(3): 341-381.
- Yin R, Bai T, Ma F, Wang X, Li Y, Yue Z, 2010. Physiological Responses and Relative Tolerance by Chinese Apple Rootstocks to NaCl Stress. *Scientia Horticulturae*, 126: 247-252.
- Zrig A, Tounekti T, Vadel AM, BenMohamed H, Valero D, Serrano M, Chtara C, Khemira H 2011. Possible Involvement of Polyphenols and Polyamines in Salt Tolerance of Almond Rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49: 1313-1320.

Physiological Effects of Photoselective Nets in Strawberry Plant

Servet ARAS¹, Ahmet EŞİTKEN²

¹Yozgat Bozok University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, 66200, Yozgat, Turkey, ²Selçuk University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, 42030, Konya, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-0347-6552>, ²<https://orcid.org/0000-0002-6140-7782>

✉: servet.aras@bozok.edu.tr

ABSTRACT

The sunlight manipulation can be utilized to promote the desired plant physiology by using photoselective nets. In our study, we tested different colored nets to determine the physiological responses of the strawberry plant. The study was conducted in 2016 at Selçuk University in Turkey. A strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) cv Kabarla was used in the study planted in 7 L pots. Before the shading treatment, all plants were grown outdoors. For the shading experiment, sunlight was declined by red, green and black nets allowing 40% shade with covering from July until September of 2016 (during 2 months). At the end of the experiment, some physiological and microclimate properties were evaluated. The green net showed the highest SPAD value (39.79), while the lowest value was obtained in red net (34.99). The photoselective nets increased anthocyanin compared to control. Stomatal conductance in the red colored net decreased by approximately 38% when compared to full sunlight. The lowest soil temperature was observed under green colored net. Colored nets increased air temperature compared to control. As a result, the mitigative effect of the photoselective nets against radiation could be used to decrease the malignant effects of environmental stresses such as drought, excessive solar radiation, salinity.

Research Article

Article History

Received : 11.04.2019

Accepted : 24.07.2019

Keywords

Photoselective net

Physiology

Shading

Strawberry

Fotoselektif Netlerin Çilek Bitkilerine Fizyolojik Etkileri

ÖZET

Güneş ışığından faydalanma fotoselektif fileler aracılığıyla bitki fizyolojisini istenilen doğrultuda değiştirmek amacıyla kullanılabilir. Çalışmamızda farklı renkteki fileleri çilek bitkisinin fizyolojik tepkilerini belirleme amacıyla denenmiştir. Çalışma 2016 yılında Selçuk Üniversitesinde kurulmuştur. Kabarla çilek çeşidi çalışma için seçilmiş ve Mayıs ayında 7 litrelik saksılara dikilmiştir. Denemeye başlamadan önce bütün bitkiler dışarıda yetiştirilmiş ve düzenli sulanmıştır. Gölge uygulaması için, güneş ışığı %40' lık gölgelemeye sahip kırmızı, yeşil ve siyah filelerle azaltılmış ve Temmuz-Eylül ayları arasında (2 ay) gölgelenmiştir. Çalışmanın sonunda bazı fizyolojik ve mikroklima özellikleri değerlendirilmiştir. Yeşil file en yüksek SPAD değerine (39.79) sahipken kırmızı file en düşük değere (34.99) sahip olmuştur. Fotoselektif netler bitkilerin antosiyanin içeriğini kontrole kıyasla artırmıştır. Stoma iletkenliği kırmızı filede tam güneş ışığına kıyasla %38 azalmıştır. En düşük toprak sıcaklığı yeşil filede belirlenmiştir. Renkli fileler hava sıcaklığını kontrol grubuna göre artırmıştır. Sonuç olarak, fotoselektif filelerin radyasyona karşı faydalı etkisi kuraklık, aşırı ışık radyasyonu, tuzluluk gibi çevresel streslerin zararlı etkilerini azaltmada kullanılabilir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 11.04.2019

Kabul Tarihi : 24.07.2019

Anahtar Kelimeler

Fotoselektif file,

Fizyoloji,

Gölgeleme,

Çilek

INTRODUCTION

The sunlight management has been an important study to maintain optimum fruit production and quality in orchard systems. Optimizing of sunlight use can be performed with some cultural practices such as pruning, training system, orchard design, with regard to improve the quantity of light (the amount of photosynthetically active radiation, PAR) (Corelli-Grappadelli and Lakso, 2007; Bastias and Corelli-Grappadelli, 2012). Moreover, growers use protective netting to reduce the light quantity for prevention of fruit sunburn, reduction in soil water and diminishing hail damages (McCaskill et al., 2016; Kalcsits et al., 2017; Mupambi et al., 2018). Besides, light quality (spectral composition of sunlight) dramatically influence plant growth and physiology was less studied in fruits. Light quality controls many regulations such as stomatal activity, flower induction, fruit development, increase in plant growth and biomass (Smith, 1994; Matsuda et al., 2004). These responses as a result of light quality are mediated by many pigment-based photoreceptors such as cryptochromes, phototropins (Batschauer, 1998; Wang and Folta, 2013).

Light quality management can be performed by utilizing photo selective (colored) nets to promote physiological responses and plant growth, so these nets can alter both quantity and quality of solar radiation (Martins et al., 2008; Bastias and Corelli-Grappadelli, 2012; Oliveira et al., 2016). Photosensitive nets change the spectrum of transmitted light, with the blue and red nets exhibiting peaks in the blue-green (400-540 nm) region and in the red region (590 nm), respectively (Oren-Shamir et al., 2001). In addition, the colored nets increases the relative content of scattered vs. direct light and absorbs infra-red radiation (Shahak et al., 2004). The effect of color type of nets on plants is similar to that of the color of light reflecting the same behavior on plants. For instance, red net provides the benefits by the greater availability of the red radiation (above 590 nm) (Henrique et al., 2011). Red shade nets decrease blue, green, and yellow waves and add waves in the red and far-red spectral range (Pinto and Bertolucci, 2014; Stagnari et al., 2018).

Photosensitive nets leads to morphological and physiological alterations in plants (Bassett et al., 2006). Growth changes due to the presence of white, red-white, red-black and green-black colored nets were reported for apple (Solomakhin and Blanke, 2008). Light modification under red and white photosensitive net provided better apple fruit yield and quality compared to blue, grey and black once (Shahak et al., 2008). Bastias et al. (2011) reported that net photosynthesis in apple was significantly

higher under 46.3% blue and 56.3% grey nets compared to 12.5% pearl net. Moreover, increase in chlorophyll content has been reported in basil plant as an effect of the green colored net (Stagnari et al., 2018).

Many researches related with nettings have focused on shade percentages of the nets and black, white and dark green colored shade nets are widely utilized types. However, as far as we know, detailed information about use of colored net is currently limited. To gain insights into different colored nets, finding out the responses of plants under photosensitive shade nets have a significance. Furthermore, the physiological changes in plant by light quality via photosensitive nets has been studied in many fruits such as apple (Solomakhin and Blanke, 2008), orange (Zhou et al., 2018), avocado (Tinyane et al., 2018), less studied in strawberry. Therefore, it is still unknown the effects of photosensitive nets on the physiology of strawberry plant. Accordingly, here we identified physiological impacts of colored nets on strawberry plant.

MATERIAL and METHOD

The experiment was performed in 2016 in a greenhouse of Department of Horticulture at Selcuk University in Turkey. Strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) cv Kabarla was chosen for the study. The experiment was designed as randomized plot design with three replications, three plants each. The plants were planted in 7 L pots containing soil, substrate and perlite (1:3:1; v/v/v) in May of 2016. Before the shading treatment, all plants were grown outdoors. For the shading experiment, sunlight was declined by red, green and black nets allowing 40% shade with covering from July until September (during 2 months) of 2016. Nets placed over a metal tunnel were 1.5 m high, and each group was separated from the other plots.

SPAD and anthocyanin measurements

Relative chlorophyll (Chl) was measured as SPAD value with a Minolta SPAD-502 chlorophyll meter. Relative anthocyanin content of the leaves was measured with Anthocyanin Content Meter (ACM-200 plus).

Stomatal conductance and leaf temperature

Stomatal conductivity and leaf temperature were measured with a leaf porometer (Li-COR).

Leaf relative water content (LRWC)

Leaf relative water content (LRWC) was determined by the procedure of Smart and Bingham (1974). Fresh weights (FW) of leaves were determined and then

leaves were placed in distilled water to rehydrate. After 5 hours, turgid weights (TW) were determined. Afterward, leaves were oven-dried and dry weights (DW) were determined. LRWC was calculated using the equation as:

$$\text{LRWC}(\%) = ((\text{FW}-\text{DW})/(\text{TW}-\text{DW})) \times 100$$

Soil temperature, air temperature and air humidity

Soil temperature was measured by using soil thermometer. Air temperature and air humidity of phyllosphere (on the leaf surface) under the photosensitive nets and above the un-shaded control plants were recorded by using mobile data logger at the time when the soil temperature was recorded.

Statistical analyses

Data were analyzed with the statistical software package SPSS (20.0) compared by the Duncan's test at 5%.

RESULTS

The red, green and black shade nets as compared to full sunlight significantly influenced physiology of strawberry plant and the air temperature and

humidity. Thus, the results demonstrated significant differences among colored nets in quality of light. SPAD readings showed that chlorophyll content in leaves slightly changed after installation of the photosensitive nets. The highest SPAD value was measured in green net treatment (39.79) (Table 1). The highest anthocyanin was obtained from black net (12.13) and while the lowest value was in full sunlight (9.72). Red net (150.36 $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) led a remarkable decrease in stomatal conductivity compared to control (241.83 $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Stomatal conductance in the red colored net decreased approximately 38% when compared to full sunlight. The leaf temperature was not affected significantly. Plants growing under intense radiation had higher LRWC than plants in shaded conditions. Colored nets considerably decreased water loss compared to control.

The lowest soil temperature (23.06 °C) was observed under green colored net (Table 2). Colored nets increased air temperature compared to control. The highest air humidity was seen in control (35.33%), while black and red nets had the highest values (30.66 and 31.00%, respectively).

Table 1. Effects of colored nets on the plant physiology

	SPAD	Anthocyanin	Stomatal Conductance	Leaf Temperature	LRWC
Control	35.84 b	9.72 b	241.83 a	32.16	68.00 b
Red Net	34.99 b	11.17 ab	150.36 b	32.30	81.57 a
Green Net	39.79 a	10.63 ab	230.26 a	32.43	83.57 a
Black Net	35.83 b	12.13 a	244.76 a	32.03	83.89 a

Means separation within column by Duncan's multiple range test. $p < 0.05$

Table 2. Effects of colored nets on the microclimate conditions

	Soil Temperature (°C)	Air Temperature (°C)	Air Humidity (%)
Control	24.75 a	31.90 b	35.33 a
Red Net	24.66 a	32.73 a	31.00 c
Green Net	23.06 b	32.46 a	33.66 b
Black Net	23.56 ab	32.76 a	30.66 c

Means separation within column by Duncan's multiple range test. $p < 0.05$

DISCUSSION

Strawberry is an important berry fruit distributed worldwide. In the current study, we utilized different colored nets at moderate shade level (40%) in order to reveal plant responses against different light quality. Alterations in plant responses with different color screens were observed compared to the cultivation in full sunlight. It is evident that the photosensitive nets affected both physiological and environmental factors. Thus, it can be inferred that the plant of 'Kabarla' strawberry is sensitive to light quality, and physiologically reacts with regard to coloring. Furthermore, we speculated that colored net affected the plants as reflecting the effects of own color in the spectrum of light.

Increase in chlorophyll content an adaptation of plant to shade conditions in order to receive more light amounts under limited light (Stagnari et al., 2018). Li and Syvertsen(2006) reported that citrus trees grown under red net exhibited the lowest chlorophyll content than citrus trees grown under other types of shade nets. In the current study, shading had a significant effect on leaf relative chlorophyll content (SPAD). The green net enhanced SPAD value compared with full sunlight and red and black nets. Similar to chlorophyll content, photosensitive nets significantly increased the relative leaf anthocyanin content compared with control. Plants accumulate anthocyanins as an adaptive response to capture more light. Plants also produce anthocyanin to

alleviate photooxidative damages in leaves (Gould et al., 1995). In a previous experiment, the anthocyanin content of *Polygonum hydropiper* plant increased under red light (Miura and Iwata, 1981). The light receptors such as phytochrome (red light) may play roles in anthocyanin synthesis (Mizuno et al., 2009).

Plants subjected to drought stress demonstrate a decrease in stomatal conductance as a defense mechanism to avoid water loss. In the current experiment, significant alterations in stomatal conductance were observed when comparing strawberry plant grown under the photosensitive nets in relation to full sunlight plant. The stomatal conductance tended to be lower under red and green net and evaluation among different colored nets demonstrated that red net effectively decreased leaf stomatal conductance when compared to full sunlight. Moreover, there was no significant differences in stomatal conductance were found between control and black nets. In a study of Goins et al. (1997) it was reported that photosynthesis decreased under red LEDs may be associated with lower stomatal conductivity. There was no statistical difference in leaf temperature among shading treatments due to using the same shading level above plants and the leaf temperature was not affected by color of net.

The increase in LRWC caused by photosensitive nets was observed in our study. Protection of water loss is a result of lower levels of irradiance led by shade treatment. There was no significant difference in leaf relative water content occurred among photosensitive nets.

Photosensitive nets reduced soil temperature. The rankings of the treatments based on the soil temperature were as follows: green < black < red \approx control. Similar results as decreasing soil temperature were obtained in apple trees under blue and red nets (Kalcsits et al., 2017). Many studies reported that nets reduced canopy temperature. However, in our experiment air temperature above the leaves increased under nets. The current study was built semi-opened and well-ventilated conditions. Therefore, the air temperature and humidity were mainly affected by the external climatic conditions as reported in the study of Zhou et al. (2018).

In the current experiment, green net led higher chlorophyll content, while black net had the highest anthocyanin content among colored nets. In addition, red net showed the lowest stomatal conductance value. Different colored nets possessed distinct properties on plants, thus the color of net should be chosen according to their behaviors on plants. Farmers should decide the color of net on their purpose depending environmental conditions such as drought condition.

CONCLUSION

We suggest that different colored nets lead distinct physiological responses and modified light quality leading to protection of water loss, higher air temperature and lower air humidity on phyllosphere as compared to the unshaded plants. As a result, the mitigative effects of the photosensitive nets against radiation could be used to decrease the malignant effects of environmental stresses. When we consider which photosensitive net was the most useful for strawberry plant, many factors should be taken into account. For instance, the red net should be the most suitable for strawberry production under water-limited conditions through decreasing stomatal conductance. However, the data were preliminary and more research is required for understanding the physiological mechanisms underlying changes in the plant responses and for evaluating the results with other fruit species.

REFERENCES

- Bassett C, Wisniewski M, Artlip T, Norelli J2006. Global analysis of genes regulated by low temperature and photoperiod in peach bark. *Journal of the American Society for Horticultural Science*,131(4):551-563.
- Bastias RM, Corelli-Grappadelli L 2012. Light quality management in fruit orchards: physiological and technological aspects. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(4): 574.
- Bastias RM, Losciale P, Chieco C, Rossi F, Corelli-Grappadelli L2011. Physiological aspects affected by photosensitive nets in apples: preliminary studies. *Acta Horticulturae*, 907: 217–220.
- Batschauer A1998. Photoreceptors of higher plants. *Planta*, 206:479-492.
- Corelli-Grappadelli L, LaksoAN2007. Is maximizing orchard light interception always the best choice? *Acta Horticulturae*, 732:507-518.
- Goins GD, Yorio NC, Sanwo MM, Brown CS 1997. Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting. *Journal of Experimental Botany*, 48(7): 1407-1413.
- Gould KS, Kuhn DN, Lee DW, Oberbauer SF 1995. Why leaves are sometimes red. *Nature*, 378: 241-242.
- Henrique PC, AlvesJD, DeunerS, GoulartPFP, Livramento DE2011. Aspectos fisiológicos do desenvolvimento de mudas de café cultivadas sob telas de diferentes colorações. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*,46:458-465.
- Kalcsits L, Musacchi S, Layne DR, Schmidt T, Mupambi G, Serra S, Mendoza M, Asteggiano L, Jarolmasjed S, Sankaran S, Khot LR, Espinoza CZ 2017. Above and below-ground environmental

- changes associated with the use of photosensitive protective netting to reduce sunburn in apple. *Agricultural and Forest Meteorology*, 237: 9-17.
- Li KT, Syvertsen J 2006. Young tree growth and leaf function of citrus seedlings under colored shade netting. *HorstScience*, 41(4):1022.
- Martins JR, Alvarenga AA, Castro EM, Pinto JE, BP, Silveira HR, Santos AR, Silva GM 2014. Avaliação do crescimento e do teor de óleo essencial em plantas de *Ocimum gratissimum* L. cultivadas sob malhas coloridas. *The Brazilian Journal of Medicinal Plants*, 10:102-107.
- Matsuda R, Ohashi-Kaneko K, Fujiwara K, Goto E, Kurata K 2004. Photosynthetic characteristics of rice leaves grown under red light with or without supplemental blue light. *Plant and Cell Physiology*, 45(12): 1870-1874.
- McCaskill MR, McClymont L, Goodwin I, Green S, Partington DL 2016. How hail netting reduces apple fruit surface temperature: A microclimate and modelling study. *Agricultural and Forest Meteorology*, 226: 148-160.
- Miura H, Iwata M 1981. Effect of on anthocyanin content of seedlings of benitade (*Polygonum hydropiper* L.). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 50:44-52.
- Mizuno T, Amaki W, Watanabe H 2009. Effects of monochromatic light irradiation by LED on the growth and anthocyanin contents in leaves of cabbage seedlings. In VI International Symposium on Light in Horticulture, 907: 179-184.
- Mupambi G, Anthony BM, Layne DR, Musacchi S, Serra S, Schmidt T, Kalcsits LA 2018. The influence of protective netting on tree physiology and fruit quality of apple: A review. *Scientia Horticulturae*, 236: 60-72.
- Oliveira GC, Vieira WL, Bertolli SC, Pacheco AC 2016. Photosynthetic behavior, growth and essential oil production of *Melissa officinalis* L. cultivated under colored shade nets. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 76(1): 123-128.
- Oren-Shamir M, Gussakovsky EE, Shpiegel E, Nissim-Levi A, Ratner K, Ovadia R, Giller YE, Shahak Y 2001. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76:353-361.
- Pinto JE, Ferraz EO, Bertolucci SK, Silveira HR, Santos AR, Silva GM 2014. Produção de biomassa e óleo essencial em mil folhas cultivada sob telas coloridas. *Horticultura Brasileira*, 32(3): 321-326.
- Shahak Y, Gussakovsky E, Gal E, Ganelevin R 2004. ColorNets: Crop protection and light-quality manipulation in one technology. In VII International Symposium on Protected Cultivation in Mild Winter Climates: Production, Pest Management and Global Competition 659: 143-151.
- Shahak Y, Ratner K, Giller YE, Zur N, Or E, Gussakovsky EE, Stern R, Sarig P, Raban E, Harcavi E, Doron I, Greenblat-Avron Y 2008. Improving solar energy utilization, productivity and fruit quality in orchards and vineyards by photosensitive netting. *Acta Horticulturae*, 772: 65-72.
- Smart RE, Bingham GE 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology*, 53: 258-260.
- Smith H 1994. Sensing the light environment: the functions of the phytochrome family. In: Kendrick RE, Kronenberg GHM (eds). *Photomorphogenesis in Plants*. Springer, Dordrecht, 374-416.
- Solomakhin A, Blanke MM 2008. Coloured hailnets alter light transmission, spectra and phytochrome, as well as vegetative growth, leaf chlorophyll and photosynthesis and reduce flower induction of apple. *Plant Growth Regulator*, 56(3): 211-218.
- Stagnari F, Di Mattia C, Galieni A, Santarelli V, D'Egidio S, Pagnani G, Pisante M 2018. Light quantity and quality supplies sharply affect growth, morphological, physiological and quality traits of basil. *Industrial Crops and Products*, 122: 277-289.
- Tinyane PP, Soundy P, Sivakumar D 2018. Growing 'Hass' avocado fruit under different coloured shade netting improves the marketable yield and affects fruit ripening. *Scientia Horticulturae*, 230: 43-49.
- Wang Y, Folta KM 2013. Contributions of green light to plant growth and development. *American Journal of Botany*, 100(1): 70-78.
- Zhou K, Jerszurki D, Sadka A, Shlizerman L, Rachmilevitch S, Ephrath J 2018. Effects of photosensitive netting on root growth and development of young grafted orange trees under semi-arid climate. *Scientia Horticulturae*, 238: 272-280.

Effects of Benzyladenine and Naphthalene Acetic Acid Applications on Fruit Thinning and Quality of Some Apple Cultivars Grafted onto MM 106 Rootstocks

Berna TURAK¹, Ersin GÜLSOY^{2*}, Rafet ASLANTAŞ³

¹Ministry of Food Agriculture and Forestry, Iğdir, 76000 Turkey, ²Iğdir University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, Iğdir, 76000 Turkey, ³Osmangazi University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, Eskişehir, 26480 Turkey*

¹<https://orcid.org/0000-0001-6321-2981>, ²<https://orcid.org/0000-0002-4217-0695>, ³<https://orcid.org/0000-0002-1368-5673>

✉: ersin.gulsoy@igdir.edu.tr

ABSTRACT

Fruit thinning is an essential practice to improve fruit size and quality, control alternate bearing and increase return bloom in the next season. Fruit thinning is performed by hand or by using some chemicals. In this study, the effect of chemical thinning, namely two doses of 5 and 10 ppm of Naphthalene Acetic Acid (NAA) or of 100 and 150 ppm of Benzyladenine (BA) on fruit thinning and some fruit quality traits Golden Delicious, Red Chief and Granny Smith apple cultivars grafted on MM 106 clone rootstock in 2015 was tested and compared with the effect of hand thinning. Chemical treatment was applied after three weeks of full bloom, while the hand thinning was made to be released a fruit per cluster on each branch in small fruit period after June-drops. The results showed that the highest fruit thinning ratio was found in the Granny Smith cultivars, with 5 ppm (93.80%) and 10 ppm (91.65%) of NAA, 100 ppm (89.88%) and 150 ppm (88.98%) of BA. It can be concluded that the applications of 10 ppm of NAA and 100 and 150 ppm of BA were found effective for fruit thinning and fruit quality. Furthermore, the hand thinning application increased the fruit weights more than all the chemical applications.

Research Article

Article History

Received : 31.05.2019

Accepted : 22.08.2019

Keywords

Apple
Thinning
Quality
Benzyladenine
Naphthalene Acetic Acid

MM106 Anacı Üzerine Aşılı Bazı Elma Çeşitlerinde Benziladenin ve Naftalen Asetik Asit Uygulamalarının Meyve Seyreltmesi ve Kalitesi Üzerine Etkisi

ÖZET

Meyve seyreltmesi, meyve büyüklüğü ve kalitesini iyileştirmek periyodisiteyi kontrol etmek ve sonraki yılın çiçek tomurcuğu oluşumunu arttırmak için yapılan önemli bir uygulamadır. Meyve seyreltmesi, elle veya bazı kimyasal maddeler kullanılarak yapılır. 2015 yılında yürütülen çalışmada MM 106 klon anacı üzerine aşılı Granny Smith, Golden Delicious ve Red Chief elma çeşitlerinde NAA'nın 5 ve 10 ppm'lik dozları ile BA'nin 100 ve 150 ppm'lik dozlarının meyve seyreltmesi ve bazı meyve kalite özellikleri üzerine etkisi araştırılmış ve elle seyreltme uygulamasıyla karşılaştırılmıştır. Elle seyreltme uygulaması Haziran dökümünden sonra her hüzmeye ortada bir meyve kalacak şekilde yapılırken, kimyasal seyreltme uygulaması tam çiçeklenmeden 3 hafta sonra yapılmıştır. Çalışmada en yüksek seyreltme oranı Granny Smith çeşidinde sırasıyla NAA'nın 5 ppm'lik (%93.80) ve 10 ppm'lik (% 91.65), dozları ile BA'nin 100 ppm'lik (%89.88) ve 150 ppm'lik (% 88.98) dozlarından elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre NAA'nın 10 ppm'lik ve BA'nin 100 ve 150 ppm'lik uygulamaları etkili meyve seyreltmesi ve meyve kalitesi için önemli bulunmuştur. Ayrıca elle seyreltme uygulaması kimyasal uygulamalara göre meyve ağırlığını daha fazla arttırmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 31.05.2019

Kabul Tarihi : 22.08.2019

Anahtar Kelimeler

Elma
Seyreltme
Kalite
Benziladenin
Naftalen Asetik Asit

INTRODUCTION

One of the most important goals in apple growing as in other fruit species is to obtain high yield and high-quality products. Thinning of the apples increases the value of the product by improving the quality characteristics such as size, color and taste, and by allowing the trees to produce products on a regular basis every year. Therefore, the fruit thinning is considered as an important factor determining profitability in apple growing (Link, 2000).

Thinning is the process of removing excessive flowers and fruits from the tree using certain methods of removal (Dennis, 2000; Webster, 2002). Thinning is carried out manually, mechanically, or in the form of thinning of flowers and fruits by the use of some chemical substances (Ryugo, 1988; Rom, 2001). The efficiency of the thinning used in apple cultivation may vary depending on factors such as species, varieties, climate factors, type of chemical and application dose, physiological structure of tree (Jones et al. 2000; Greene, 2002).

NAA is the first synthetic auxin type chemical agent used in apple thinning (Wertheim, 2000). NAA is absorbed from the leaf and promotes the formation of the separation layer by promoting the formation of ethylene, thus forming the breakdowns (Tromp, 2000). The most effective application time of NAA as a chemical thinner is when the fruit diameter reaches 11-13 mm or 7-9 mm (Greene, 2002; Pesteanu, 2013).

Generally, the efficient amount of NAA concentration is between 5 and 20 ppm (Keserovic et al. 2016). As the dose of application increases, the thinning rate increases as well, but the higher doses cause damage to the leaves and the fruits remain small (Burak et al. 1997).

Benzyladenine (BA) is a more effective and stable compound in apple thinning by increasing fruit size and quality, but decreasing the fruit yield (Greene et al., 1990). Through the stimulation of cell division, BA leads to the production of bigger fruits by increasing the number of cells per fruit (Yuan and Greene, 2000). Even though it is stated that BA responds to thinning in the period when fruits reach a larger diameter (Elfving and Cline, 1993), the most effective period of

application is when the fruit diameter reaches 10 mm (Basak, 1996).

The aim of this study was to determine the effect of thinning applications on some fruit properties and fruit quality. The effects of some chemical substances (NAA, 5 and 10 ppm; BA, 100 and 150 ppm) were tested and compared to the hand thinning in Golden Delicious, Red Chief and Granny Smith apple varieties grafted on clone rootstock MM 106.

MATERIAL and METHOD

Study field

Having a microclimate feature and a vegetation period between 137-191 days according to the Frost Calendar of Turkey (Simsek et al., 2017), Iğdir province and its surroundings sustain a different position in the Eastern Anatolia Region in terms of climatic conditions and plant variety. Iğdir plain with an average of 850 m elevation from the sea is surrounded by altitudes of 1200-2000 meters. This geological structure of Iğdir province can sometimes be advantageous (agricultural diversity) and sometimes cause difficulties (drainage problem, salinity, cold air mass subsidence).

Soil properties of study field are as follows: Textures of study fields were clay loam, and pH, EC%, OM%, lime%, potassium (kg da^{-1}) and phosphorus (kg da^{-1}) values were between 7.25-7.30 (slightly alkaline); 0.031-0.048 (salt-free); 2.17-4.40 (medium, good and high); 6.16-6.98 (medium calcareous); 81.90-124.60 (much and too much); 0.17-0.38 (very low), respectively.

According to 2010-2015 average, temperature, rainfall and relative humidity of Iğdir province are given in Table 1. According to these values, summers are hot and dry, winters are cold and dry. Springs are more rainy with a insufficient level.

Orchard

This study was conducted in Iğdir in 5-6 years old apple orchard in 2015. The experiment site included semi-dwarf Golden Delicious, Granny Smith, and Red Chief apple trees grafted onto MM 106 clone rootstock. The trial was set as a completely randomized design with three replication.

Table 1. Some climate parameters of Iğdir (2010-2015).

P/M	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	A
T	0.1	3.1	8.4	14.2	18.9	24.6	28.0	27.0	22.8	14.1	6.6	-0.4	13.9
Pr	7.8	11.0	33.1	46.4	54.4	29.8	8.0	11.4	7.3	62.2	8.6	14.6	294.5
RH	68.4	62.1	48.7	49.6	54.3	43.2	38.6	41.1	44.7	67.2	68.2	72.4	54.8

P: Parameters; M: Months; A: Annual; T: Average temperature ($^{\circ}\text{C}$); Pr: Precipitation (mm), RH(%): Relative Humidity.

Thinning applications

Two thinning applications were applied. Hand thinning was performed after June drop for each cultivar and left one fruit per cluster when fruit diameter was between 12-16 mm. Chemical thinning treatments were applied at 5 and 10 ppm concentration for NAA, at 100 and 150 ppm concentration for BA. The chemicals were applied 20 days after the full flowering dating 11th May of 2015. The control group trees were left untreated.

In the harvested fruits, fruit size, weight, firmness, yield efficiency, total soluble solids content and titratable acidity were determined. The fruit diameters were measured using a digital calliper. The fruits weighted by a sensitive scale (sensitive to 0.01 g). Fruit firmness was measured with a penetrometer by tipped 7/16 inch from Yilmaz (2008). The total soluble solids were determined by refractometer and expressed as percentage TSS in the juice. The titratable acidity (TA) was measured by titration with 0.1 N NaOH to pH 8.1 at juice extraction and expressed as percentage in malic acid (Ersilia, 2003).

Statistical Analysis

The study data was analyzed by SPSS 17.0 and the means were compared by Duncan's multiple range test. The P values of less than 0.05 were considered to be significant (George, 2011).

RESULTS AND DISCUSSION

The fruit size, yield efficiency, thinning ratio and the mean values of the total soluble solids content were found to be significant in the study ($P < 0.05$) and no significant interactions among the cultivars x thinning applications were found.

In the study, the highest fruit width of 3 apple varieties was obtained by hand thinning application. The highest average fruit width and length were found in Granny Smith with 77.84 mm and 71.95 mm, respectively. According to the results obtained in terms of fruit width and length statistical difference was observed in the cultivars of apples (Table 2). Fruit sizes increased in all three cultivars through hand thinning application. When the applications were compared with the control group, the doses of NAA at 10 ppm and BA at 150 ppm were slightly increased in all 3 varieties of fruit width and length (Table 2). Sadeler and Bolat (1999) have reported that Golden and Starking apple varieties of different doses of NAA and NAAm applications increase fruit size, and Yilmaz (2008), has reported a slight increase with the increase in the application doses in the apple size of Starkrimson Delicious and Granny Smith cultivars and Hehnen et al. (2012), has reported increase in the apple sizes of

Buckeye Gala apple varieties in both chemical and mechanical thinning applications.

When the applications were compared with the control group in terms of yield efficiency, all of thinning applications increased the productive efficiency in Red Chief. In Golden Delicious, in all the applications except the BA 150 ppm dose the yield efficiency reduced. In Golden Delicious and Granny Smith varieties BA application of 150 ppm increased efficiency (Table 2). In some of the previous literature, thinning applications are associated with lower yields (Paul and Proctor 1995; Meland, 1997; Türkeli and Barut, 2003; Karakuş and Kalyoncu 2010) while in some other cases, there is no trace of significant effect on yield (Stopar, 2006; Reyes et al. 2008; Yılmaz, 2008).

According to the results, all applications increased the thinning rate in all 3 cultivars when compared to the control group. The highest thinning ratio gained in Granny Smith of NAA 5 ppm (93.80%) application, the lowest thinning ratio gained in Golden Delicious of BA 100 ppm (62.72%) application. In the study, the highest thinning rate was found in Granny Smith with an average of 88.04%. While the increase of NAA and BA doses in the Golden Delicious and Red Chief increased the Thinning rate, increasing the dosage of both chemicals decreased the thinning rate slightly in Granny Smith (Table 2). In terms of thinning ratio, the differences between varieties may be caused by different auxin content of Golden Delicious, Granny Smith and Red Chief varieties in the NAA and BA application time.

Similar studies reported that the thinning rate has shown differences depending on the thinning method, the cultivar and dose of the chemical thinners used, the time of application, the cultivar and the ecology (Bound et al. 1991; Türkeli and Barut 2003; Yılmaz, 2008; Radivojević, 2011; Sebek, 2016).

In the study, the highest total soluble solids content (TSS) was obtained in Red Chief in all applications and the lowest was obtained in Granny Smith (except NAA-5 ppm dose) (Table 2). In all applications, the highest TSS for all 3 varieties increased to a maximum in the dose of 150 ppm BA (Table 1). The increase in the doses of NAA and BA in the Golden Delicious increased the TSS and decreased in the Granny Smith and Red Chief. In a similar study in contrast to the results found in this study, thinning applications decreased the TSS in Golden Delicious and increased in Red Chief (Reyes et al. 2008). Another study reported that use of NAA or BA + CB as a thinner reduces the content of TSS (Khanizadeh et al., 2004). The researchers attributed the increase in the rate of TSS to the decrease in the product load (Kong et al. 2009), to the increase in the absorption rate of the fruit ratio and related to the larger leaf area, and to the better nutrition of the fruits (Henriod et al. 2011).

Table 2. The effect of different fruit thinning applications on some fruit characteristics and thinning rates in three apple cultivars

Cultivars	Control	Hand	NAA 5 ppm	NAA 10 ppm	BA 100 ppm	BA 150 ppm	Average
Fruit Width (mm)							
Golden Delicious	72.79b	79.71c	68.56a	74.27b	72.35b	74.59b	73.71B**
Granny Smith	75.14a	79.93b	78.46b	77.82a	78.53b	77.16a	77.84A
Red Chief	70.71a	75.81b	71.97a	70.91a	73.30ab	73.90b	72.77B
Average	72.88B**	78.48A	73.00B	74.33B	74.73B	75.22B	
Fruit Length (mm)							
Golden Delicious	67.36b	75.74d	65.40ab	69.81ac	67.26ab	70.86c	69.41B**
Granny Smith	68.57a	75.14c	71.46b	72.79b	72.00b	71.73b	71.95A
Red Chief	64.34a	69.88b	70.07b	66.41a	66.43a	68.10b	67.54B
Average	66.76C**	73.58A	68.98BC	69.67BC	68.57BC	70.23B	
Yield Efficiency (kg cm⁻²)							
Golden Delicious	3.12	1.90	2.10	2.43	1.78	3.20	2.42A**
Granny Smith	1.22	0.88	1.36	1.10	0.94	1.35	1.14B
Red Chief	0.19	0.25	0.23	0.22	0.25	0.20	0.22C
Average	1.51a*	1.01b	1.23ab	1.25ab	0.99b	1.58a	
Thinning Ratio (%)							
Golden Delicious	52.18	65.93	64.65	77.86	62.72	73.96	66.22C**
Granny Smith	73.72	90.21	93.80	91.65	89.88	88.98	88.04A
Red Chief	57.11	85.99	72.76	80.66	68.76	74.28	73.26B
Average	61.00C**	80.71A	77.07AB	83.39A	73.79B	79.07AB	
Total Soluble Solid Content (%)							
Golden Delicious	12.37	12.37	11.60	11.77	12.93	14.33	12.56B**
Granny Smith	12.10	11.97	12.07	10.63	12.10	12.20	11.84C
Red Chief	13.33	14.00	14.40	13.47	14.57	14.47	14.04A
Average	12.60ab*	12.78ab	12.69ab	11.96b	13.20a	13.67a	

** There are 5% differences between the averages shown in different letters in the same row and column. ÖD: There is no difference between the averages shown in the same letters on the same line.

In the study, the difference between apple varieties fruit weight, firmness and titratable acidity mean values ($P < 0.05$) was found to be very important and interaction between apple varieties x applications was found to be significant.

The highest (Hand thinning, 231.66 g) and lowest (NAA-5ppm, 144.92 g) fruit weight were determined in Golden Delicious. In all varieties, thinning applications increased fruit weight compared to the control group. Granny Smith showed the highest fruit weight with an average weight of 212.88 g (Figure 1).

In previous studies, it was reported that chemical thinning applications had more effect on increasing fruit weight than hand thinning (Sadeler and Bolat 1999; Mert and Soylu 2001; Yılmaz, 2008). Albeit hand thinning in this study was more effective in increasing fruit weight than chemical thinning applications, this difference is thought to be due to the application time, application dose, effectiveness and interaction with annual maintenance works.

The highest fruit firmness was obtained from Granny Smith with 100 ppm (8.91 kg) application and the lowest was obtained from the application of hand

thinning (Golden Delicious-4.57 kg). The highest fruit firmness 8.32 kg of was obtained via BA-100 ppm thinning in Granny Smith (Figure 2). In the hand thinning application, the fruit firmness was found to be low in all varieties compared to the controls. Although the highest firmness was obtained from the control group in similar studies (Bound et al.1991; Elfving and Cline 1993; Türkeli and Barut 2003), the highest value was obtained in the chemical applications in this study.

It has been reported that the increase in fruit firmness may be the result of the reduction in the number of fruits and yield due to the thinning causing increase in the amount or activity of related enzymes (Jemric et al. 2003).

The highest titratable acidity was found in Granny Smith in all applications (Figure 3). As compared to the control group, the highest titratable acidity in Golden Delicious and Red Chief was obtained from 150 ppm of BA and 100 grams of BA in Granny Smith. In a previous study, it was determined that hand thinning increases titratable acidity by 20% more than control group (Henriod et al. 2011).

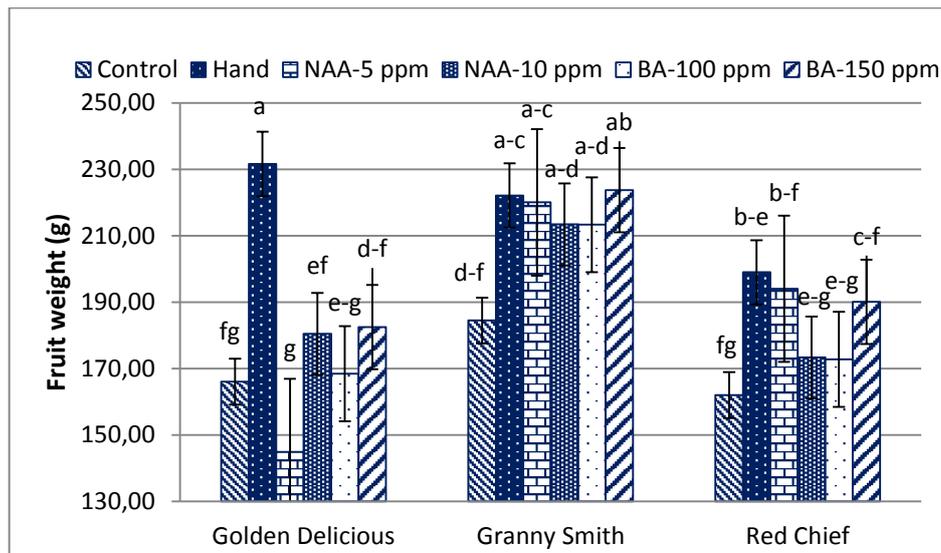


Figure 1. Variation of fruit weight in terms of x application interaction

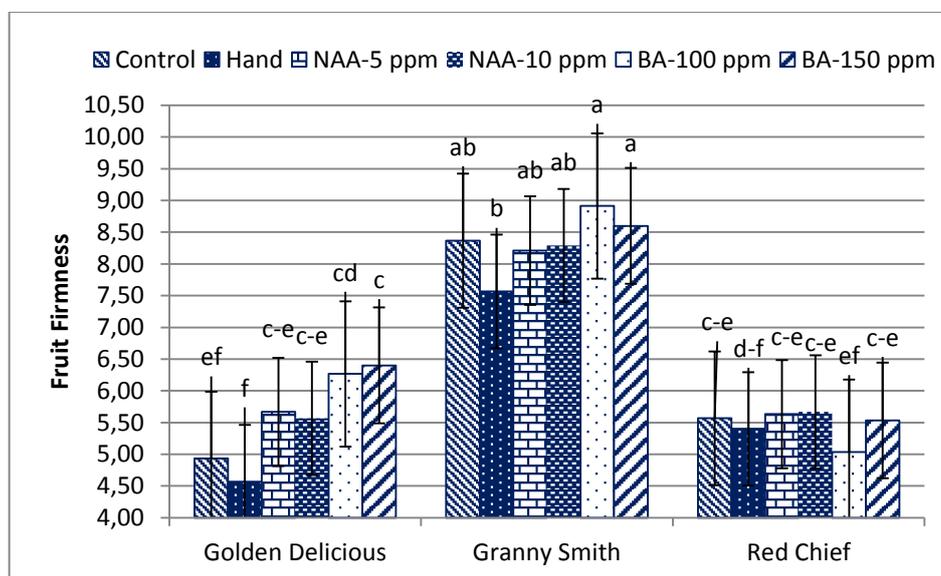


Figure 2. Cultivar x application interaction in terms of fruit firmness

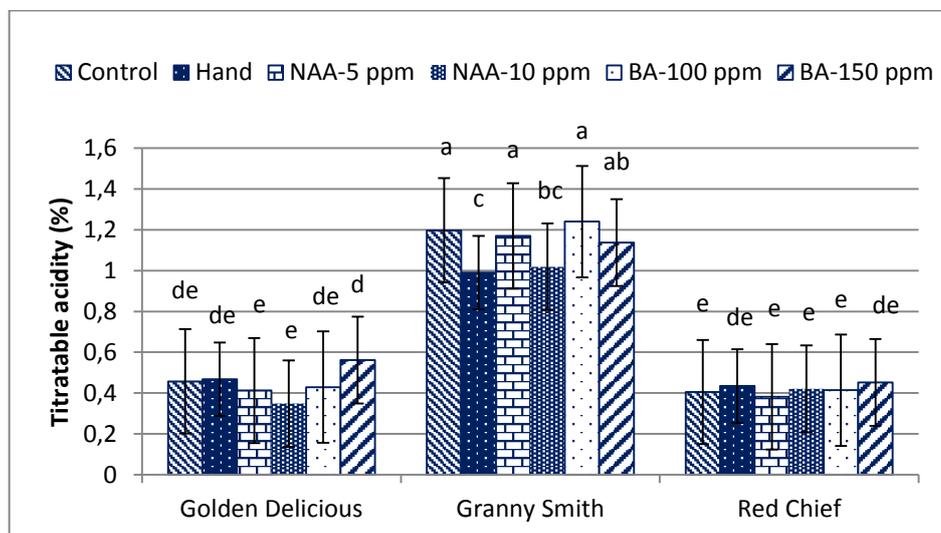


Figure 3. Cultivar x application interaction in terms of titratable acidity fruit firmness.

Similar results were obtained in this study. When titratable acidity was compared with previous studies Yılmaz, (2008) titratable acidity was higher than the results of Radivojevic et al. (2011) and it was lower than the results of Türkeli and Barut, (2010).

CONCLUSION

In this study, both hand thinning and NAA and BA applications were positively effective in thinning the fruits of Golden Delicious, Granny Smith and Red Chief cultivars. All applications increased the thinning rate in all 3 cultivars compared to the control groups. The increase in NAA and BA doses in the Golden Delicious and Red Chief increased the thinning rate, whereas the same chemical doses decreased the thinning rate slightly in the Granny Smith.

In terms of thinning ratio, different results were obtained between cultivars and these differences can be attributed to differences in the auxin content of Golden Delicious, Granny Smith and Red Chief cultivars at the time of thinning. The variation of the BA's response to thinning may be partly due to differences in environmental conditions during application. In terms of increasing the fruit weight hand thinning application leads to better results than chemicals. The highest fruit weight was recorded in Granny Smith according to the average of all applications. According to the results of the study, 10 ppm of NAA with 100 and 150 ppm of BA were found to be important for fruit thinning and fruit quality.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was a part of master's thesis of the first author under supervision of the second author.

REFERENCES

- Basak A. 1996. Benzyladenine (BA) as An Apple Fruitlets Thinning Agent – Preliminary Results. *Horticultural Science*, 28: 54-57.
- Bound SA, Jones KM, Koen TB, Oakford MJ, Barret MH, Stone NE 1991. The Interaction of Cytolin and NAA on Cropping Red Delicious Apple. *Journal of Horticultural Science* 66 (5): 559 – 56
- Burak M, Büyükyılmaz M, Öz F 1997. Starkrimson Delicious Elma Çeşidinde Meyve Seyreltmesi Üzerinde Bir Araştırma. *Yumuşak Çekirdekli Meyveler Sempozyumu* (2-5 Eylül 1997) Bildiriler 161-177, Yalova.
- Dennis FJ 2000. The History of Fruit Thinning. *Plant Growth Regulation*, 31(1): 1-16.
- Elfving DC, Cline RA 1993. Benzyladenine and Other Chemicals for Thinning Empir Apple Trees. *Journal of American Society for Hort. Sci.* 118 (5) : 593-598.
- Ersilia A 2003. Contaminants in Vegetal Products. Eurobit PH, Timisoara, Romania.
- George D 2011. SPSS for Windows Step by Step: A Simple Study Guide and Reference, 17.0 Update, 10/e. Pearson Education India.
- Greene DW 2002. Chemicals, Timing and Environmental Factors Involved in Thinner Efficacy on Apple. *Hort Science*, 37: 477-481.
- Greene DW, Autio WR, Miller P 1990. Thinning Activity of Benzyladenine on Several Apple Cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 115:394-400.
- Hennen D, Hanrahan I, Lewis K, Mcferson J, Blanke M 2012. Mechanical Flower Thinning Improves Fruit Quality of Apples and Promotes Consistent Bearing. *Scientia Horticulturae* 134: 241–244.
- Henriod RE, Palmer JW, Tustin DS 2011. Thinning Effects on 'Scifresh' Apple Fruit Quality at Harvest and After Storage. *Acta Hort.* 903: 783–788.
- Jemric T, Pavicic N, Blaskovic D, Krapac M, Pavicic D 2003. The Effect of Hand and Chemical Fruit Thinning on "Jonagored" cl. Apple Fruit Quality. *Current Studies of Biotechnology* 3: pp. 193-198.
- Jones KM, Bound SA, Oakford MJ, Gillard P 2000. Modelling of Thinning of Pome Fruits. *Plant Growth Regulation* 31: 75-84.
- Karakuş A, Kalyoncu İH 2010. Bazı Elma Çeşitlerinde Kimyasal ve Elle Seyreltme Uygulamalarının Meyve Kalitesi Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41 (2): 81-89.
- Keserović Z, Milić B, Kevrešan S, Magazin N, Dorić M 2016. The Effect of Naphthenic Acids (NAs) on the Response of 'Golden Delicious' and 'Fuji' Apple Trees on Chemical Thinning with NAA. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 15: 113-125.
- Khanizadeh S, Groleau Y, Deell J, Ali I 2004. Effects of Sevin XLR Plus and Accel on Pre-and Post-Harvest Quality and Yield of 'McIntosh' Apples. *J. Amer. Pomol. Soc.* 58:29-35.
- Kong T, Damerow L, Blanke MM 2009. Effect of Mechanical Thinning on Ethylene Efflux, Yield and Fruit Quality in Apple (einfluss mechanischer fruchtbehangsregulierung auf ethylenabgabe, ertrag und fruchtqualität bei apfel). *Erwerbs-Obstbau (Springer Heidelberg)* 51: 39–52.
- Link H 2000. Significance of Flower and Fruit Thinning on Fruit Quality. *Plant Growth Regulation*, 31: 17-26
- Meland M 1997. Thinning Apples and Pears in A Nordic Climate. III. The Effect of NAA, Ethephon and Lime Sulfur on Fruit Set, Yield and Return Bloom of Three Apple Cultivars. In VIII International Symposium on Plant Bioregulation in Fruit Production 463 (pp. 517-525).
- Mert C, Soylu A 2001. MM106 Anacı Üzerine Asılı Bazı Elma Çeşitlerinde Kimyasal Seyreltme. *Bahçe* 30(1-2):81-94.
- Paul TW, Proctor JTA 1995. Benzyladenine Effects Cell Division and Cell Size During Apple Fruit

- Thinning. Journal Amer. Soc. Hort. Sci. 120 (5) : 802-807.
- Pesteanu A 2013. Fruit thinning by Using NAA Agent on the Jonagored Apple Variety. Annals of the University of Craiova 18 (LIV):267-272.
- Radivojević D, Zabrkić G, Milivojević J, Veličković M, Oparnica C 2011. Effect of Chemical and Hand Thinning Young Apple Tree on Yield and Fruit Quality. Proceedings. 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture. Opatija. Croatia, p. 1044-1047.
- Reyes DIB, Chacon AR, Angel RM, Compos VMG 2008. Apple Fruit Chemical Thinning in Chihuahua, México. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 31 (3): 243 – 250
- Rom CR 2001. Demosnstrating the Need for Alternative Apple Fruit Thinning Methods for Organic Growers. In: Horticultural Studies, (eds) Clerk, J.R and M.R. Evens. Arkansas Agricultural Experiment Station, Research Services 494 July 2002.
- Ryugo K 1988. Fruit Culture Its Science and Art. John Wiley & Sons, 344s.
- Sadeler M, Bolat İ 1999. Golden ve Starking Delicous Elma Çeşitlerinde Farklı Seyreltme Uygulamalarının Meyve Özelliklerine Etkilerinin Saptanması. Türkiye 3. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongre Bildirileri, Ankara. s: 849-854.
- Sebek G 2016. Application of NAA and BA in Chemical Thinning of Some Commercial Cultivars of Apple. Pak. J. Agri. Sci., 53(2): 315-320.
- Simsek O, Nadaroğlu Y, Yücel G, Yıldırım M, Erciyas H 2017. Frost Event and Frost Calendar of Turkey (*In Turkish*). State Meteorology Service Publication, 177 pages, Ankara, Turkey.
- Stopar M 2016. Thinning of 'Fuji' Apple Trees with Ethephon, NAD and BA, Alone and in Combination. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research 14: 39-45.
- Tromp J 2000. Flower-Bud Formation in Pome Fruits as Affected by Fruit Thinning. Plant Growth Regulation 31:27-34.
- Türkeli Y, Barut E 2003. M9 ve MM106 Anacı Üzerine Aşılı Granny Smith Elma Ağaçlarında Kimyasal Seyreltme, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Yalova, Uludag Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Görükle/BURSA BAHÇE 32 (1-2): 23 – 33
- Türkeli Y, Barut E 2010. Bodur ve Yarı Bodur Anaçlar Üzerine Aşılı Elma Ağaçlarında BA (Benzyladenine) Uygulamasının Meyve Seyreltmesi ve Kalitesi Üzerine Etkileri. Alatarım, 9 (1): 37-44.
- Webster T 2002. Current Approved Thinning Strategies for Apples and Pears and Recent Thinning Research Trials in Europe. The Compact Fruit Tree, 35(3): 73-76.
- Wertheim SJ 2000. Developments in the Chemical Thinning of Apple and Pear. Plant Growth Reg., (31): 85–100.
- Yılmaz Ç 2008. Tekirdağ Ekolojisinde Yetiştirilen Bazı Önemli Elma Çeşitlerinde Kimyasal Seyreltme .Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Tekirdağ .Yüksek Lisans Tezi, 61 sy.
- Yuan RC, Greene DW, 2000. McIntosh Apple Fruit Thinning by Benzyladenine In Relation to Seed Number and Endogenous Cytokinin Levels in Fruit and Leaves. Sci. Hort. 86: 127-134.

Farklı Kökenli Bazı Pamuk Genotiplerinde *Verticillium* Solgunluğuna Dayanıklılığın Araştırılması

Yaşar AKIŞCAN¹, Fatih Mehmet TOK^{2*}

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Antakya, Hatay, ²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Antakya, Hatay

¹<https://orcid.org/0000-0002-3302-7766>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4199-6097>

✉: ftok@mku.edu.tr

ÖZET

Bu çalışma, farklı kökenli bazı pamuk genotiplerinin *Verticillium* solgunluğu hastalığına dayanıklılık durumlarını tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Çalışma, tesadüf blokları deneme deseni uyarınca, üç tekerrürlü olarak kontrollü iklim kabininde yürütülmüştür. Çalışmada inokulasyon işlemi, bitkilerinin 2-3 gerçek yaprağa sahip olduğu dönemde, kökleri *V. dahliae*'nin T₁ patotipine ilişkin izolatının 10⁷ konidi ml⁻¹ konsantrasyonundaki spor süspansiyonuna daldırılarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda, genotiplerin yaprak ve iletim dokusu semptomlarına göre, hastalık indeksi değerleri arasındaki farklılıkların, istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır. Çalışmada incelenen genotiplere ilişkin hastalık indeksi değerlerinin yaprak semptomlarına göre istatistiksel olarak 13; iletim dokusu semptomlarına göre ise 16 farklı grupta toplandığı tespit edilmiştir. Materyal olarak kullanılan pamuk genotipleri arasında, yaprak semptomlarına göre, hastalığa en dayanıklı genotiplerin sırasıyla ABD kökenli Tamcot Camd-ES (1.39), Türkiye kökenli PG 510-7 (1.64) ve BA-525 (1.72); iletim dokusu semptomlarına göre ise sırasıyla ABD kökenli Tamcot Camd-ES (1.31), Türkiye kökenli PG 510-7 (1.47) ve İH-26-K-5 olduğu saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda, genotiplere ilişkin olarak yaprak ve iletim dokularındaki semptomlara göre elde edilen hastalık indeksi değerleri arasında yüksek düzeyde pozitif yönde korelasyon (r= 0.972) olduğu saptanmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 25.03.2019

Kabul Tarihi : 22.08.2019

Anahtar Kelimeler

Gossypium hirsutum

Verticillium dahliae

Yaprak semptomları

İletim dokusu semptomları

Investigation of Resistance to *Verticillium* Wilt in Some Cotton Genotypes with Different Origins

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the resistance of some genotypes with different origins against *Verticillium* wilt. The study was conducted in randomized complete block design with three replicates in controlled growth chamber. Cotton seedlings in 2-3 true leaf stage were inoculated with 10⁷ conidia ml⁻¹ spore suspension of *V. dahliae* which is leaf defoliating T₁ pathotype by root dip technique. The differences between disease indexes from leaf and vascular tissues were significant (P≤0.01). Genotypes used in this study were categorized into 13 groups for leaf symptoms and 16 groups for vascular symptoms. Tamcot Camd-ES (1.39) from USA, PG 510-7 (1.64) and BA-525 (1.72) from Turkey were most resistant based on leaf symptoms. However, Tamcot Camd-ES (1.31) from USA, PG 510-7 (1.47) and İH-26-K-5 from Turkey were the most resistant genotypes based on vascular symptoms. In this study a high positive correlation (r= 0.972) was found between diseases indexes from leaf and vascular tissues.

Research Article

Article History

Received : 25.03.2019

Accepted : 22.08.2019

Keywords

Gossypium hirsutum

Verticillium dahliae

Leaf symptoms

Vascular tissue symptoms

GİRİŞ

Ülkemizde başlıca öneme sahip tarımsal ürünlerden birisi olan pamuk, başta tekstil olmak üzere birçok sanayi kolunda hammadde olarak kullanılan stratejik bir üründür. Dünya nüfusunun hızla artmasına paralel olarak insanların yaşam biçimleri ve standartlarının da değişiklik göstermesi, pek çok üretim alanında olduğu gibi tekstil sanayisinin de önemini her geçen gün artırmaktadır. Ülkemizde 2015-2016 pamuk üretim sezonunda 738 bin ton pamuk üretim gerçekleşirken tüketim miktarı 1.656 milyon ton olmuştur (Özudođru 2017). Mevcut durum, Dünya'da önemli bir yere sahip olan tekstil sektörümüzün hammadde ihtiyacını önemli ölçüde karşılayamadığını ve hammadde ihtiyacı yönünden % 55.4 oranda dışa bağımlı olduğunu göstermektedir. Hammadde ihtiyacımızın yerli üretimle karşılanabilmesi yönünden pamuk verim ve üretimimizin artırılması büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda üretimin artırılmasına yönelik olarak hastalık ve zararlı gibi verimi olumsuz yönde etkileyen faktörlerin minimize edilmesine yönelik çalışmaların yapılması büyük önem taşımaktadır.

Pamukta verimi etkileyen en önemli biyotik faktörlerden biri hastalıklardır. *Verticillium* solgunluğu hastalığının etmeni ve toprak kökenli bir fungus olan *Verticillium dahliae* Kleb. 400'ün üzerinde konukçuya sahiptir. Konukçuları arasında pamuğun yanı sıra enginar, biber, patlıcan, antepfıstığı, zeytin, patates, çilek, domates, karpuz ve pek çok crusifer bitki yer almaktadır (Koike ve ark., 1994; Krikun ve Bemier, 1987; Subbarao ve ark., 1997). Fungusun toprakta mikrosklerot halinde 15 yıla kadar canlı kaldığı bilinmektedir (Agrios, 2005). Konukçuya ait kök salgılarıyla dormant dönemi sonlanan mikrosklerotlar çimlenerek çok erken dönemde bitki köklerinden giriş yapmaktadır. Daha sonra fungusun miselyumları kökte ilerleyerek iletim dokularına ulaşmakta ve ileriki aşamada sistemik enfeksiyona neden olmaktadır. İletim dokularında hızla çoğalan fungus burada su ve besin maddesi iletimini aksatmakta ve nihayetinde sona erdirmektedir (Gubler, 1996). Enfeksiyon çok erken dönemde başlasa da ilk belirtiler genellikle bitki tarak ve erken koza dönemindeyken görülmeye başlamaktadır. Erken dönemde çok şiddetli enfeksiyon olması durumunda bitkiler cüce kalabilmektedir. Enfekteli bitkilerin yapraklarında sararmalar ortaya çıkmakta, gövdesi enine kesildiğinde iletim dokularında kahverengileşmenin başladığı görülmektedir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde ise yaprak damar aralarından başlayan bir kuruma ortaya çıkmakta, iletim dokularındaki rengin de kahverengiden siyaha doğru dönüştüğü görülmektedir. Bu durum *Verticillium* solgunluğuna has çok karakteristik bir belirtidir (Karcılıoğlu ve ark., 1992). Bu tarz enfekteli bitkiler genellikle çok az sayıda koza taşımakta ve bu

kozalar ya hiç açmamakta yada açsalar bile bunlardan elde edilecek pamukta lif kalitesinden söz etmek pek mümkün olmamaktadır (Korolev ve ark., 2001; P'erez-Art'es ve ark., 2000). *Verticillium dahliae*'nin bazı patotiplerinde ve vejetatif uyum gruplarında bitkilerde şiddetli yaprak dökümü ortaya çıkabilmektedir (Dobinson ve ark., 2000; Jim'enez-D'iaz ve ark., 2006; Göre 2007; Derviş ve ark., 2008). Pamukta *Verticillium* solgunluğu hastalığının mücadelesine yönelik yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu hastalığın kontrolü amacıyla ekim nöbeti, dengeli gübreleme, dengeli sulama, yabancı ot mücadelesi gibi bazı kültürel işlemler önerilmektedir (Erdoğan ve ark., 2014). Ancak, geniş pamuk ekim alanlarında *Verticillium* solgunluğuna karşı etkin herhangi bir kimyasal ya da farklı bir savaşım yöntemi bulunmamaktadır. Bundan dolayı, hastalığın kontrolünde en etkili yöntemlerden birisi olarak dayanıklı çeşit kullanımı önerilmektedir (Wilhelm ve ark., 1974a,b; Schnathorst ve Cooper, 1975, Akışcan, 2011).

Bu çalışmanın amacı, bazı pamuk genotiplerinin *Verticillium* solgunluğu hastalığına karşı dayanıklılık durumlarının tespit edilmesi ile ileride *Verticillium* solgunluğu hastalığına dayanıklılık konusunda yapılacak ıslah çalışmalarına dayanıklı anaç seçimi yönünden katkı sağlamaktır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri ve Bitki Koruma Bölümü laboratuvarlarında 2015 yılında yürütülmüştür. Çalışmada Çizelge 1'de verilen 42 pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) genotipi bitki materyali, Derviş ve ark. (2008) tarafından yüksek virulentliğe sahip olduğu bildirilen *V. dahliae* patojeninin VCG1A grubunda yer alan 47 kodlu T₁ (yaprak dökken) patotipine ilişkin izolat ise hastalık materyali olarak kullanılmıştır. Çalışmaya ilişkin saksıda patojenite denemeleri, Gülümser ve ark. (2002) tarafından kontrollü (homojen) koşullar için önerilen, tesadüf blokları deneme deseni uyarınca, 3 tekerrürlü (birbirini takip eden dönemler şeklinde) olarak yürütülmüştür. Bu kapsamda, yüzey sterilizasyonu yapılan pamuk tohumlarının ekimi yapılmış ve bitkiler 26/18 °C gündüz/gece sıcaklığında, 14 saat fotoperiyodla iklim kabininde yetiştirilmiştir. Genotiplerin *Verticillium* solgunluğu hastalığına dayanıklılıklarını belirlemek amacıyla, öncelikle izolatin PDA (Potato Dextrose Agar) ortamında tek sporları hazırlanmıştır. Tek spordan elde edilen 7 günlük taze kültürlerden alınan diskler tetrasiklin içeren (50 mg l⁻¹) PDA ortamına aktarılmış ve 25 °C'ye ayarlanmış inkübatörde 1 hafta gelişmeye bırakılmıştır. Bu inkübasyonun sonunda patojenite testleri için spor solüsyonu hazırlamak amacıyla PDA besi ortamında geliştirilmiş kültürlerin üzerine steril saf su eklenerek

konidilerin saf suya geçmesi sağlanmış, elde edilen süspansiyon, 4 kat tülbenkten geçirilerek miselyal artıklar ile besi ortamları süspansiyondan uzaklaştırılmış ve bu süspansiyona Tween 20 (100µl l⁻¹

¹) eklenerek spor yoğunluğu Thoma Lamı ile mikroskop altında 10⁷ konidi ml⁻¹ konsantrasyona ayarlanmıştır.

Çizelge 1. Materyal olarak kullanılan pamuk genotipleri ve kökenleri

Genotip	Köken	Genotip	Köken
Acala-1517V	ABD	İH-26-K-5	Türkiye
DP-499	ABD	İH-27-TYL	Türkiye
Prema	ABD	İH-82-K-3	Türkiye
ST-468	ABD	İH-82-Y-1	Türkiye
Tamcot Camd-ES	ABD	Lydia	Türkiye
Tamcot SP37H	ABD	PG 424-1	Türkiye
Tamcot Sphinx	ABD	PG 426-4	Türkiye
Gloria	Avusturalya	PG 510-15	Türkiye
Natalia	Bulgaristan	PG 510-7	Türkiye
MCH-578	Hindistan	PG 511-7	Türkiye
H-4028	İsrail	PG 518-11	Türkiye
Taşkent-1	Özbekistan	PG 519-19	Türkiye
Taşkent-3	Özbekistan	PG 520-7	Türkiye
CIM-496	Pakistan	PG 53-KT-2	Türkiye
BA-151	Türkiye	PG 53-YT-11	Türkiye
BA-320	Türkiye	PG-2018	Türkiye
BA-525	Türkiye	PG-300	Türkiye
BA-811	Türkiye	PG-310	Türkiye
Carisma	Türkiye	VD-4	Türkiye
Çukurova 1518	Türkiye	BA-308	Yunanistan
İH-20	Türkiye	Teks	Yunanistan

İnokulasyon işlemi, 2-3 gerçek yaprağa sahip pamuk bitkilerinin kökleri su ile yıkandıktan sonra yüzeyden sterilize edilmiş makasla tıraşlanarak hazırlanan spor süspansiyona daldırılmasıyla yapılmıştır. Bu kapsamda, her bir pamuk genotipinden 12 adet bitki patojenle muamele edilirken, 4 adet bitki de kontrol amacıyla aynı şekilde steril saf su ile muamele edilmiştir. Daldırma işlemi sonrasında bitkiler steril edilmiş torf, perlit ve bahçe toprağı (1:1:1) içeren 10x10 cm boyutlarındaki saksılara her bir saksıya aynı genotipten 4 bitki olacak şekilde aktarılmıştır. Bu işlem sonrası bitkiler iklim kabineye yerleştirilmiş ve anılan koşullarda gelişmeye bırakılmıştır. Saksıların toprak nemi günlük olarak gravimetrik yöntemle kontrol edilmiş ve eksilen su tarla kapasitesinin % 65'ine tamamlanmıştır. Daldırma işleminden 37 gün sonra yaprak ve iletim dokusu semptomları dikkate alınarak hastalığa ilişkin değerlendirme işlemi yapılmıştır. Yaprak semptomlarına göre hastalık şiddeti değerleri, *Verticillium* solgunluğu hastalığının pamuk bitkilerinin yapraklarında meydana getirdiği semptomlar esas alınarak, 0 - 4 yeşil aksam skalasına göre (0: gözle görülür bir semptom yok; 1: yapraklarda yeni başlamış solgunluk ya da önemsiz sararmalar gibi az ve kesin olmayan semptomlar; 2 ve 3: yapraklarda sararma, damarlar arası nekroz, yaprak dökülmesi ve uçtan itibaren geriye doğru ölüm; 4: ölmüş veya ölmekte olan bitki) bitkiler tek tek incelenerek hastalık şiddetleri (Şekil 1) saptanmıştır (Wilhelm ve

ark. 1974a,b). İletim dokusu semptomlarına göre hastalık şiddeti değerleri ise *Verticillium* solgunluğu hastalığının pamuk bitkilerinin gövde kesitlerinde meydana getirdiği semptomlar esas alınarak, 0 - 4 gövde semptomu skalasına göre (0: iletim dokularında renk bozulması yok; 1: odun dokusunda % 1-25 renk bozulması; 2: odun dokusunda %26-50 renk bozulması; 3: odun dokusunda % 51-75 renk bozulması; 4: odun dokusunda %76-100 renk bozulması) bitkiler tek tek incelenerek hastalık şiddetleri belirlenmiştir (Bhat ve Subbarao, 1999). Ardından saptanan hastalık şiddeti değerleri kullanılarak eşitlik 1 aracılığı ile yaprak ve iletim dokusu semptomlarına göre hastalık indeksi değerleri hesaplanmıştır. Anılan eşitlikte "0, 1, 2, 3, 4" hastalık şiddetine ilişkin skala değerlerini, "a, b, c, d, e" her bir skala değerine giren bitki sayısını, "n" ise toplam bitki sayısını göstermektedir (Karman, 1971). Hesaplanan hastalık indeksi değerleri 2'den 0'a doğru gittikçe hastalığa dayanıklılığın arttığını ifade ederken, 2'den 4'e doğru gittikçe hastalığa hassasiyetin arttığını ifade etmektedir.

$$\text{Hastalık İndeksi} = \frac{0a + 1b + 2c + 3d + 4e}{n}$$

Genotiplere ilişkin olarak elde edilen yaprak ve iletim dokusu semptomlarına göre, hastalık indeksi değerleri, SAS istatistik paket programı (SAS Institute Inc., 1998) aracılığı ile tesadüf blokları deneme deseni uyarınca varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar F testi

uyarınca irdelenerek DUNCAN testi vasıtası ile $P<0.05$ önem seviyesinde gruplandırılmıştır. Korelasyon analizi ise JMP v.10 (SAS Institute Inc., 2012) istatistik paket programı aracılığı ile yapılmıştır.

BULGULAR

Farklı kökenli pamuk genotiplerine ilişkin olarak yapılan varyans analizi sonucunda, yaprak ve iletim dokusu semptomlarına göre hastalık indeksi değerleri

yönünden genotipler arasında, istatistiksel olarak $P<0.01$ düzeyinde, önemli farklılık olduğu saptanmıştır (Çizelge 2).

Çalışma sonucunda elde edilen yaprak semptomlarına göre hastalık indeksi değerleri incelendiğinde istatistiksel olarak 13 farklı grup oluşmuştur (Çizelge 3). En düşük hastalık indeksi değerine sahip genotiplerin yer aldığı "m" grubunda bulunan ABD kökenli Tamcot Camd-ES (1.39) hastalık indeksi değeri en düşük genotip olurken Türkiye kökenli PG 510-7 (1.64) ve BA-525 (1.72) onu takip etmiştir.

Çizelge 2. Hastalık indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	
		Yaprak semptomlarına göre, hastalık indeksi	İletim dokusu semptomlarına göre, hastalık indeksi
Bloklar	2	0.361	0.411
Genotipler	41	23.180**	0.552**
Hata	82	4.825	0.067
C.V. (%)		9.93	10.74

** istatistiksel olarak $P<0.01$ düzeyinde önemlidir.

Çizelge 3 incelendiğinde, yaprak semptomları yönünden dayanıklı genotiplerin yer aldığı 0 ile 2 indeks değerleri arasında 9 pamuk genotipi olduğu, bunlardan 4'ünün (Tamcot Camd-ES, ST-468, Tamcot SP37H, DP-499) ABD kökenli, 5'inin ise (PG 510-7, BA-525, İH-26-K-5, PG 53-KT-2, Lydia) Türkiye kökenli olduğu dikkat çekmektedir. *Verticillium* solgunluğuna hassas genotiplerin bulunduğu 2 ile 4 indeks değeri arasında 33 pamuk genotipi bulunmaktadır. Yaprak semptomlarına göre *Verticillium* solgunluğuna en hassas genotiplerin yer aldığı "a" grubunda (3.14-2.67) ise aralarında ABD, İsrail, Özbekistan, Pakistan ve Türkiye kökenli 5 farklı ülkeden 17 genotip (VD-4, İH-27-TYL, PG 519-19, Taşkent-1, H-4028, Çukurova 1518, PG 518-11, PG 520-7, PG-310, CIM-496, PG 426-4, PG 510-15, Acala-1517V, PG-2018, Carisma, Prema ve BA-811) yer almıştır. Bunlardan VD-4 genotipinin istatistiksel olarak aynı grupta yer almakla birlikte yaprak semptomlarına göre 3.14 indeks değeri ile en hassas genotip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3).

İletim dokularına göre hastalık indeksi değerleri istatistiksel olarak 16 farklı grup oluşturmuştur. En düşük hastalık indeksi değerine sahip genotiplerin bulunduğu "p" grubunda 3 genotip yer almaktadır (Çizelge 3). Bunlardan ABD kökenli Tamcot Camd-ES (1.31) hastalık indeksi değeri en düşük genotip olurken Türkiye kökenli PG 510-7 (1.47) ve İH-26-K-5 ise onu takip etmiştir. İletim dokusu semptomları yönünden dayanıklı genotiplerin bulunduğu 0 ile 2 indeks değeri arasında yer alan 8 genotip olduğu, bunlardan 3'ünün ABD (Tamcot Camd-ES, ST-468, Tamcot SP37H), 1'inin Avustralya (Gloria) ve geri kalan 4'ünün (PG 510-7, İH-26-K-5, BA-525, Lydia) ise Türkiye kökenli olduğu dikkat çekmektedir. İletim dokusu yönünden hassas genotiplerin yer aldığı 2 ile 4 indeks değeri arasında aralarında ABD, Avustralya, Hindistan,

İsrail, Özbekistan, Pakistan, Türkiye ve Yunanistan'ın olduğu 8 farklı ülke kökenli 34 genotipin yer aldığı 14 farklı istatistiksel grup oluşmuştur. İletim dokusu semptomlarına göre *Verticillium* solgunluğuna en hassas genotiplerin bulunduğu "a" grubunda (3.11-2.64) ise 6 farklı ülkeden 18 farklı genotip (VD-4, H-4028, Taşkent-1, İH-27-TYL, PG 519-19, Çukurova 1518, PG 518-11, PG-310, PG 53-YT-11, Acala-1517V, PG 520-7, MCH-578, CIM-496, PG 510-15, PG 511-7, PG-2018, Carisma, PG 426-4) yer almıştır. Bu gruptaki VD-4 genotipi, iletim dokusu semptomlarına göre 3.11 indeks değeri ile en hassas genotip olarak belirlenmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kontrollü koşullarda iklim kabininde yürütülen bu çalışma sonucunda, genotiplere ilişkin olarak yaprak ve iletim dokularındaki semptomlara göre elde edilen hastalık indeksi değerleri arasında yüksek düzeyde pozitif yönde korelasyon ($r= 0.972$) olduğu saptanmıştır (Şekil 1). Konuyla ilgili olarak Lüders ve ark. (2008), sera koşullarında yaptıkları çalışmada, inceledikleri Backcross 2 popülasyonunda hastalık indeksi değerlerini yaprakta 1.82, iletim dokularında 3.34, F₁ popülasyonunda ise yaprakta 2.14, iletim dokularında 2.52 olarak saptamıştır. Buradan yaprak ve iletim dokusu semptomlarına göre hastalık indeksi değerlerinin Backcross 2 popülasyonunda 1.51 sapma gösterdiği ancak F₁ popülasyonunda sapmanın sadece 0.38 olduğu görülmektedir. Karademir ve ark. (2010) ise tarla koşullarında inceledikleri tüm pamuk genotiplerinde *V. dahliae*'nin meydana getirdiği yaprak ve iletim dokusu semptomlarına göre hastalık indeksi değerlerinin birbirine yakın seyrettiğini bildirmişlerdir.

Benzer şekilde Khaskheli ve ark. (2013) sera ve tarla koşullarında yaptıkları çalışmada, inceledikleri tüm

genotiplerde yaprak ve iletim dokusuna göre hastalık indeksi değerleri arasında çok yüksek derecede pozitif korelasyon ($r=0.966$) olduğunu bildirirken Zhou ve ark. (2014) 2013 yılında tarla koşullarında yaptıkları 3 farklı denemede yaprak ve iletim dokusu semptomlarına göre hastalık indeksi değerleri arasında birinci denemede önemsiz ve yok denecek kadar düşük ($r=0.03$), ikinci denemede önemli ve düşük ($r=0.39$) ve üçüncü denemede ise orta derecede önemli pozitif korelasyon değerleri ($r=0.58$) saptamışlardır. Farklı çalışmalarda araştırmacıların

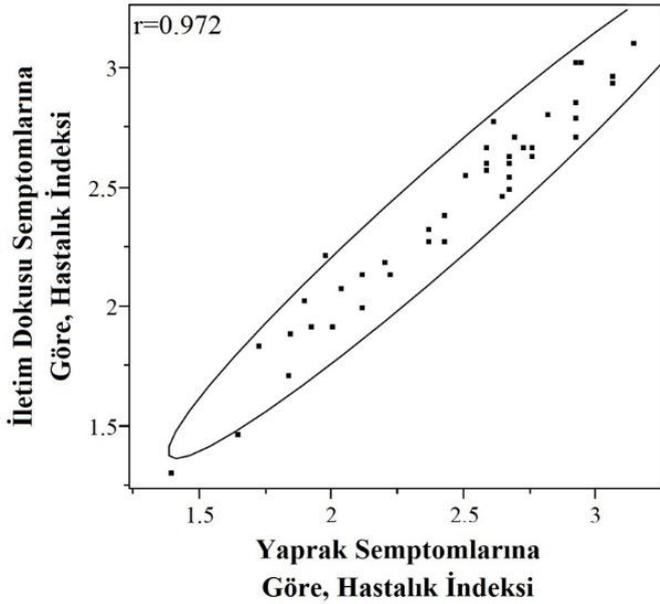
aynı bitkiler üzerinden hastalığa ilişkin olarak aldıkları yaprak ve iletim dokusu semptomlarına ait değerler arasında zaman zaman önemli derecede farklılıklar olduğu dikkat çekmektedir. Bu durumun, tarla ve sera gibi çevre koşullarının kontrolsüz veya net olarak kontrol edilemediği koşullarda, bitki yapraklarının hastalık, zararlı, ilaçlama, besin maddesi noksanlığı veya fazlalığı gibi birçok biyotik ve abiyotik faktörün etkisine açık olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle, özellikle

Çizelge 3. Farklı kökenli pamuk genotiplerinde saptanan hastalık indeksi değerleri ve oluşan gruplar

Genotipler	Yaprak Semptomlarına Göre, Hastalık İndeksi*	İletim Dokusu Semptomlarına Göre, Hastalık İndeksi
Acala-1517V	2.69 abede	2.72 abcdefg
BA-151	2.42 defgh	2.28 fghijklm
BA-308	2.36 defghi	2.33 efghijklm
BA-320	2.58 bedefg	2.58 bedefghij
BA-525	1.72 klm	1.84 mno
BA-811	2.67 abcdef	2.50 cdefghijk
Carisma	2.67 abcdef	2.64 abcdefghi
CIM-496	2.75 abcd	2.67 abcdefgh
Çukurova 1518*	2.92 abc	2.86 abcd
DP-499	1.97 hijkl	2.22 ghijklmn
Gloria	2.11 ghijk	2.00 klmn
H-4028	2.92 abc	3.03 ab
İH-20	2.42 defgh	2.39 defghijkl
İH-26-K-5	1.83 jkl	1.72 nop
İH-27-TYL	3.06 ab	2.94 abc
İH-82-K-3	2.36 defghi	2.28 fghijklm
İH-82-Y-1	2.42 defgh	2.28 fghijklm
Lydia	2.00 hijkl	1.92 lmno
MCH-578	2.58 bedefg	2.67 abcdefgh
Natalia	2.20 fghij	2.19 hijklmn
PG 424-1	2.64 bedef	2.47 cdefghijk
PG 426-4	2.75 abcd	2.64 abcdefghi
PG 510-15	2.72 abcd	2.67 abcdefgh
PG 510-7	1.64 lm	1.47 op
PG 511-7	2.58 bedefg	2.61 abcdefghi
PG 518-11	2.92 abc	2.80 abcde
PG 519-19	3.06 ab	2.97 abc
PG 520-7	2.92 abc	2.72 abcdefg
PG 53-KT-2	1.89 jkl	2.03 klmn
PG 53-YT-11	2.61 bedef	2.78 abcdef
PG-2018	2.67 abcdef	2.61 abcdefghi
PG-300	2.50 cdefg	2.56 bedefghij
PG-310	2.81 abcd	2.81 abcde
Prema	2.67 abcdef	2.55 bedefghij
ST-468	1.84 jkl	1.89 lmno
Tamcot Camd-ES	1.39 m	1.31 p
Tamcot SP37H	1.92 ijkl	1.92 lmno
Tamcot Sphinx	2.03 hijkl	2.08 jklmn
Taşkent-1	2.94 abc	3.03 ab
Taşkent-3	2.22 efghij	2.14 ijklmn
Teks	2.11 ghijk	2.14 ijklmn
VD-4*	3.14 a	3.11 a

*Farklı harflerle gösterilen değerler DUNCAN testine göre % 5 önem seviyesinde farklıdır.

tarla koşullarında yapılacak çalışmalarda gerek iş yükünün azaltılması, gerekse yaprakların yukarıda belirtildiği gibi pek çok faktörün etkisine açık ve kolayca etkilenebilir olması sebebiyle tarla ve sera gibi koşullarda yapılacak *Verticillium*'a dayanıklılığın belirlenmesine yönelik yapılacak çalışmalarda daha sağlıklı sonuçlar elde edilebilmesi yönünden iletim dokusu semptomlarına göre hastalık indeksi değerlerinin kullanılması önerilebilir.



Şekil 1. Genotiplerin hastalık indeksi değerlerine ilişkin korelasyon tablosu

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) tarafından 214 O 086 kodu ile öncelikli alanlar Ar-Ge projelerini destekleme programı kapsamında desteklenmiştir. TÜBİTAK'a finansal desteği için teşekkürlerimizi sunarız. Bu çalışmaya ilişkin bulguların bir kısmı 2017 yılında Romanya'da düzenlenen kongrede (International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture") özet olarak yayınlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Agrios GN 2005. Plant Pathology (5th edition). Department of Plant Pathology, University of Florida, Elsevier Academic Pres. USA, page: 527.
- Akışcan Y 2011. Pamukta (*Gossypium hirsutum* L.) *Verticillium* Solgunluğu (*Verticillium dahliae* Kleb.) Hastalığına Dayanıklılık, Erkencilik, Verim ve Kalite Özelliklerinin Kalıtımı. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri ABD, Doktora Tezi.
- Bhat RG, Subbarao KV 1999. "Host range specificity in *Verticillium dahliae*", Phytopathology, 89:1218-1225.
- Derviş S, Kurt Ş, Soylu S, Erten L, Soylu EM, Yıldız

M, Tok FM 2008. "Vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae* from cotton in the southeastern anatolia region of Turkey. Phytoparasitica, 36(1):74-83.

- Dobinson KF, Harrington MA, Omer M and Rowe RC (2000) Molecular characterization of vegetative compatibility group 4A and 4B isolates of *Verticillium dahliae* associated with potato early dying. Plant Dis., 84:1241-1245.
- Erdoğan O, Kurt Ş, Göre E 2014. Pamukta *Verticillium* Solgunluk Hastalığı Etmeni *Verticillium dahliae* Kleb. ile Farklı İnokulasyon Metotları Üzerinde Çalışmalar. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 1(2):188-193.
- Göre ME 2007. Vegetative Compatibility and Pathogenicity of *Verticillium dahliae* Isolates from the Aegean Region of Turkey. Phytoparasitica, 35(3): 222-231.
- Gubler WD 1996. *Verticillium* wilt. in: Zitter TA, Hopkins LD, Thomas CE [Eds.] Compendium of Cucurbit Diseases. APS Press, St. Paul, MN, USA.
- Gülümser A, Bozoğlu H, Pekşen E 2002. Araştırma ve Deneme Metotları, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi. Ders kitabı No: 48.
- Jiménez-Díaz RM, Mercado-Blanco J, Olivares-García C, Collado-Romero M, Bejarano-Alcázar J, Rodríguez-Jurado D, Giménez-Jaime A, García-Jiménez J, Armengol J 2006. Genetic and virulence diversity in *Verticillium dahliae* populations infecting artichoke in eastern-central Spain. Phytopathology, 96:288-298.
- Karademir E, Karademir Ç, Ekinci R, Baran B, Sağır A 2010. Assessment of Tolerance Level of some Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Varieties against *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.). Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj, 38(1):196-202.
- Karcıoğlu A, Onan E, Sezgin E 1992. Bazı pamuk çeşitlerinin *Verticillium dahliae* Kleb. Fungusunun neden olduğu solgunluk hastalığına karşı duyarlılıklarının saptanması üzerinde araştırmalar. İzmir. Ziraat Mücadele Araştırma Yıllığı No: 22-23, s. 138.
- Karman M 1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler. Tarım Bakanlığı, Mesleki Kitaplar Serisi, s. 279, Bornova-İzmir.
- Khaskheli MI, Sun JL, He SP, Du XM 2013. Screening of cotton germplasm for resistance to *Verticillium dahliae* Kleb. under greenhouse and field conditions. Eur J Plant Pathol., 137:259-272.
- Koike ST, Subbarao KV, Davis RM, Gordon TR, Hubbard JC 1994. *Verticillium* wilt of cauliflower in California. Plant Dis., 78: 1116-1121.
- Korolev N, Pérez-Artés E, Bejarano-Alcázar J, Rodríguez-Jurado D, Katan J, Katan T, Jimenez-Diaz RM 2001. Comparative study of genetic diversity and pathogenicity among populations of *Verticillium dahliae* cotton in Spain and Israel. Eur.

- J. Plant Pathol., 107:443-456.
- Krikun J, Bernier CC 1987. Infection of several crop species by two isolates of *Verticillium dahliae*. Can. J. Plant Pathol., 9: 241-245
- Lüders RR, Galbieri R, Fuzatto MG, Cia E 2008. Inheritance of resistance to *Verticillium* wilt in cotton. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 8: 265-270, 2008.
- McCain AH, Raabe RD, Wilhelm S 1981. Plants resistant or susceptible to *Verticillium* wilt. Cooperative extension, US Department of Agriculture, University of California.
- Özüdoğru T 2017. Durum ve Tahmin Pamuk 2017/2018. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü. Yayın No: 285. Yenimahalle, Ankara.
- Pérez-Artés E, García-Pedrajas MD, Bejarano-Alcázar J, Jiménez-Díaz RM 2000. Differentiation of cotton-defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* by RAPD and specific PCR analyses. Eur. J. Plant Pathol., 106:507-517.
- SAS Institute Inc. 1998. SAS/STAT User's Guide, Version 6. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- SAS Institute Inc. 2012. JMP v.10 Discovering JMP. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- Schnathorst WC, Cooper JR 1975. Anomalies in Field and Greenhouse Reaction of Certain Cotton Cultivars in Fected with *Verticillium dahliae*. In Proc. Beltwide Cotton Prod. Conf., 6-8 January, New Orleans, National Cotton Council, Memphis, p. 148-149.
- Subbarao KV, Hubbard JC, Greathead AS, Spencer GA 1997. *Verticillium* wilt. In: Compendium of Lettuce Diseases (Eds.: R.M. Davis, K.V. Subbarao, R.N. Raid and E.A. Kurtz). The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA, pp. 26-27.
- Wilhelm S, Sagen JE, Tietz H 1974a. "Resistance to *Verticillium* wilt in cotton: sources, techniques of identification, inheritance trends, and the resistance potential of multiline cultivars", Phytopathology, 64: 924-931.
- Wilhelm S, Sagen JE, Tietz H 1974b. "*Gossypium hirsutum* subsp. mexicanum var. nervosum, Leningrad Strain, A source of resistance to *Verticillium* Wilt", Phytopathology, 64:931-939.
- Zhou H, Fang H, Sanogo S, Hughs SE, Jones DC, Zhang J 2014. Evaluation of *Verticillium* wilt resistance in commercial cultivars and advanced breeding lines of cotton. Euphytica, 196:437-448..

Böceklerde Farklı Muhafaza Koşulları ve Zamanın Mitokondrial DNA Kalitesi Üzerine Etkisi: Bir *Diptera* (*Tephritidae*) Örneği Çalışması

Adile AKPINAR¹, Fidan JUNAİD², Vedat GÖRMEZ³, Murat KÜTÜK⁴, Canan CAN⁵

^{1,2,4,5}Gaziantep University, Science and Art Faculty, Department of Biology, Gaziantep, Turkey, ³Gaziantep University, Islahiye Vocational School, Plant and Animal Breeding Department, Gaziantep, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-5815-1096>, ²<https://orcid.org/0000-0001-8839-7695>, ³<https://orcid.org/0000-0001-8136-8226>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-1567-1002>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-0473-1914>

✉: aozdemir@gantep.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada geleneksel öldürme yöntemleri ile elde edilmiş ve farklı koşullarda muhafaza edilen Tephritidae familyasına ait *Euaresta bullans* (Wiedemann, 1830) örneklerinden DNA izole edilerek muhafaza koşulları ve muhafaza sürelerine bağlı olarak DNA kalitesi ve PZR başarıları araştırılmıştır. Bu anlamda standart barkod geni olan mitokondriyal sitokrom oksidaz I (COI) gen bölgesi kullanılmıştır. 15 yıllık örneklerden kuru ortamda (müze materyali) muhafaza edilenlerin yaşı ile PZR başarısı arasında tam bir ilişki gözlemlenmemiştir. Ancak alkolde (%95'lik etil alkol) saklanan örneklerde ise DNA kalitesi ve PZR başarısı yüksek bulunmuştur.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 24.05.2019

Kabul Tarihi : 23.08.2019

Anahtar Kelimeler

mtDNA

Saklama koşulları

COI

Euaresta bullans

Tephritidae

The Effects of Different Storage Conditions and Storage Time on The Quality of The Mitochondrial DNA on Insects: Sample Study is A Fruit Fly (*Diptera: Tephritidae*)

ABSTRACT

In this study, DNA was isolated from the samples of *Euaresta bullans* (Wiedemann, 1830) belonging to the Tephritidae family which was obtained by traditional killing methods and kept under different conditions. In this sense, the standard barcode gene mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI) was used. The lack of relationship observed between the age of samples that were kept in dry conditions (museum material) for 15 years and PCR success. However, the DNA quality and PCR success of the samples stored in alcohol (95% ethyl alcohol) were found to be high.

Research Article

Article History

Received : 24.05.2019

Accepted : 23.08.2019

Keywords

mtDNA

Storage conditions

COI

Euaresta bullans

Tephritidae

To Cite : Akpınar A, Junaid F, Görmez V, Kütük M, Can C 2019. Böceklerde farklı muhafaza koşulları ve zamanın mitokondrial DNA kalitesi üzerine etkisi: Bir Diptera (*Tephritidae*) örneği çalışması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22(Ek Sayı 2): 361-364. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.569813.

GİRİŞ

Meyve sinekleri (*Diptera: Tephritidae*), dünyada geniş bir yayılış gösterip, zirai açıdan oldukça önemli türler içermektedir. Dünyada 481 cinse ait 4352 tür, paleoartik bölgede ise 137 cinse ait 882 türün varlığı bilinmektedir (Korneyev, 1999; Norrbom, 1999). Ülkemizde meyve sineklerine ait bugüne kadar 165 türü bulunmasına karşın bunlardan daha çok tarımı yapılan meyvelerde zararlı olanları bilinmektedir (Yaran ve ark., 2018a; Çalışkan Keçe ve ark., 2019).

Birçok böcek grubunun sınıflandırılması çoğunlukla geleneksel yöntemler ile morfolojik karakterlere dayanarak yapılmaktadır. Bu nedenle böcekler, taksonomistler tarafından morfolojik karakterlerin koruyacak şekilde muhafaza edilmektedir. Ancak zamanla morfolojik karakterlerde meydana gelebilecek zararlar, taksonların tanımlanmasında

bazı problemlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle dünyada son yıllarda moleküler çalışmalarla bu problemlerin çözüme kavuşturulmasına çalışılmaktadır. 2000'li yıllarda Hebert ve ark. (2003) hayvanlarda DNA barkod geni üzerine yaptıkları araştırmalarda mitokondriyal DNA'nın 655-658 bp lik COI bölgesinin 'standart barkod geni' olarak kullanılabilirliğini belirtmiştir. Günümüzde çoğu hayvan grubunun tanımlamalarında bu bölge kullanılmaktadır. Böylece morfolojileri zarar görmüş olan örneklerin DNA'ları üzerinden tanımlama yapmak mümkün olabilmektedir.

Bu çalışmada, 2003-2018 yılları arasında Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan Tephritidae (*Diptera*) familyasından *Euaresta bullans*'a ait müze koşullarında kuru örnek olarak saklanan bireyler ile %96'lık etanol ortamında muhafaza edilen

bireylerinden kaliteli DNA izole edilmesi ve mitokondriyal sitokrom oksidaz I (COI) gen bölgesi kullanılarak farklı saklama koşullarındaki PZR başarı oranlarının değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

MATERYAL ve METOD

Örneklerin toplanması ve saklanma koşulları

Çalışmada kullanılan *Euaresta bullans* türüne ait ergin örnekler konukçu bitkiler üzerinden atrap sallanarak toplanmış ve etil asetatlı öldürme şişelerine alınarak Gaziantep Üniversitesi Zooloji müzesine getirilmiştir. Preparasyonu yapılan örnekler daha sonra naftalinli saklama dolaplarında muhafaza edilmiştir. Örnekler için lokalite bilgileri ve saklanma koşulları yıllara ve muhafaza şekillerine göre Çizelge 1'de verilmiştir. Örneklerin tamamı Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Entomoloji Laboratuvarında oda sıcaklığında muhafaza edilmektedir.

Çizelge 1. *Euaresta bullans* türünün toplandığı lokaliteler ve saklanma koşulları

Tarih	İl ve İlçe	n (Örnek sayısı)	Saklama Koşulları
2003	Samsun	5	Kuru örnek
2005	Kayseri	10	Kuru örnek
2009	Kahramanmaraş	2	Kuru örnek
2010	Kahramanmaraş	15	Kuru örnek
2017	Amasya	13	Kuru örnek
2017	Samsun	15	Kuru örnek
2017	Sinop	13	Kuru örnek
2017	Yozgat	11	Kuru örnek
2018	Yozgat	5	Kuru örnek
2018	Çorum	15	%96 Alkol

DNA izolasyonu

DNA izolasyonu, *Euaresta bullans* türüne ait toplam 104 ergin birey üzerinde gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu, örneklerin kanat kısımları hariç tüm vücut kullanılarak DNA izolasyon kiti ile (Qiagen, DNeasy Blood&Tissue Kit) yapılmıştır. Elde edilen DNA örneklerinin spektrofotometrik analiz ile kalite ve konsantrasyonları ölçülmüştür (Örneklerden 1,5 ul alınarak Nano Drop spektrofotometre ile ölçülmüştür).

PZR Çalışmaları

İzole edilen DNA'lar kullanılarak COI (655bp) gen bölgesi çoğaltılarak jel görüntüleri elde edilmiştir. Bu aşamada kullanılan primerler; LCO1490 Forward (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') (Folmer ve ark., 1994) ve HCO2198 Reverse (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') (Barrett and Hebert, 2005) şeklindedir. Çalışmada gerçekleştirilen PZR döngü sayıları ve koşulları Çizelge 2 ve Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 2. PZR döngüleri

İşlem adı	İşlem sıcaklığı	Süre
Denatürasyon	96 °C	1dk
Bağlanma	94 °C / 55 °C / 72 °C	1 dk/1 dk/1.5 dk
Sonlanma	72 °	7 dk
Döngü sayısı	35 / 30	

Çizelge 3. DNA'ların çoğaltılması için hazırlanan reaksiyon içeriği

Reaksiyon içeriği	Miktar
ddH ₂ O	11.88 µl
10X Taq Buffer (KCl)	2.5 µl
dNTP mix	0.5 µl
2,5mM MgCl ₂	2 µl
10 µmol İleri Primer	1 µl
10 µmol Geri Primer	1 µl
Taq Polimeraz	0.12 µl
Genomik DNA	6 µl
Toplam Hacim	25 µl

Ayrıca PZR sonucunda elde edilen ürünlerin gözlemlenebilmesi için, örnekler %1,2 lik agaroz jelde 1X TBE tamponu içerisinde elektroforez işlemi uygulanmıştır. Her bir kuyucuğa 6 µl PZR ürünü, 3 µl yükleme tamponu olmak üzere 9 µl ürün konularak 80 voltta 45 dk yürütülmüş ve UV ışık altında DNA fragmentleri gözlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, Türkiye'nin çeşitli illerinden 2003 ve 2018 yılları arasında toplanan ve farklı ortamlarda muhafaza edilen *Euaresta bullans* örneklerinin DNA kaliteleri ve PZR başarıları değerlendirilmiştir (Çizelge 4).

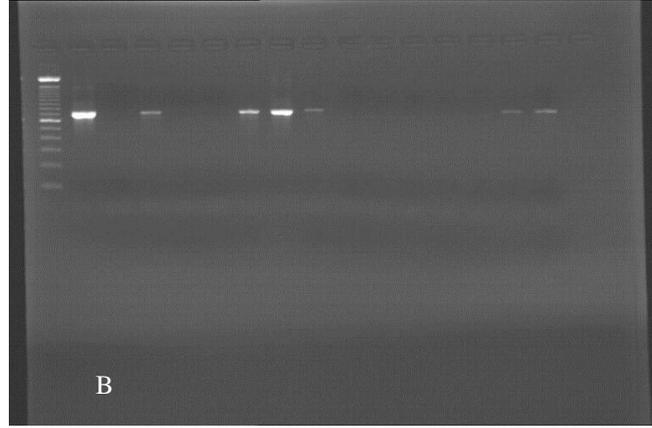
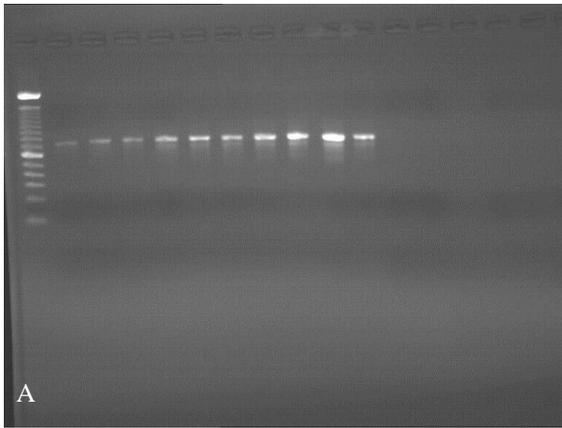
Öldürme yöntemleri ve saklama süresi, DNA verimini, çıkarılan DNA'nın fragman boyutunu ve / veya PZR başarısını etkilemektedir (Dean ve Ballard, 2001). Araştırmacılar çeşitli çalışmalarda, saklanmış böcek bacağı örneklerinden elde edilen genetik materyal kullanılarak mitokondriyal (mt) DNA dizi varyasyonunu karakterize etmiştir (Goldstein ve DeSalle, 2003; Lodge ve Freeland, 2003). Tipik olarak çalışmalarda artan numune yaşı ile birlikte PZR başarısında (başarılı PZR sayısı veya çoğaltılabilecek fragmanın uzunluğu ile tanımlanır) genel bir düşüş gözlenir. Bununla yanında, örneğin yaşıyla birlikte DNA ve / veya PZR başarı oranı verimindeki değişikliklerle ilgili hala hiçbir nicel veri yoktur (Watts ve ark., 2007). Yapılan bu çalışmada da örneklerin yaşı ile DNA kalitesi ve PZR başarısı arasında bir ilişki görülmemiştir (Çizelge 4). Böceklerin alkolde içerisinde muhafaza edilmesi sırasında, derişimi % 95'lik etanolden daha düşük ortamlarda saklanması genellikle önerilmez, çünkü böcek vücudundaki su etanolü seyrelteceği için, bu durum DNA'nın parçalanmasına neden olabilir. Bazı araştırmacılar böcek örneklerini %100 etanol içerisinde öldürdükten

sonra +5 °C'de muhafaza etmiş ve bunun sonucunda iyi kalitede DNA elde etmişlerdir (Catzeflis, 1991). Yapılan bu araştırma kapsamında da Çorum ilinden 2018 yılında toplanmış %99 etil alkolde oda sıcaklığında (6 ay) muhafaza edilmiş 15 örneğin DNA kalitesi ve PZR başarısı (%100) yüksek çıkmıştır (Şekil 1.B). Ancak uzun süre alkolde saklanacak örneklerin -

20 °C saklanması DNA kalitesi açısından daha uygundur. Kuru ortamda muhafaza edilen örneklerde DNA kalitesi ve başarısını etkileyen en önemli faktörlerden biri de ortam sıcaklığıdır. DNA konsantrasyon değerleri 40 °C ve üzeri sıcaklıklarda düşmektedir (Vink ve ark, 2005). Bu durumda PZR başarı oranlarını düşürmektedir.

Çizelge 4. Elde edilen DNA konsantrasyonları ve PZR başarısı

Tarih	İl ve İlçe	n (Örnek sayısı)	DNA konsantrasyonu ng / µl	A260\A280	PZR başarısı %
2003	Samsun	5	57.712	1.43	100 %
2005	Kayseri	10	59.189	1.66	60 %
2009	Kahramanmaraş	2	41.08	1.29	100 %
2010	Kahramanmaraş	15	38.58	1.66	93 %
2017	Amasya, Samsun, Sinop, Yozgat	52	49.45	1.64	67 %
2018	Yozgat	5	15.28	1.63	40 %
2018	Çorum	15	47.91	1.65	100 %



Şekil 1. *Euraesta bullans*'ın PZR ürünlerine ait elektroforez görüntüsü; A) Alkol içinde muhafaza edilen örnekler; B) kuru ortamda muhafaza edilen örnekler

Artan moleküler temelli çalışmalarda kaliteli DNA elde etmek temel amaçtır. Bu anlamda örneklerin doğru saklanması, sonraki aşamalar (PZR, dizi analizi) için önemlidir. Yapılan bu çalışmada böceklerin yaşı ile DNA kalitesi açısından birebir paralel bir ilişki bulunmamıştır. Böceklerin kuru ortamlarda müzelerde muhafaza edilirken oda sıcaklığının üzerinde olmaması ve UV ışığa maruz bırakılmaması DNA kalitesi açısından önemlidir. Bu çalışma, müzelerde uzun yıllarca muhafaza edilen böcek materyallerine ait DNA barkotlarının (DNA barkod kütüphaneleri) hazırlanmasında örnek teşkil edebilecek bir araştırmadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya, Gaziantep Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin, FEF.YLT.18.20 numaralı proje ile vermiş oldukları destekten dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Barret RDH, Hebert PDN 2005. Identifying spiders through DNA barcodes. *Canadian Journal of Zoology*, 83: 481-491.
- Catzeflis FM 1991. Animal tissue collections for molecular genetics and systematics. *Trends in Ecology and Evolution*, 6(5): 168.
- Çalışkan Keçe AF, Özbek Çatal B, Ulusoy MR 2019. A New Invasive Species in Turkey: *Dacus ciliatus* Loew, 1862 (Diptera: Tephritidae). *Turkish Journal of Entomology*. 43 (1): 25-30.
- Dean DM, Ballard JWO 2001. Factors affecting mitochondrial DNA quality from museum preserved *Drosophila simulans*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98:279-283.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294-299
- Goldstein PZ, DeSalle R (2003) Calibrating phylogenetic species formation in a threatened

- insect using DNA from historical specimens. *Mol Ecol* 12:1993–1998.
- Hebert PDN, Ratnasingham S, Dewaard JR 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proc. Royal Society London B (Suppl.)*: 596-599.
- Korneyev VA 1999. Phylogenetic relationships among higher groups of Tephritidae. In *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*. CRC Press, Boca Raton, xi 944 p (73–113).
- Lodge RJ, Freeland JR 2003, The use of Odonata museum specimens in questions of molecular evolution. *Odonatologica*, 32:375–380.
- Norrbom AL 1999. A Generic reclassification and phylogeny of the tribe Myopitini (Tephritinae). In *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*. CRC Press, Boca Raton. xi 944 p (581 – 627).
- Vink JC, Steven MT, Pierre P, Cheryl HY, Marshal H 2005. The effects of preservatives and temperatures on arachnid DNA. *Invertebrate Systematics*, 19: 99 -104.
- Watts CPH, Thompson JD, Allen AK, Kemp JS 2007. How useful is DNA extracted from the legs of archived insects for microsatellite-based population genetic analyses. *Journal of Insect Conservation*, 11:195-198.
- Yaran M, Kütük M, Görmez V, Koyuncu MÖ 2018. A new species and additional record of *Terellia Robineau-Desvoidy* (Diptera: Tephritidae) from Turkey with a key for the Cerajocera group. *Turkish Journal of Zoology*. 42: 661-665.



Phytochemical Analysis of *Dorycnium pentaphyllum* and Its Antiproliferative Effect on Cervix Cancer Cells

Yuksel ALİYAZİCİOĞLU¹, Selim DEMİR^{2,3}, Serap Ozer YAMAN³, Sila Ozlem SENER⁴, Elif AYAZOĞLU DEMİR⁵, Rezzan ALİYAZİCİOĞLU⁶, Ibrahim TURAN⁷

^{1,3}Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Karadeniz Technical University, 61080 Trabzon, Turkey. ²Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Karadeniz Technical University, 61080 Trabzon, Turkey. ⁴Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Karadeniz Technical University, 61080 Trabzon, Turkey. ⁵Department of Chemistry, Faculty of Science, Karadeniz Technical University, 61080 Trabzon, Turkey. ⁷Department of Genetic and Bioengineering, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Gumushane University, 29100 Gumushane, Turkey.

<https://orcid.org/0000-0001-9474-4307>, <https://orcid.org/0000-0002-1863-6280>, <https://orcid.org/0000-0002-5089-0836>,

<https://orcid.org/0000-0003-2811-4707>, <https://orcid.org/0000-0001-9027-7633>, <https://orcid.org/0000-0003-2913-2528>,

<https://orcid.org/0000-0003-3400-5494>

✉: selim-demir@hotmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the phytochemical analysis of *D. pentaphyllum* and its cytotoxic activity on human cervical cancer (HeLa) cells with possible mechanisms. Total phenolic contents (TPC) and phytochemical analysis of the extract were evaluated using spectrophotometric method and RP-HPLC, respectively. The cytotoxic effect of the extract was evaluated using the MTT assay. The mechanism of the cytotoxic effect of the extract was also evaluated in terms of apoptosis, cell cycle, and mitochondrial membrane potential (MMP) using the fluorometric methods. The TPC of the extract was calculated as 68.9±2.3 mg gallic acid equivalent per g sample and quercetin was determined as the major phenolic in the extract. The extract showed a selective cytotoxic effect (6.5-fold) on HeLa cells compared to normal fibroblast cells. The cytotoxic effect of the extract was found to be due to the arresting of the cell cycle in the S phase and increasing apoptosis through decreased MMP. Further studies are needed for the comprehensive effects of the extract on cell signaling.

Research Article

Article History

Received : 19.06.2019

Accepted : 01.08.2019

Keywords

Apoptosis

Cell cycle

Cervix cancer

Cytotoxicity

Dorycnium pentaphyllum

Dorycnium pentaphyllum'un Fitokimyasal Analizi ve Serviks Kanseri Hücreleri Üzerindeki Antiproliferatif Etkisi

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, *D. pentaphyllum*'un fitokimyasal analizini gerçekleştirmek ve bitkinin insan serviks kanseri (HeLa) hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesini olası mekanizmalarla birlikte araştırmaktır. Ekstraktın toplam fenolik içerik (TPC) ve fitokimyasal analizi, sırasıyla spektrofotometrik yöntem ve RP-HPLC ile değerlendirildi. Ekstraktın sitotoksik etkisi MTT metodu kullanılarak belirlendi. Ekstraktın sitotoksik etkisinin mekanizması ise apoptoz, hücre döngüsü ve mitokondriyal membran potansiyeli (MMP) açısından florometrik yöntemler kullanılarak araştırıldı. Ekstraktın TPC değeri g örnek başına 68.9±2.3 mg gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı ve kuersetin ekstrakt içindeki ana fenolik bileşik olarak belirlendi. Ekstrakt normal fibroblast hücrelerine kıyasla, HeLa hücrelerinde seçici bir sitotoksik etki (6.5 kat) gösterdi. Ekstraktın sitotoksik etkisinin, hücre döngüsünü S fazında durdurmasından ve azalmış MMP nedeniyle artmış apoptozdan kaynaklandığı bulundu. Ekstraktın hücre sinyalizasyonu üzerindeki detaylı etkilerinin belirlenmesi için daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 19.06.2019

Kabul Tarihi : 01.08.2019

Anahtar Kelimeler

Apoptoz

Dorycnium pentaphyllum

Hücre döngüsü

Serviks kanseri

Sitotoksiste

INTRODUCTION

Cancer is a disease characterized by uncontrolled and non-stopped cell growth (Demir et al., 2016a). International Agency for Research on Cancer reported 14.1 million new cancer cases and 8.2 million deaths worldwide in 2012, and predicted 21.7 million cancer incidents and 13 million deaths in 2030. Lung, breast, colorectal, gastric, prostate, cervix, and liver cancers are the most seen cancer types in humans. These cancers have represented 55% of the global cancer incidence in 2012 (Kim and Kim, 2018). Cervical cancer is the second most common type of cancer in women worldwide (Di Domenico et al., 2012). The main treatment methods for cervical cancer in humans are surgery, radiotherapy, and chemotherapy (Chaddha et al., 2018). Although chemotherapy is a frequently used method in the treatment of cervix cancer, it has some disadvantages, such as nausea, headache, gastritis, anorexia, oral ulceration, constipation, diarrhea, alopecia, and neuropathy (Oyenihi and Smith, 2019). In addition, the development of resistance to chemotherapeutic drugs in cancer cells and their undesirable effect on healthy cells are other serious disadvantages of chemotherapy (Turan et al., 2017a). Natural products represent significant potential for drug development studies for many years and many new generation chemotherapeutic agents are derived from natural products (Demir et al., 2017a).

The *Fabaceae* (*Leguminosae*) family is one of the largest families of flowering plants consisting of 730 genera and more than 19400 species (Saha et al., 2013). The genus *Dorycnium* belongs to the family *Fabaceae*, and is widely distributed in Europe and Asia (Stefanović et al., 2015). Members of *Fabaceae* family have been used for many years in traditional medicine to treat rheumatism, arthritis, inflammation, neoplasm, hemorrhoid, bronchitis, asthma, urinary tract infections, and liver diseases (Bremner et al., 2009; Lacerda et al., 2014; Kumar et al., 2017). *Dorycnium* genus has many biological activities, such as anti-inflammatory, antimicrobial, cytotoxic, and antioxidant (Bremner et al., 2009; Usta et al., 2014; Demir et al., 2019a). Many studies have reported the cytotoxic effects of various extracts of different *Fabaceae* family species. Soni et al. (2013) demonstrated that *Mucuna pruriens* Linn. extracts exhibit a cytotoxic effect on human prostate and breast cancer cells, while Zingue et al. (2016) reported that phenolic fraction of *Millettia macrophylla* Benth exhibits a cytotoxic effect on human breast cancer cells. Recently, it is reported that *D. pentaphyllum* has a cytotoxic effect on human breast, liver and lung cancer cells (Demir et al., 2019a). However, no study in the literature has investigated the cytotoxic effect of *D. pentaphyllum* extract on human cervical cancer (HeLa) cells. The purpose of this study was to investigate the phytochemical content of *D.*

pentaphyllum and to evaluate the probable cytotoxic effect in HeLa cells together with the mechanism involved.

MATERIALS and METHOD

Chemicals

All the chemicals (ACS grade or higher) used in the phytochemical analysis were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). All chemicals used in cell culture experiments were purchased from Lonza (Verviers, Belgium) and Biological Industries (Kibbutz Beit Haemek, Israel).

Extract Preparation

D. pentaphyllum samples were collected from Sinop, Turkey. Plant specimen was deposited in the herbarium at the herbarium of the Faculty of Pharmacy, Ankara University, Turkey (voucher specimen number AEF-26707). The leaf portions of the plant were dried at room temperature and converted to a fine powder using a blender and grinding procedure. 0.5 g of the powdered sample was then mixed with 10 mL of dimethyl sulfoxide (DMSO) and the resulting mixture was stirred at 150 rpm at 45°C for 24-h. At the end of the time, the mixture was passed through filter paper and then through 0.2 µm filters, and the extract was deposited at -20°C (Demir et al., 2019a).

Determination of Total Phenolic Content (TPC)

The TPC of the extract was determined using the previously described colorimetric method (Slinkard and Singleton, 1977). Gallic acid was used as a reference compound and the TPC value was calculated as mg gallic acid equivalent (GAE)/g sample.

Determination of Total Flavonoid Content (TFC)

The TFC of the extract was determined using the previously described colorimetric method (Moreno et al., 2000). Quercetin was used as a reference compound and the TFC value was calculated as mg quercetin equivalent (QE)/g sample.

Determination of Phenolic Compounds by RP-HPLC

HPLC analysis was performed on a Shimadzu Corporation LC 20 AT (Kyoto, Japan) system equipped with a UV-Vis detector. The analysis was performed using a reverse phase C₁₈ column (150 x 4.6 mm, 5 µm; Waters Spherisorb, Milfort, MA, USA) in a gradient program with two solvent systems; methanol and 2% acetic acid in water at a constant solvent flow rate of 1.5 mL/min. The injection volume was 20 µL. Seven standards were used for HPLC analysis; *p*-OH benzoic acid, vanillic acid, syringaldehyde, *p*-coumaric acid, sinapic acid, benzoic acid, and quercetin (Aliyazicioglu et al., 2017; Ozkan et al., 2017).

Cell Culture

Human cervix adenocarcinoma (HeLa, ATCC-CCL-2) cancer and human normal foreskin fibroblast (ATCC-CRL-2522) cells were supplied by the American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA). Both cells were cultured in Eagle's minimum essential medium supplemented with 10% fetal bovine serum and 1% antibiotic solution.

Cytotoxicity Experiments

The cytotoxic effects of *D. pentaphyllum* extract and cisplatin [used as a chemotherapeutic drug in the treatment of cervical cancer (Demir et al., 2018a)] on HeLa and fibroblast cells were evaluated by MTT test after 72-h treatment (Mosmann, 1983). Briefly, cells were seeded into a flat-bottomed 96-well plates, and the cells were then treated with varying concentrations of *D. pentaphyllum* extract (0-500 µg/mL) and cisplatin (0-10 µg/mL) for 72-h. At the end of the incubation, the crystals formed by adding 10 µL of MTT dye (0.25 mg/mL) to each well were then dissolved with DMSO. Finally, absorbance values in the wells were measured with a microplate reader (Molecular Devices Versamax, California, USA) at 570 nm. Absorbance values were compared with negative control cells and %cell viability values were calculated. Using these values, the IC₅₀ values of the extract and cisplatin in each cell series were determined. IC₅₀ values determined in both cell lines of extract and cisplatin were used to calculate the selectivity index with the following formula (Demir et al., 2019b):

Selectivity Index = Fibroblast cells IC₅₀/HeLa cells IC₅₀

Flow Cytometry Analysis

HeLa cells were treated with 37.5-150 µg/mL concentrations of *D. pentaphyllum* extract for 72 h, before being harvested, and washed twice with buffer solution. All procedures were performed according to the manufacturer's recommendations (BD Biosciences, Cat No: 340242, San Diego, CA). 30000 cell counts were performed on a flow cytometer (BD Accuri C6, MI, USA) for each group. The results were finally compared with those of the negative control cells.

Determination of Mitochondrial Membrane Potential (MMP)

Cells were seeded into a flat-bottomed 96-well black-walled plate and then treated with 37.5-150 µg/mL concentrations of *D. pentaphyllum* extract for 72-h. At the end of the time, the cells were washed with phosphate buffered saline solution and stained with 10 nM 3,3'-dihexyloxacarbocyanine iodide [DiOC6(3)] for 30 min in the dark. At the end of the incubation, fluorescence measurement was performed on a plate reading fluorometer (Molecular Devices SpectraMax Paradigm Multi-Mode, Sunnyvale, CA, USA) at an

excitation wavelength of 484 nm and an emission wavelength of 525 nm. Fluorescence values were compared with negative control cells and results were expressed as relative MMP (Demir et al., 2017a; Turan et al., 2018).

Statistical Analysis

All experiments were carried out in triplicate and the results were expressed as a mean±standard deviation. Compatibility with normal distribution was determined using the Kolmogorov-Smirnov test. One-way ANOVA analysis was used to compare differences among the groups. p<0.05 was regarded as significant.

RESULTS and DISCUSSION

Oxidative stress is caused by the overproduction of reactive oxygen species (ROS), which is due to the insufficient antioxidant capacity of the cell. The effect of ROS on cells depends on the level at which they are present. Low levels of ROS contribute to cell proliferation and survival, while high levels of ROS may damage macromolecules and even cause cell death (Aliyazicioglu et al., 2011; Di Domenico et al., 2012). It is therefore asserted that oxidative stress is involved in the etiology of many pathological conditions, such as cancer, diabetes, and cardiovascular diseases (Mentese et al., 2014; Yalcin et al., 2016). Antioxidant activity is therefore important for human health and it is claimed that many biological activities have been caused by the antioxidant effect. It is also believed that phenolics in natural products can provide protection against chronic diseases associated with oxidative stress due to their antioxidant activities. Therefore, the determination of the antioxidant activity of a natural product whose biological properties are investigated is considered as a starting point for more comprehensive studies (Aliyazicioglu et al., 2017; Demir et al., 2017a; Ozkan et al., 2017). Various *in vitro* methods are used to determine the antioxidant activity of natural product extracts and it is recommended to use at least two different methods in researches (Demir et al., 2019b). We therefore determined the antioxidant properties of extract using TPC and TFC methods in this study, and the results are shown in Table 1.

Table 1. Antioxidant properties of *D. pentaphyllum* extract (n=3)

Antioxidant Parameters	
Total Polyphenolic Content (mg GAE/g sample)	68.9±2.3
Total Flavonoid Content (mg QE/g sample)	18.8±0.2

Consistent with our results, Stefanović *et al.* (2015) reported that the TPC and TFC value of ethanolic extract of *D. herbaceum* was 75.77 mg GAE, and 110.07 mg rutin equivalent per g sample, respectively. In another study, the TPC and TFC value for the

methanolic extract of *Pterocarpus erinaceus*, a member of *Fabaceae* family, was reported as 814.7 mg tannic acid equivalent, and 10.3 mg QE per g sample, respectively (Noufou et al., 2016). It is known that there is a strong relationship between the amount of phenolic compounds and antioxidant activity (Turan et al., 2017b). Therefore, after determining the total levels of phenolic compounds by TPC, we used RP-HPLC analysis to identify the phenolic compounds responsible for the antioxidant properties of the extract. A chromatogram of phenolic standards and the extract is shown in Figure 1.

The phenolics found in *D. pentaphyllum* are summarized in Table 2, and the values are expressed as mg/g sample. Quercetin was the most abundant compounds in *D. pentaphyllum* (Figure 2).

It is reported that *Fabaceae* family rich in phenolics, such as gallic acid, fumaric acid, chlorogenic acid, 4-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, cinnamic acid, *p*-coumaric acid, catechin derivatives, quercetin, hesperidin, taxifolin, naringenin, myricetin, resveratrol, apigenin, and galangin (Sobeh et al., 2016; Bencherchar et al., 2017). Our phenolic composition results are not exactly compatible with those from previous studies. This may have arisen from the plant type, type of extraction method and solvent employed, environmental factors, soil, geographic region, harvest season, and post-harvesting conditions. In addition, the compounds determined may be altered by the method used in phytochemical analysis. We think that further studies with other standard compounds may reveal the phenolic composition of *D. pentaphyllum*.

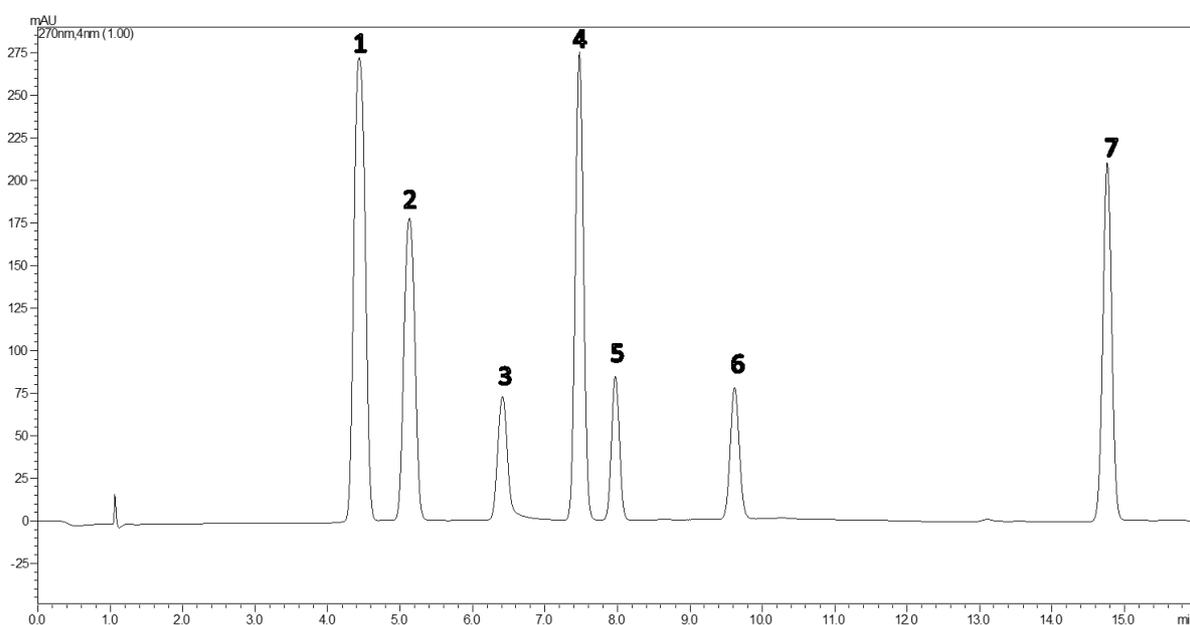


Figure 1. RP-HPLC chromatogram of phenolic standards investigated in *D. pentaphyllum* samples. Peak identification: (1) *p*-OH benzoic acid, (2) vanillic acid, (3) syringaldehyde, (4) *p*-coumaric acid, (5) sinapic acid, (6) benzoic acid, and (7) quercetin.

Table 2. Phenolic composition of *D. pentaphyllum* extract analyzed using RP-HPLC

Phenolic compound assignment	Retention time (min)	Standard curves	Correlation coefficient (r)	Amount (mg/g)
<i>p</i> -OH-benzoic acid	4.43	$y = 56.637x + 70148$	0.9999	ND
Vanillic Acid	5.12	$y = 39.126x + 6315.9$	0.9996	ND
Syringaldehyde	6.41	$y = 4.0135x - 1263.2$	0.9999	ND
Coumaric Acid	7.47	$y = 14.202x - 4598.7$	0.9999	ND
Sinapic Acid	7.97	$y = 18.75x - 4448.1$	0.9999	ND
Benzoic Acid	9.62	$y = 14.671x - 1614$	0.9998	3.52
Quercetin	14.76	$y = 57.65x - 33068$	0.9997	3.16

ND: Not determined.

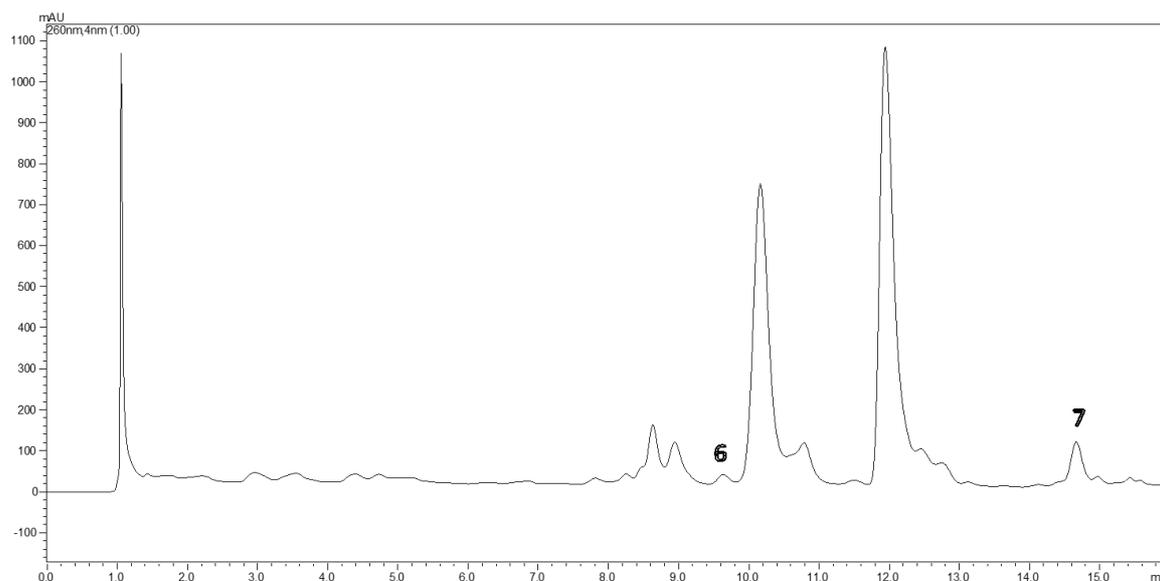


Figure 2. Chromatogram of *D. pentaphyllum* sample

Cancer is one of the leading cause of disease related deaths and is a major public health problem worldwide (Demir et al., 2018a). Gynecological (uterus, cervix, and ovary) and breast cancers constitute 19% of the cancers in the world (Zingue et al., 2016). Although chemotherapy is one of the most widely used methods of cervical cancer, it has many serious side effects such as drug resistance, toxicity, low specificity, bone marrow suppression, nausea and vomiting, hair loss and loss of appetite (Naghibi et al., 2014; Demir et al., 2018a). Recent studies have therefore focused on the discovery of more effective chemotherapeutics with lower side effects (Naghibi et al., 2014; Demir et al., 2018b). Natural products are a great source of potential for anticancer research due to their selective cytotoxic effects in cancer cells compared to normal cells (Demir et al., 2016b). *Dorycnium* species are medicinal plants with a long history of use in traditional medicine (Bremner et al., 2009; Lacerda et al., 2014; Kumar et al., 2017). There are several reports of biological activities including anti-inflammatory, antimicrobial, cytotoxic, and antioxidant properties and these beneficial activities being attributed to their phenolic compounds (Bremner et al., 2009; Stefanović et al., 2015; Demir et al., 2019a). Numerous studies have reported *in vitro* cytotoxic effects of different *Fabaceae* species in recent years (Soni et al., 2013; Zingue et al., 2016), but there have been only limited studies on the cytotoxic effects of *D. pentaphyllum* (Demir et al., 2019a). In addition, no previous research has determined the cytotoxic effect and mechanism of action of *D. pentaphyllum* on HeLa cells. To investigate the potential selective cytotoxic effect of *D. pentaphyllum*, HeLa and normal fibroblast cells were treated with varying concentrations of extract and the results were determined by the MTT method. *D. pentaphyllum*

extract significantly inhibited HeLa cell growth in a dose-dependent manner (Figure 3).

The IC₅₀ values and selectivity index of extract and cisplatin are given in Table 3.

Cancer is a cellular disease and is mainly caused by an imbalance between normal cellular proliferation and death. Stopping the cell cycle and increasing apoptosis are the two main strategies in cancer therapy (Demir et al., 2016a; Turan et al., 2018). In order to determine whether the antiproliferative effect of extract was associated with changes in cell cycle regulation and apoptosis, we treated HeLa cells with 37.5-150 µg/mL concentrations of *D. pentaphyllum* extract for 72-h and analyzed propidium iodide-stained cells in a flow cytometer. The cell cycle analysis results are summarized in Figure 4 and 5.

All the concentrations of *D. pentaphyllum* extract significantly increased the cell numbers at the sub-G₁ phase (p=0.0001). Additionally, all the extract concentrations (except with 37.5 µg/mL) significantly increased the cell numbers at the S phase and decreased the cell numbers at the G₀/G₁ phase compared to the untreated cells (p=0001).

The DNA content analysis also showed that the hypodiploid sub-G₁ cell population was increased with extract treatment, this proves the apoptotic effect of this extract. Since decreased MMP is an indicator of activation of the intrinsic apoptosis pathway (Demir et al., 2016a), we investigated the effects of the extract on MMP. All the concentrations of *D. pentaphyllum* extract significantly reduced MMP in HeLa cells (p=0.0001). The percentage reductions in MMP caused by *D. pentaphyllum* extract were 42.5%, 50.5%, 66.7%, and 82.1% for the concentrations of 37.5, 75, 112.5, and 150 µg/mL, respectively (Figure 6).

Totally, our results demonstrate that extract induces

S phase arrest followed by mitochondrial dependent cell death in HeLa cell lines. Previous studies with *Fabaceae* species have shown that the *Gymnocladus dioicus* extract exhibits a cytotoxic effect on HeLa cells in a concentration-dependent manner (Jantova et al., 2001).

Bremner *et al.* (2009) reported that *Ononis ramosissima* extract exhibits a cytotoxic effect on HeLa cells, while Rathi *et al.* (2009) demonstrated that *Glycyrrhiza glabra* extract exhibits a cytotoxic effect on human breast cancer (MCF-7) cells.

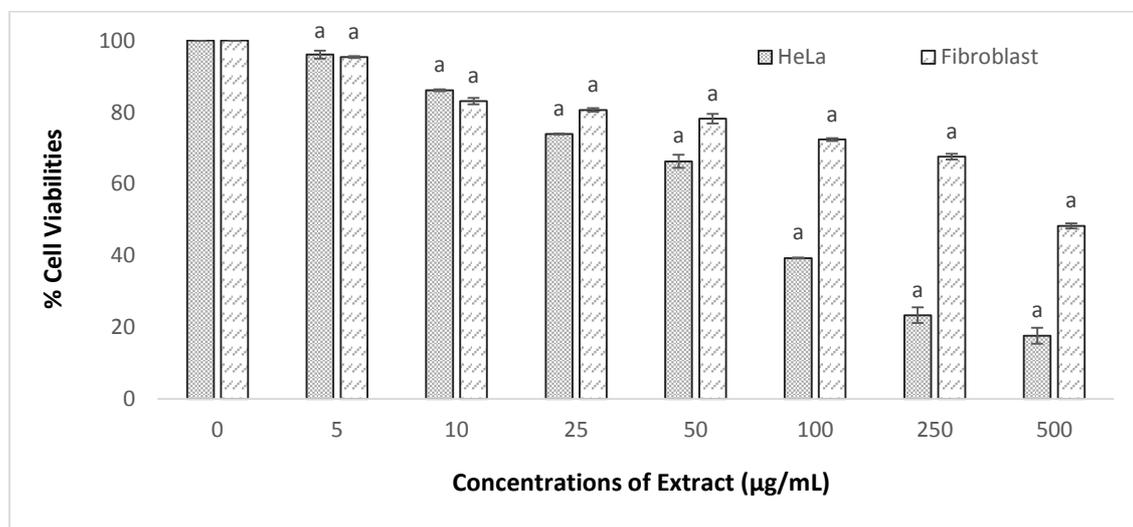


Figure 3. Anti-growth effect of the *D. pentaphyllum* extract. Viability of HeLa and fibroblast cells after the treatment with varying concentrations of extract for 72-h was measured by MTT assay. The results are mean of three independent experiments and the error bars indicate SD. *Denotes statistically significant differences in comparison with untreated cells ($p < 0.05$).

Table 3. IC₅₀ values calculated for extract and cisplatin on HeLa and fibroblast cells

Test Compound	HeLa Cells	Fibroblast Cells	Selectivity Index
Extract	74.2±0.4	483.7±9.5	6.5
Cisplatin	0.76±0.03	5.27±0.3	6.9

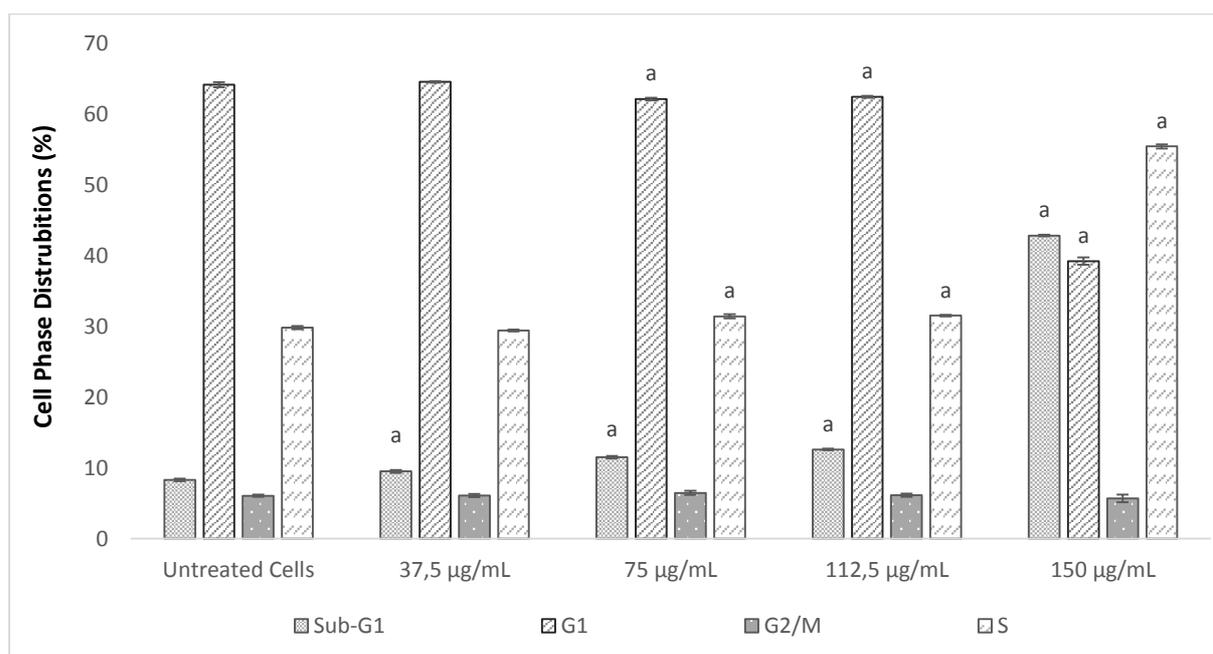


Figure 4. Cell cycle analysis of HeLa cells treated with increasing concentrations of *D. pentaphyllum* extract for 72-h. *Represents significant result ($p < 0.05$) compared with untreated cells.

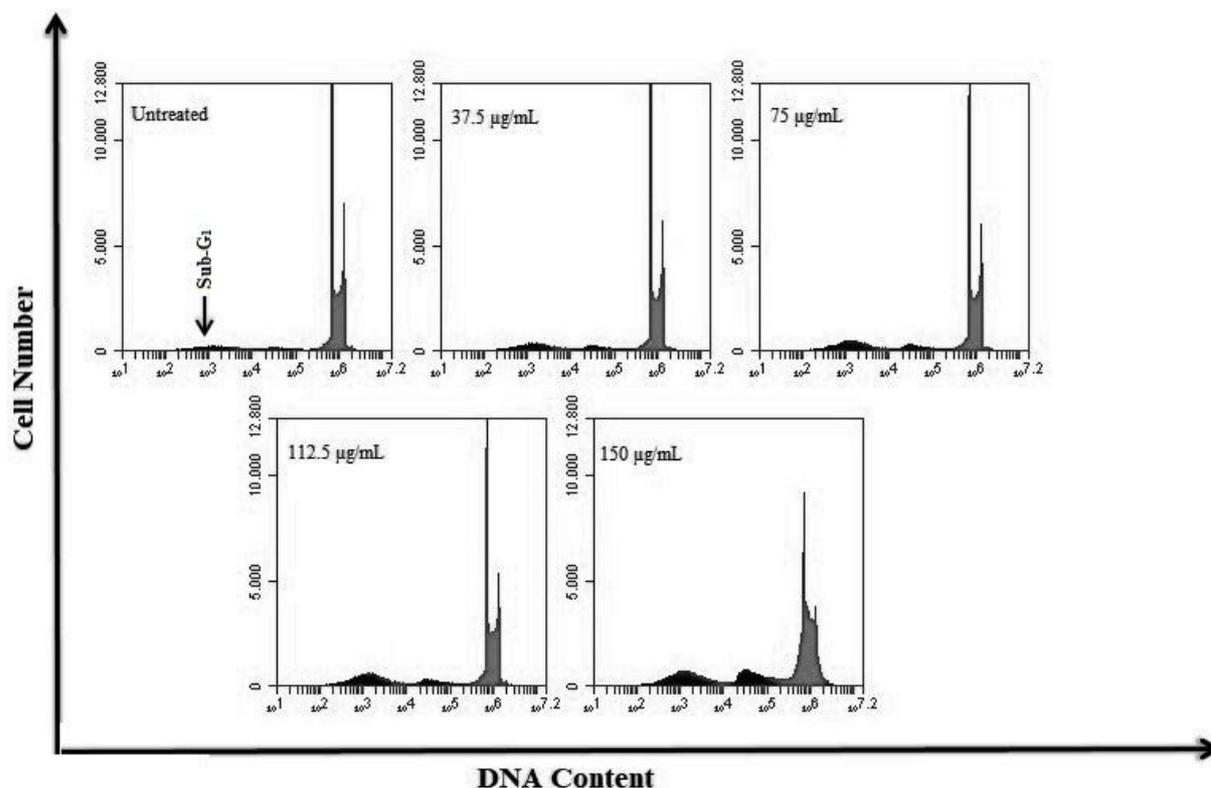


Figure 5. Effect of *D. pentaphyllum* extract on cell cycle phase distribution. Cells were treated with 37.5-150 µg/mL extract for 72-h and analyzed for DNA content using PI staining assay.

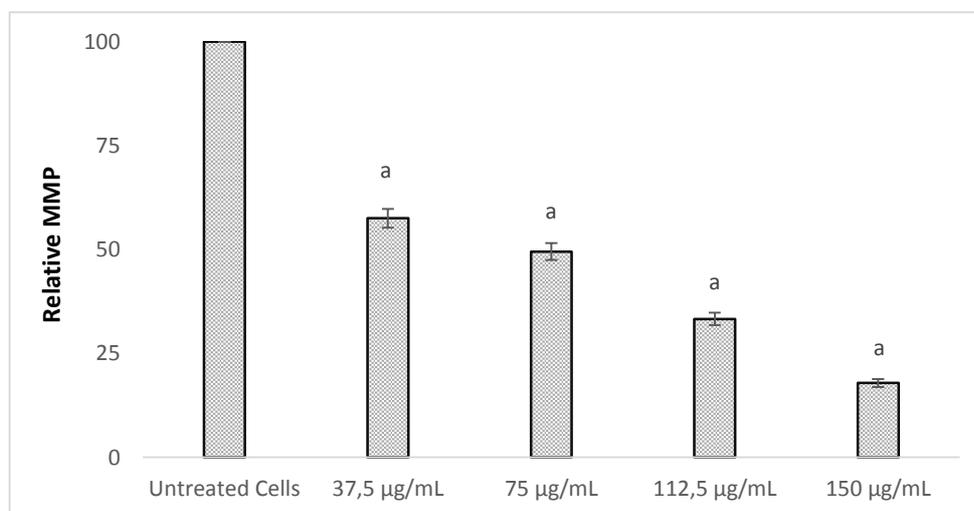


Figure 6. The effect of *D. pentaphyllum* extract on mitochondrial membrane potential in HeLa cells. ^aRepresents significant result ($p < 0.05$) compared with the untreated cells.

Zhang *et al.* (2013) reported that ethyl acetate and butanol fractions of aqueous extract of *Peltophorum pterocarpum* exhibits cytotoxic effect on human leukemia (HL-60), and stomach cancer (AZ521) cells, while Hussein *et al.* (2016) demonstrated that *Caesalpinia ferrea* Martius extract exhibits a cytotoxic effect on human liver (HepG2), breast (MCF-7), colon (HCT-116), larynx (Hep2) and prostate (PC-3) cancer cells.

Recently, Bencherchar *et al.* (2017) reported that chloroform, ethyl acetate, and methanolic extract of *Genista ferox* exhibits a cytotoxic effect on HeLa cells. Polyphenols are an important class of secondary plant metabolites and are known to have strong antioxidant character (Turan *et al.*, 2015; Demir *et al.*, 2017b). These strong antioxidant properties of phenolic compounds are reported to provide cytotoxic, anticarcinogenic, antidiabetic, antibacterial and anti-

inflammatory effects (Demir et al., 2019b). Anticancer properties of phenolics may derive from their ability to increase apoptosis and the cell cycle arrest, inhibit DNA synthesis, and modulate signal transduction pathways (Demir et al., 2017b; Demir et al., 2018b; Oyenih and Smith, 2019). In both our characterization studies and other previous studies, *Fabaceae* species have been shown to be rich in phenolics, such as gallic acid, fumaric acid, chlorogenic acid, 4-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, cinnamic acid, *p*-coumaric acid, catechin derivatives, quercetin, hesperidin, taxifolin, naringenin, myricetin, resveratrol, apigenin, and galangin (Sobeh et al., 2016; Bencherchar et al., 2017). There are many studies on the anticancer effects of these phenolic compounds on various cancer cells (Di Domenico et al., 2012; Oyenih and Smith, 2019). Therefore, we think that the selective cytotoxic activity of the extract in HeLa cells may be due to its phenolic content.

CONCLUSION

This study is the first to evaluate the antiproliferative properties of *D. pentaphyllum* extract on human cervical cancer cells. Additional *in vivo* and clinical investigations are now necessary to obtain a more detailed understanding of the exact interaction of the signaling pathways.

Conflicts of Interest Statement

None of the authors had any financial or personal relationships with other individuals or organizations that might inappropriately influence their work during the submission process.

REFERENCES

- Aliyazicioglu Y, Demir S, Turan I, Cakiroglu TN, Akalin I, Deger O, Bedir A, 2011. Preventive and protective effects of Turkish propolis on H₂O₂-induced DNA damage in foreskin fibroblast cell lines. *Acta Biol Hung*, 62(4): 388-396.
- Aliyazicioglu R, Demir S, Badem M, Sener SO, Korkmaz N, Demir EA, Ozgen U, Karaoglu SA, Aliyazicioglu Y, 2017. Antioxidant, antigenotoxic, antimicrobial activities and phytochemical analysis of *Dianthus carmelitarum*. *Rec Nat Prod*, 11(3): 270-284.
- Bencherchar I, Demirtas I, Altun M, Gul F, Sarri D, Benayache F, Benayache S, Mekkiou R, 2017. HPLC analysis, anti-oxidant activity of *Genista ferox* and its antiproliferative effect in HeLa cell line. *Bangladesh J Pharmacol*, 12: 260-267.
- Bremner P, Rivera D, Calzado MA, Obón C, Inocencio C, Beckwith C, Fiebich BL, Muñoz E, Heinrich M, 2009. Assessing medicinal plants from South-Eastern Spain for potential anti-inflammatory effects targeting nuclear factor- κ B and other pro-inflammatory mediators. *J Ethnopharmacol*, 124(2): 295-305.
- Chaddha V, Jain PK, Dixit ND, Rathor H, Zama R, 2018. An importance of herbal medicines in treatment of cancer disease. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 51(2): 80-82.
- Demir S, Aliyazicioglu Y, Turan I, Misir S, Mentese A, Yaman SO, Akbulut K, Kilinc K, Deger O, 2016a. Antiproliferative and proapoptotic activity of Turkish propolis on human lung cancer cell line. *Nutr Cancer*, 68(1): 165-172.
- Demir S, Turan I, Aliyazicioglu Y, 2016b. Selective cytotoxic effect of *Rhododendron luteum* extract on human colon and liver cancer cells. *J Buon*, 21(4): 883-888.
- Demir S, Turan I, Aliyazicioglu Y, Kilinc K, Yaman SO, Demir EA, Arslan A, Mentese A, Deger O, 2017a. *Morus rubra* extract induces cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells through endoplasmic reticulum stress and telomerase. *Nutr Cancer*, 69(1): 74-83.
- Demir S, Turan I, Demir F, Demir EA, Aliyazicioglu Y, 2017b. Cytotoxic effect of *Laurocerasus officinalis* extract on human cancer cell lines. *Marmara Pharm J*, 21(1): 121-126.
- Demir S, Turan I, Aliyazicioglu R, Yaman SO, Aliyazicioglu Y, 2018a. *Primula vulgaris* extract induces cell cycle arrest and apoptosis in human cervix cancer cells. *J Pharm Anal*, 8(5): 307-311.
- Demir S, Turan I, Aliyazicioglu Y, 2018b. Cytotoxic effect of *Rhododendron luteum* leaf extract on human cancer cell lines. *KSU J Agric Nat*, 21(6): 950-956.
- Demir S, Turan I, Misir S, Aliyazicioglu Y, 2019a. Selective cytotoxic effect of *Dorycnium pentaphyllum* extract on human breast, liver, and lung cancer cells. *KSU J Agric Nat*, 22(3): 473-479.
- Demir S, Turan I, Aliyazicioglu Y, 2019b. Antioxidant properties of *Primula vulgaris* flower extract and its cytotoxic effect on human cancer cell lines. *KSU J Agric Nat*, 22(1): 78-84.
- Di Domenico F, Foppoli C, Coccia R, Perluigi M, 2012. Antioxidants in cervical cancer: chemopreventive and chemotherapeutic effects of polyphenols. *Biochim Biophys Acta*, 1822(5): 737-747.
- Hussein SAM, El-Mesallamy AMD, Souleman AMA, Mousa MA, 2016. Cytotoxic activity of bioactive compound from *Caesalpinia ferrea* Martius, *Fabaceae*. *IJPPR*, 8(12): 2080-2084.
- Jantova S, Nagy M, Ruzeková L, Grancai D, 2001. Cytotoxic effects of plant extracts from the families Fabaceae, Oleaceae, Philadelphaceae, Rosaceae and Staphyleaceae. *Phytother Res*, 15(1): 22-25.
- Kim C, Kim B, 2018. Anti-cancer natural products and their bioactive compounds inducing ER stress-mediated apoptosis: A review. *Nutrients*, 10(8): 1021.
- Kumar RS, Murugananthan G, Rajkapoor B, 2017. Anticarcinogenic potential of ethanol extract of

- Indigofera cordifolia* Roth. (Fabales: Fabaceae) on diethylnitrosamine induced hepatocarcinogenesis in rats. *Braz J Biol Sci*, 4(7): 53-66.
- Lacerda LP, Malaquias G, Peron AP, 2014. Antiproliferative action of aqueous extracts of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L. *An Acad Brasil Cienc*, 86(3): 1147-1150.
- Mentese U, Dogan OV, Turan I, Usta S, Dogan E, Mentese SO, Demir S, Ozer T, Aykan AC, Alver A, 2014. Oxidant-antioxidant balance during on-pump coronary artery bypass grafting. *Scientific World Journal*, Article ID: 263058, doi: 10.1155/2014/263058.
- Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA, 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol*, 71(1-2): 109-114.
- Mosmann T, 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, 65: 55-63.
- Naghbi F, Irani M, Hassanpour A, Pirani A, Hamzeloo-Moghadam M, 2014. Cytotoxic effects of selective species of Caryophyllaceae in Iran. *RJP*, 1(2): 29-32.
- Noufou O, Sawadogo WR, Tibiri A, Lompo M, Dijoux MG, Diederich M, Guissou IP, 2016. Phenolic contents and in vitro pharmacological activities of methanolic extract of *Pterocarpus erinaceus* Poir. stem bark (Fabaceae). *BJPR*, 10(2): 1-7.
- Oyenihi AB, Smith C, 2019. Are polyphenol antioxidants at the root of medicinal plant anti-cancer success? *J Ethnopharmacol*, 229: 54-72.
- Ozkan MT, Aliyazicioglu R, Demir S, Misir S, Turan I, Yildirmis S, Aliyazicioglu Y, 2017. Phenolic characterisation and antioxidant activity of *Primula vulgaris* and its antigenotoxic effect on fibroblast cells. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 12(1): e40073.
- Rathi SG, Suthar M, Patel P, Bhaskar VH, Rajgor NB, 2009. In-vitro cytotoxic screening of *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae): a natural anticancer drug. *J Young Pharm*, 1(3): 239-243.
- Saha S, Shilpi JA, Mondal H, Hossain F, Anisuzzman M, Hasan MM, Cordell GA, 2013. Ethnomedicinal, phytochemical, and pharmacological profile of the genus *Dalbergia* L. (Fabaceae). *Phytopharmacology*, 4(2): 291-346.
- Slinkard K, Singleton VL, 1977. Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult*, 28: 49-55.
- Sobeh M, El-Hawary E, Peixoto H, Labib RM, Handoussa H, Swilam N, El-Khatib AH, Sharapov F, Mohamed T, Krstin S, Linscheid MW, Singab AN, Wink M, Ayoub N, 2016. Identification of phenolic secondary metabolites from *Schotia brachypetala* Sond. (Fabaceae) and demonstration of their antioxidant activities in *Caenorhabditis elegans*. *Peer J*, 4: e2404.
- Soni S, Vaidya S, Jain AK, Sharma A, 2013. A comparative study on anticancer potential of different extracts of *Mucuna pruriens* Linn. seeds against sertoli (GC) and ZR-75 cell lines. *IJPCBS*, 3(2): 305-314.
- Stefanović OD, Tešić JD, Čomić LR, 2015. *Melilotus albus* and *Dorycnium herbaceum* extracts as source of phenolic compounds and their antimicrobial, antibiofilm, and antioxidant potentials. *J Food Drug Anal*, 23(3): 417-424.
- Turan I, Deger O, Aliyazicioglu Y, Demir S, Kilinc K, Sumer A, 2015. Effects of Turkish propolis on expression of hOGG-1 and NEIL-1. *Turk J Med Sci*, 45(4): 804-811.
- Turan I, Demir S, Kilinc K, Burnaz NA, Yaman SO, Akbulut K, Mentese A, Aliyazicioglu Y, Deger O, 2017a. Antiproliferative and apoptotic effect of *Morus nigra* extract on human prostate cancer cells. *Saudi Pharm J*, 25(2): 241-248.
- Turan I, Demir S, Kilinc K, Aliyazicioglu Y, Alver A, Misir S, Yaman SO, Akbulut K, Mentese A, Deger O, 2017b. *Morus rubra* extract induces G₁ cell cycle arrest and apoptosis in human lung and prostate cancer cells. *IJPER*, 51(1): 51-58.
- Turan I, Demir S, Kilinc K, Yaman SO, Misir S, Kara H, Genc B, Mentese A, Aliyazicioglu Y, Deger O, 2018. Cytotoxic effect of *Rosa canina* extract on human colon cancer cells through repression of telomerase expression. *J Pharm Anal*, 8(6): 394-399.
- Yalcin CO, Aliyazicioglu Y, Demir S, Turan I, Bahat Z, Misir S, Deger O, 2016. Evaluation of radioprotective effect of Turkish propolis on foreskin fibroblast cells. *J Cancer Res Ther*, 12(2): 990-994.
- Zhang J, Nishimoto Y, Tokuda H, Suzuki N, Yasukawa K, Kitdamrongtham W, Akazawa H, Manosroi A, Manosroi J, Akihisa T, 2013. Cancer chemopreventive effect of bergenin from *Peltophorum pterocarpum* wood. *Chem Biodivers*, 10(10): 1866-1875.
- Zingue S, Tchoumtchoua J, Ntsa DM, Sandjo LP, Cisilotto J, Nde CBM, Winter E, Awounfack CF, Ndinteh DT, Clyne C, Njamen D, Halabalaki M, Creczynski-Pasa TB, 2016. Estrogenic and cytotoxic potentials of compounds isolated from *Millettia macrophylla* Benth (Fabaceae): towards a better understanding of its underlying mechanisms. *BMC Complement Altern Med*, 16(1): 421.

Meşe Palamudunun (*Quercus coccifera* L.) Farklı Kısımlarının A549, MCF-7 ve HeLa İnsan Kanser Hücrelerine Karşı Antikanser, Antiproliferatif ve Laktat Dehidrojenaz Enzim Aktiviteleri

Sevgi GEZİCİ 

Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science and Literature, Kilis 7 Aralık University, Kilis, Turkey

<https://orcid.org/0000-0002-4856-0221>

✉: drsevgigezici@gmail.com

ABSTRACT

Bu çalışmada, Meşe palamudunun (*Q. coccifera*) dış-kabuk, külah ve iç kısmından elde edilen özütlerin; A549, MCF-7, HeLa kanser hücreleri ve kanserli olmayan HUVEC hücrelerine karşı potansiyel antikanser, antiproliferatif ve nekrotik kapasiteleri araştırılmıştır. Analizler sonucunda, meşe palamudunun farklı kısımlarından elde edilen ekstraktların en düşük konsantrasyonda dahi antikanser ve antiproliferatif etkiye sahip oldukları ortaya konulmuştur. Palamut meyvesinin külah kısmından elde edilen etanol özütleri, 5.04±0.02 ile 18.04±0.16 µg/mL arasında değişen IC₅₀ değerleriyle, diğer kısımlarından elde edilen özütlerden daha yüksek antikanser aktivite göstermiştir. En yüksek oranda sitotoksik aktivite MCF-7 hücrelerine karşı gözlenirken; en düşük sitotoksik aktivite ise A549 hücrelerinde gözlenmiştir. Antikanser ve antiproliferatif aktivite sonuçlarının aksine, en yüksek LDH aktivitesi HeLa hücrelerinde belirlenmiştir. MTT ve tripan mavisi analiz sonuçlarıyla uyumlu olarak, en yüksek LDH salınım kapasitesi külah kısmından elde etanol özütlerinde saptanmıştır. Bu çalışma; meşe palamudunun, kanser hücrelerinde hücre büyümesini konsantrasyon ve zamana bağlı olarak engelleme potansiyeline sahip olduğunu ortaya koyan, özgün bir çalışmadır.

Research Article

Article History

Received : 21.06.2019

Accepted : 01.08.2019

Keywords

Q. coccifera L.,
Meşe palamudu,
Antikanser,
Antiproliferatif,
Sitotoksosite

Anticancer, Antiproliferative and Lactate Dehydrogenase Enzyme Activities of Different Parts of Acorn (*Quercus coccifera* L.) against A549, MCF-7 and HeLa Human Cancer Cells

ÖZET

In this study, potential anticancer antiproliferative and necrotic capacities of the extracts obtained from shell, cup and shelled acorn parts of acorn (*Q. coccifera*) were investigated against A549, MCF-7, HeLa cancer cells and non-tumorous HUVECs. As a result of the analysis, it was proved that the different parts obtained from the acorns have anticancer and antiproliferative effects, even at the lowest concentration. The ethanol extracts obtained from the cup parts of acorn showed higher anticancer activity with IC₅₀ values ranging from 5.04±0.02 to 18.04±0.16 µg/mL than the extracts from other parts. The highest rate of cytotoxic activity was observed against MCF-7 cells, whilst the lowest cytotoxic activity was observed against A549 cells. In contrast to anticancer and antiproliferative activity results, the highest LDH activity was determined in HeLa cells. In accordance with the MTT and trypan blue assay results, the highest LDH release capacity was found in the ethanol extracts obtained from the cup part. This is an original study that reveals acorn has the potential to inhibit cell growth in the cancer cells depending on concentration and time.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 21.06.2019

Kabul Tarihi : 01.08.2019

Anahtar Kelimeler

Q. coccifera L.,
Acorn,
Antikanser,
Antiproliferatif,
Cytotoxicity

To Cite : Gezici S 2019. Meşe Palamudunun (*Quercus coccifera* L.) Farklı Kısımlarının A549, MCF-7 ve HeLa İnsan Kanser Hücrelerine Karşı Antikanser, Antiproliferatif ve Laktat Dehidrojenaz Enzim Aktiviteleri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22 (Ek Sayı :2): 374-381. DOI: 10.18016/ksutarimdog.v22i49454.580285

GİRİŞ

Dünya üzerinde yaklaşık 300 farklı takson ile temsil edilen *Quercus* (Fagaceae) cinsi ülkemizde doğal olarak yetişmekte olup, bu taksonlardan beş tanesi ülkemiz için endemiktir. Ülkemizde “Meşe” olarak bilinen *Quercus* türleri genel olarak mobilya yapımında ve inşaat malzemesi olarak kullanılmaktadır. Kermes meşesi olarak anılan *Quercus coccifera* L. türü ise Akdeniz iklim kuşağına uyum sağlamış bir meşe türü olup, bölgede yaygın şekilde yayılış göstermektedir (Ozcan ve Bayçu, 2005; Senol ve ark., 2018). Meyveleri insan ve hayvan gıdası olarak kullanılan kermes meşesinin farklı bitki kısımları yüzyıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde halk ilacı olarak kullanılmakta, bitkinin meyvelerinin; sahip olduğu antimikrobiyal, antiülser, antihelmintik, antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitelerinden dolayı, Anadolu Halk Hekimliğinde hemoroit, şeker hastalığı ve böbrek taşı rahatsızlıklarında kullanıldığı belirtilmektedir (Akcan ve ark., 2017; Sohretoglu ve ark., 2007). Çeşitli tıbbi ve etnobotanik kullanımlarının yanı sıra palamut adı verilen meşe meyveleri kavrulup öğütüldükten sonra farklı aroması ile kahve şeklinde de tüketilmektedir (Gezici ve Sekeroglu, 2019a).

Kermes meşesinin farklı bitki kısımlarının fitokimyasal yapısı ve biyolojik aktivitesi üzerinde yapılan son çalışmalar, bitkinin meyvesi, kabuk kısmı ve yapraklarında çok sayıda bileşiğin varlığını ortaya koymuştur. HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) ve ESI-MS (elektrosprey iyonizasyonunu kütle spektrometrisi) ile yapılan bir çalışmada, bitkinin meyve ve yapraklarında 41 farklı bileşik tespit edilmiş, ana bileşiklerin gallik asit türevleri, sakkaritler ve flavonoidler olduğu ortaya konulmuştur. Bu çalışmalar kapsamında tespit edilen gallotanelerin ise meşe bitkilerine özgü fitokimyasallar olduğu ve bu bileşiklerin özellikle kalp koruyucu potansiyelinin bulunduğu belirtilmiştir (Molina-García ve ark., 2018). Kermes meşesinin farklı kısımlarının halk hekimliğinde yanık ve yara iyi edici olarak kullanıldığı bilinmekte olup, bitkinin dallarından özütlenen ekstrelerinin yara iyi edici özelliği, gelişmiş fibroblast proliferasyonu, yara kapanma hızı, kollojen sentezi, antibakteriyel aktivite ve iltihap giderici özellikleri temelinde bilimsel olarak ta ispatlanmıştır (Anlas ve ark., 2019).

Tıbbi ve aromatik bitkiler ve bunlardan elde edilen ekstre, uçucu yağ ve diğer biyoaktif bileşenlerin; antikanser, antiproliferatif, antioksidant ve nöroprotektif potansiyellerini ortaya koymaya yönelik çok sayıda çalışma laboratuvarımızda gerçekleştirilmiş olup (Akgunlu ve ark., 2016; Belkhodja ve ark., 2017; Gezici ve ark., 2017; Sekeroglu ve ark., 2017; Gundogdu ve ark., 2018;

Karik ve ark., 2018; Sekeroglu ve ark., 2018; Senol ve ark., 2018; Gezici, 2018, 2019; Gezici ve Sekeroglu, 2019a; 2019b; Shida ve ark., 2019), meşe palamudunun (*Q. coccifera* L.) dış kabuk, külâh ve iç kısımlarından elde edilen ekstraktların toplam polifenolik içerikleri, *in vitro* antioksidan kapasiteleri ve nöroprotektif aktiviteleri de önceki çalışmalarımızda tespit edilmiştir (Senol ve ark., 2018; Gezici ve Sekeroglu, 2019b).

Meşe palamudunun (*Q. coccifera* L.) farklı kısımları ile yapmış olduğumuz önceki çalışmalarımızdan elde edilen veriler ve daha önce ilgili bitki kısmının herhangi bir biyolojik aktivitesini ortaya koymaya yönelik çalışmaların gerçekleştirilmemiş olması nedeniyle; bu çalışmada meşe palamudunun olası antikanser, sitotoksik, antiproliferatif ve laktat dehidrojenaz aktivitelerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bitki Materyali

Meşe palamudu, Türkiye'nin Doğu Akdeniz Bölgesi'nde bulunan Kilis ilinden Kasım-Aralık aylarında yabancı *Q. coccifera* L. ağaçlarından ve çalılardan toplanmıştır. Bitki materyalinin taksonomik olarak tanımlanması Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Biyoloji Bölümü tarafından, Davis (1982) Türkiye Florası'na göre yapılmış olup; bitki materyali Biyoloji Bölümü Herbaryum'unda saklanmaktadır.

Numune ve Ekstrelerin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan özütleri hazırlamak için, meşe palamudu dış kabuk, külâh ve meyvenin iç kısmı olmak üzere üç ayrı kısım olarak çalışmaya dâhil edilmiştir. Her bir kısım ayrı ayrı olarak laboratuvar ortamında kurutulmuş ve her bir numunedan 40'ar gram alınarak etanol ve distile su ile oda sıcaklığında maserasyon yöntemi ile özütlemeye tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon işlemi daha önceki yayınlarda belirtilen prosedüre göre yapılmıştır (Gezici ve ark., 2017; Gezici ve Sekeroglu, 2019a). Meşe palamudunun farklı kısımlarından iki farklı çözücü ile toplamda altı ekstrakt elde edilmiş olup, ekstraktların yüzde özüt verimlilikleri (% a/a) Çizelge 1'de verildiği gibidir. Elde edilen özütler -20°C derin dondurucuda muhafaza edilmiş ve farklı konsantrasyonlarda DMSO ile çözümlenerek analizlerde kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Hücre Hatları ve Kültür Koşulları

Meşe palamudunun kabuk, külâh ve iç kısmından elde edilen ekstrelerinin sitotoksik, antiproliferatif ve laktat dehidrojenaz enzim aktiviteleri Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonundan (ATCC, ABD) elde edilen insan kanser hücre hatlarına karşı test edilmiştir

Çalışmaya dâhil edilen hücre hatları; insan akciğer karsinomu (A549), meme adenokarsinoması (MCF-7), rahim ağzı kanseri (HeLa) hücreleri ve malign olmayan insan umbilikal ven endotel hücre (HUVEC)'leridir. A549 ve HeLa hücreleri, %10 (h/h) FBS, %1 antibiyotik (%100 U / ml penisilin / 100ug / ml streptomisin) ve %1 L-glutamin içeren RPMI-1640 besiyerinde kültüre alınırken; HUVEC ve MCF-7 hücreleri ise DMEM besiyerinde kültür ortamına alınmıştır. Hücre kültür ortamları ve koşulları, Gezici ve ark. (2017), Gezici (2018) ve Gezici (2019) tarafından daha önce belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Meşe palamudunun (*Q. coccifera* L.) özüt verimliliği

Meşe Palamudunun Kısımları	Ekstraksiyon	Özüt verimliliği (%a/a)
Dış Kabuk	EtOH	0.83
	dH ₂ O	1.21
Külâh Kısmı	EtOH	0.58
	dH ₂ O	6.68
İç Kısım	EtOH	3.41
	dH ₂ O	12.56

Antikanser Aktivitenin Belirlenmesi

Bitki ekstratlarının antikanser aktiviteleri daha önce Mosmann (1983) tarafından belirlenen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemde, 5×10^3 hücre yoğunluğuna ulaşan hücreler 200 ul besiyeri içeren ortamda 24 saat 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve meşe palamudunun farklı kısımlarının etanol ve sulu özütleri 10 ile 200 ug/mL arasında değişen konsantrasyonlarda ayrı ayrı kuyucuklara eklenmiştir, 37 °C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra, her bir kuyucuğa MTT çözeltisi ilave edilerek, 37 °C'de 4 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve spektrofotometrede (Thermo Lab 408 Multiskan) 570 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Her bir özüt ve her bir hücre hattı için ayrı ayrı IC₅₀ (ug/mL) değerlerini hesaplanmıştır.

Antiproliferatif Aktivitenin Belirlenmesi

Meşe palamudu ekstratlarının antiproliferatif potansiyellerini ortaya koymak amacıyla, Strober (2015) tarafından ortaya konulan Trypan Blue Exclusion metodu uygulanmıştır. Bu metotta kullanılan kimyasallar ve analiz koşulları Gezici (2018) ve Gezici (2019) yayınlarında belirtildiği gibi olup, meşe palamudunun farklı kısımlarının etanol ve sulu ekstratları 10, 50, 100 ve 200 ug /mL konsantrasyonlarında A549, MCF-7 ve HeLa kanser hücrelerine karşı analiz edilmiştir. Tripan mavisi uygulama sonrası, her bir hücre hattındaki hücrelerin canlılıkları doz ve zamana bağlı olarak mikroskopik

olarak belirlenmiş ve otomatik hücre sayım cihazında (Cedex XS Analyzer) sayılmıştır.

Laktat Dehidrojenaz (LDH) Aktivitesinin Belirlenmesi

Laktat dehidrojenaz (LDH) enzim salınım aktivite analizleri, Al-Qubaisi ve ark. (2011) tarafından tarif edilen yöntemle yapılmış olup, tüm kimyasallar ve koşullar Gezici (2018) tarafından belirtildiği gibidir. Kısacası bu yöntemde, 2×10^4 hücre / kuyucuk yoğunluğuna ulaşan hücreler, MTT yönteminde olduğu gibi 10, 50, 100 ve 200 ug /mL konsantrasyonlarında meşe palamudu ekstratları ile sırasıyla 24, 48 ve 72 saat boyunca inkübe edilmiş ve daha sonra bir ELISA mikropilaka spektrofotometre okuyucu (Thermo Lab systems 408 Multiskan) kullanılarak 340 nm dalga boyunda absorbans verileri elde edilmiştir. Ortamdaki LDH salım yüzdesi, aynı kuyucuktaki hücre lizatındaki toplam LDH ile karşılaştırılarak hesaplanmış ve her bir özüt konsantrasyon ve muamele zamanına bağlı olarak her bir hücre hattı için IC₅₀ (ug/mL) değerlerini hesaplanmıştır.

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada yer alan bütün analizler birbirinden bağımsız üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. Üç tekrarlı analizlerden elde edilen verilerin ortalaması ve standart sapma (ortalama \pm SS) olarak ifade edilmiştir. IC₅₀ değerlerini hesaplamak için doğrusal regresyon analizi yapılmıştır. P <0.05 istatistiksel olarak önemli kabul edilirken, p <0.01 ise istatistiksel olarak çok önemli olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Antikanser Aktivite Bulguları

Q. coccifera L. (meşe palamudu) bitkisinin kabuk, külâh ve iç kısmından elde edilen ekstratlarının doz ve zamana bağlı olarak sitotoksik ve antikanser aktivitelerinin belirlenmesi için MTT yöntemi uygulanmış olup, analizlerde doksorubisin pozitif kontrol olarak kullanılırken, DMSO ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Meşe palamudu ekstratlarının A549, MCF-7 ve HeLa kanser hücrelerine karşı 48 saatlik bir muamele sonrasında elde edilen antikanser aktivite sonuçları, IC₅₀ değerleriyle Çizelge 2'de verilmiştir.

MTT analiz sonuçlarından görüldüğü üzere, meşe palamudu farklı kısımları ile birlikte test edilen kanser hücrelerine karşı güçlü sitotoksik aktivite göstermiş olup, külâh kısmından elde edilen özütler 5.04 ± 0.02 ile 18.04 ± 0.16 ug/mL (200ug/mL konsantrasyonda) arasında değişen IC₅₀ değerleriyle, diğer kısımlardan elde edilen ekstratlara göre daha yüksek bir sitotoksik aktivite sergilemiştir. Test edilen meşe palamudu kısımları, uygulanan doz miktarı ile doğru orantılı olarak değişmekle birlikte, en yüksek doz konsantrasyonunda MCF-7 hücre hattına karşı en

yüksek seviyede antikanser aktivite gösterirken
(5.04±0.02 – 21.34±0.04 µg/mL arasında değişen IC₅₀)

Çizelge 2. *Q. coccifera* L. (Meşe palamudu) kısımlarının A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerine karşı antikanser aktivitesi

Hücre Hatları	Bitki Kısım		Ekstrakt konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$) ^a			
			10 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$
A549	Dış Kabuk	EtOH	45.13 \pm 0.12**	37.16 \pm 0.08**	33.55 \pm 1.10*	23.10 \pm 0.18**
		dH ₂ O	65.04 \pm 0.46*	40.82 \pm 1.06*	32.78 \pm 0.48**	29.12 \pm 1.14**
	Külâh Kısım	EtOH	34.09 \pm 0.11**	26.18 \pm 0.17**	21.09 \pm 1.08**	14.08 \pm 1.12*
		dH ₂ O	53.02 \pm 1.05**	47.05 \pm 1.02**	40.12 \pm 0.03*	19.12 \pm 0.16**
	İç Kısım	EtOH	38.41 \pm 0.18**	36.06 \pm 0.15**	27.14 \pm 0.02*	18.04 \pm 1.09**
		dH ₂ O	58.17 \pm 0.15**	46.18 \pm 0.92**	31.04 \pm 1.17*	20.15 \pm 0.08**
MCF-7	Dış Kabuk	EtOH	35.46 \pm 1.04**	28.94 \pm 0.04*	18.02 \pm 1.01**	10.68 \pm 0.16**
		dH ₂ O	42.01 \pm 1.04**	38.96 \pm 0.08**	29.65 \pm 1.12*	21.34 \pm 0.04**
	Külâh Kısım	EtOH	24.68 \pm 0.06**	19.01 \pm 1.05*	8.42 \pm 0.12**	5.04 \pm 0.02**
		dH ₂ O	41.02 \pm 0.07*	35.25 \pm 1.02**	25.01 \pm 0.18**	15.01 \pm 0.16**
	İç Kısım	EtOH	32.90 \pm 0.09**	26.04 \pm 0.12**	13.61 \pm 0.14**	7.06 \pm 0.46**
		dH ₂ O	47.26 \pm 1.12*	35.18 \pm 0.08**	26.60 \pm 0.03*	17.98 \pm 1.04**
HeLa 2	Dış Kabuk	EtOH	40.02 \pm 0.11**	34.18 \pm 0.54**	23.10 \pm 0.51**	18.24 \pm 0.12**
		dH ₂ O	60.02 \pm 0.08*	45.88 \pm 0.68**	28.04 \pm 0.96*	12.69 \pm 0.46**
	Külâh Kısım	EtOH	32.10 \pm 1.06**	18.69 \pm 0.13**	12.15 \pm 0.05**	9.48 \pm 0.13**
		dH ₂ O	36.28 \pm 0.21**	42.04 \pm 1.04**	29.09 \pm 0.38**	11.05 \pm 0.18*
	İç Kısım	EtOH	37.06 \pm 1.18**	30.14 \pm 0.12**	17.02 \pm 0.01**	10.62 \pm 0.16**
		dH ₂ O	49.12 \pm 1.01*	37.04 \pm 0.15*	20.64 \pm 0.08**	18.78 \pm 0.26**
Doksorubisin ^b			6.89 \pm 1.02	3.01 \pm 0.08	2.26 \pm 0.05	1.78 \pm 0.15
DMSO (dimetil sülfoksit) ^c			0	0	0	0

^a Veriler IC₅₀ \pm SS olarak ifade edilmiştir (n=3).

^b Doksorubisin, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

^c DMSO; dimetil sülfoksit, negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

**P değeri <0.01 ise istatistiksel olarak çok önemli, *P değeri <0.05 ise önemli olarak kabul edilmiştir.

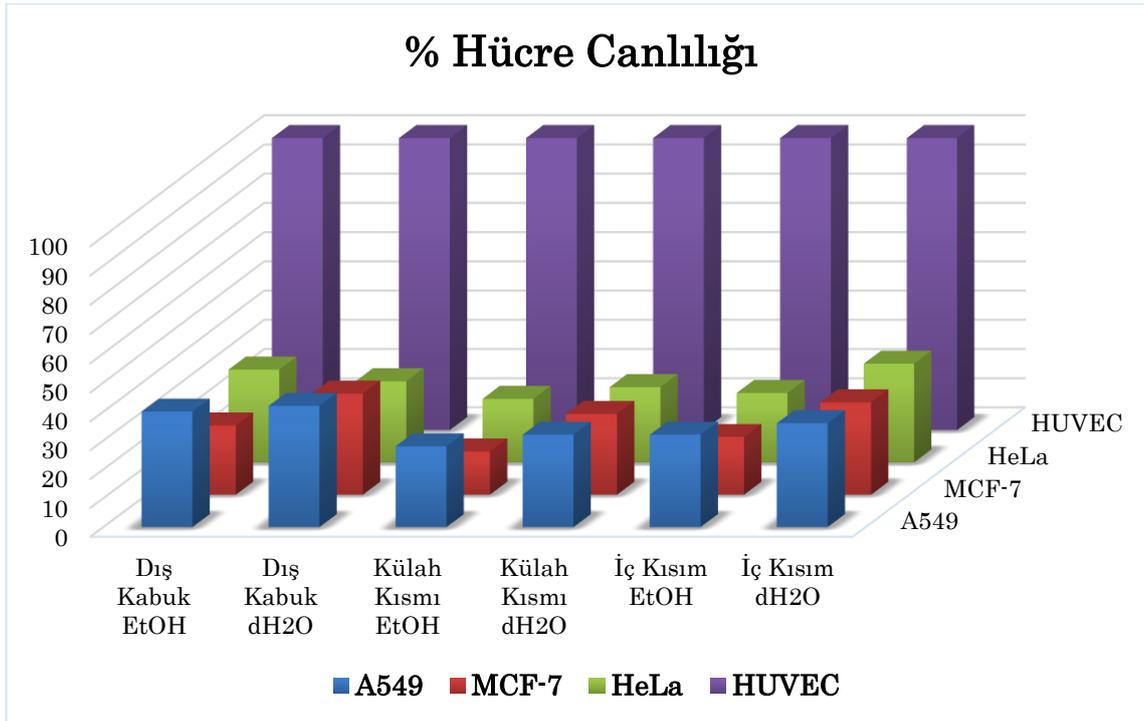
değeri); A549 hücre hattına karşı en düşük seviyede aktivite göstermiştir ($IC_{50}= 14.08\pm 1.12 - 29.12\pm 1.14$ $\mu\text{g/mL}$). Meşe palamudunun dış kabuk kısmından elde edilen su özütlerinin antikanser aktivitesi en düşük olarak saptanmakla birlikte; çalışmaya dâhil edilen hücre hatlarına göre antikanser aktivitesine bakıldığında, A549 hücre hattına karşı en düşük antikanser aktivite ($IC_{50}= 29.12\pm 1.14$ $\mu\text{g/mL}$) gözlenirken, ilgili kısımdan elde edilen su özütlerinin HeLa hücrelerine karşı 12.69 ± 0.46 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeriyle en yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 2).

Antiproliferatif Aktivite Bulguları

Meşe palamudunun farklı kısımlarından su ve etanol çözücülerini ile elde edilen ekstraktlarının uygulanan doz ve uygulama süresine bağlı olarak antiproliferatif aktivitelerinin belirlenmesi Tripkan mavisi deneyine göre yapılmıştır. Ekstrelerin farklı konsantrasyonlarına bağlı olarak sırasıyla 24, 48, 72 saat muamele sonrasında mikroskop altında canlı ve cansız hücreler gözlenerek hücre sayımları

yapılmıştır. En yüksek ekstre uygulama dozu olan 200 $\mu\text{g/mL}$ ile 48 saat muamele sonrasında A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerinde elde edilen hücre canlılık (%) yüzdesi Şekil 1'de gösterildiği gibidir. A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerinde belirlenen yüzde hücre canlılıkları malign olmayan HUVEC hücreleri ile kıyaslanmıştır.

Şekil 1'de görüldüğü üzere, antiproliferatif aktivite sonuçları, MTT analiz sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Meşe palamudunun farklı kısımlarından elde edilen ekstraktlar, doz ve zamana bağlı olarak test edilen her üç kanser hücre hattına karşı %15 ile %42 arasında değişen hücre canlılık yüzdesiyle, hücre canlılığını azaltıcı ve hücre büyümesini engelleyici yönde etki göstermiştir. Hücre canlılığında en yüksek oranda azalma meşe palamudunun külâh kısmından elde edilen etanol özütlerinde MCF-7 hücrelerine karşı belirlenirken; dış kabuk kısmından elde edilen su özütlerinde A549 hücrelerine karşı en düşük oranda hücre canlılığında azalma gözlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerinde yüzde (%) hücre canlılığı

* Hücreler 200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda ekstrakt ile 48 saat süre ile muamele sonucunda veriler alınmıştır.

** HUVEC hücreleri kontrol hücreler olarak kullanılmış olup, hücre canlılıkları %100 olarak kabul edilmiştir.

Laktat Dehidrojenaz (LDH) Aktivite Bulguları

LDH enzimi, piruvatın laktata dönüşümünde rol oynayan sitoplazmik bir enzimdir ve hücre zarının hasar görmesi durumunda nekrotik hücre zarlarından salınmaktadır. Bu nedenle LDH enzim salınım miktarı, hücrelerde meydana gelen nekrotik hasar ve ölümlerin bir belirteci olarak kullanılmaktadır. A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerinden LDH

enzim salınım aktivitesi, 10, 50, 100 ve 200 $\mu\text{g/mL}$ olmak üzere farklı konsantrasyonlarda meşe palamudu ekstraktları ile sırasıyla 24, 48 ve 72 saat muameleden sonra IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri açısından zamana bağlı olarak Çizelge 3'de verilmiştir. LDH aktivite analizinde, malign olmayan HUVEC hücreleri kontrol hücre hattı olarak ve doksorubisin ise standart sitotoksik ajan olarak kullanılmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 3. *Q. coccifera* L. (Meşe palamudu) kısımlarının A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerine karşı LDH salınım aktivitesi

Bitki Kısım	Ekstraksiyon	Süre	IC ₅₀ (µg/mL) değerleri ^a		
			A549	MCF-7	HeLa
Dış Kabuk	EtOH	24 saat	46.20 ± 1.08**	37.12 ± 0.02**	30.03 ± 1.01*
		48 saat	49.16 ± 0.13*	45.24 ± 0.18*	46.12 ± 0.10**
		72 saat	62.45 ± 1.02**	42.66 ± 0.62**	48.06 ± 0.06**
	dH ₂ O	24 saat	52.04 ± 1.10**	48.02 ± 0.34*	38.16 ± 0.37**
		48 saat	55.02 ± 0.14**	41.04 ± 0.47**	46.04 ± 0.26*
		72 saat	64.90 ± 0.19*	55.12 ± 1.06*	55.00 ± 1.02**
Külâh Kısım	EtOH	24 saat	28.76 ± 0.51**	21.18 ± 0.04*	20.11 ± 0.14**
		48 saat	36.08 ± 1.20*	28.46 ± 0.26**	21.05 ± 1.12**
		72 saat	42.06 ± 0.02**	30.90 ± 0.90*	34.17 ± 0.04*
	dH ₂ O	24 saat	31.98 ± 0.10**	32.94 ± 1.51**	25.16 ± 0.80*
		48 saat	36.68 ± 0.12**	38.26 ± 0.09**	31.10 ± 1.04**
		72 saat	35.10 ± 0.13**	44.52 ± 0.34**	40.02 ± 0.09**
İç Kısım	EtOH	24 saat	39.46 ± 0.18**	31.18 ± 1.04*	24.18 ± 0.06**
		48 saat	43.08 ± 0.16**	40.12 ± 0.18**	29.78 ± 0.14**
		72 saat	46.80 ± 1.02*	46.10 ± 1.26**	32.30 ± 1.05**
	dH ₂ O	24 saat	51.38 ± 0.78**	35.64 ± 0.01*	29.15 ± 0.80*
		48 saat	58.01 ± 0.62**	48.36 ± 0.14**	36.42 ± 1.04**
		72 saat	55.70 ± 1.46**	44.20 ± 0.25**	42.18 ± 1.16**
Dokсорubisin ^b			3.20 ± 0.16	3.04 ± 0.08	2.67 ± 0.05

^a Veriler, 200µg/mL konsantrasyonda bitki özütü uygulama sonrası IC₅₀ ± SS (µg/mL) olarak ifade edilmiştir

^b Dokсорubisin, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

**P değeri <0.01 istatistiksel olarak çok önemli, *P değeri <0.05 ise önemli olarak kabul edilmiştir.

LDH salınım sonuçlarından görüldüğü üzere, meşe palamudunun her üç kısmından elde edilen tüm ekstraların, hücrelerde nekroz oluşumunu teşvik ederek hücre zarında tahribatlar oluşturduğu görülmektedir. Antikanser ve antiproliferatif aktivite analiz sonuçları ile benzer olarak; meşe palamudunun külah kısmından elde edilen etanol ekstralarında en yüksek seviyede LDH salınımı gözlenmiştir (20.11±0.14 – 42.06±0.02 µg/mL arasında değişen IC₅₀ değeri). Ancak çalışmada uygulanan diğer analizlerinden elde edilen verilerden farklı olarak, meşe palamudu özütleri MCF-7 hücre hattına karşı en yüksek seviyede antikanser ve antiproliferatif aktivite gösterirken; HeLa hücrelerine karşı en yüksek seviyede LDH enzim salınım aktivitesi göstermiştir (Çizelge 3).

Son yıllarda yapılan araştırmalara göre, kanser; yüksek ölüm oranı ve görülme sıklığı ile çağımızın en önemli sağlık sorunlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünya ve Türkiye geneli kanser istatistikleri, gelecek yıllarda hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde kanserin daha kritik bir sağlık sorunu haline geleceğini öngörmektedir (Siegel ve ark., 2018). Bu bağlamda, artan kanser vakalarının önlenmesi için var olan tedavi sistemlerinin yanı sıra, etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesi hayati önem arz etmektedir. Bitkilerden elde edilen özütler, uçucu yağlar ve biyoaktif bileşenler; doğal kaynaklı olmaları nedeniyle, daha az yan etki ile etkin tedavi sunma potansiyelindedir (Manoharachary ve Nagaraju, 2016; Gezici ve Sekeroğlu, 2019b). Bu nedenle, bu çalışmada *Q. coccifera* L. (meşe palamudu) bitkisinin kabuk, külah ve iç kısımları ayrı ayrı özütlenerek, doz ve zamana bağlı olarak antikanser ve antiproliferatif potansiyellerine ve laktat dehidrojenaz enzim aktivitelerine göre A549, MCF-7 ve HeLa kanser hücrelerine karşı değerlendirilmiştir. Meşe palamudunun, en düşük konsantrasyonlarda dahi kanser hücrelerinde sitotoksik etki göstererek, hücre proliferasyonu azalttığı ve bunun bir sonucu olarak test edilen kanserli hücre hatlarında kanser gelişimini engellediği ortaya konulmuştur. Bu durum, *Q. coccifera* L. (meşe palamudu)' nun yaprak ve gövde kısımları ile daha önce yapılmış olan içerik analizlerinde rapor edildiği üzere, bitkinin özellikle hidrolize edilebilir tanenler açısından zengin polifenolik içeriğe sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, yapılan antioksidan aktivite analizlerinde de bitkinin yüksek oranda serbest radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu gösterilmiş olup, oksidatif hasar kaynaklı kanser gelişiminin bitkinin sahip olduğu antioksidanlar sayesinde engellenebildiği düşünülmektedir (Ito ve ark., 2002; Senol ve ark., 2018; Gezici ve Sekeroğlu, 2019b).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Meşe palamudunun (*Q. coccifera* L.) kabuk, külah ve iç kısmından farklı çözücüler ile elde edilen ekstraların antikanser, antiproliferatif ve nekroza uğrayan hücrelerden salınan laktat dehidrojenaz enzim aktivitesinin ortaya konulmasını amaçlayan bu çalışma; literatür açısından ilk verileri sunan özgün bir çalışmadır. Çalışmadan elde edilen veriler, meşe palamudunun farklı kısımlarının test edilen insan kanser hücrelerine karşı düşük konsantrasyonlarda dahi kanser gelişimini inhibe edici potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur. Gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen veriler; kanser tedavisinde antikanser ve sitotoksik etkileriyle yararlı olabilecek tıbbi, farmosötik ve farmakolojik çalışmalarına ön veri sunarak, bu alanda daha sonra yapılacak olan araştırmalara ışık tutacak niteliktedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Kilis 7 Aralık Üniversitesi, İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi ve Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvarlarının alt yapısı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bitki materyalinin toplanması ve temini Kilis 7 Aralık Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nazım Şekeroğlu tarafından gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Akcan T, Gokce R, Asensio M, Estevez M, Morcuende D 2017. Acorn (*Quercus* spp.) as a novel source of oleic acid and tocopherols for livestock and humans: discrimination of selected species from Mediterranean forest. *Journal of Food Science and Technology* 54, 3050–3057.
- Akgunlu S, Sekeroğlu N, Koca-Caliskan U, Ozkutlu F, Ozcelik B, Kulak M, Gezici S 2016. Research on selected wild edible vegetables: Mineral content and antimicrobial potentials. *Annals of Phytomedicine* 5(2): 50-57.
- Al-Qubaisi M, Rozita R, Yeap SK, Omar AR, Ali AM 2011. Selective cytotoxicity of goniotalamin against hepatoblastoma HepG2 cells. *Molecules* 16(4): 2944-2959. <https://doi.org/10.3390/molecules16042944>.
- Anlas C, Bakirel TI, Ustun-Alkan F, Celik B, Yuzbasioglu Baran M, Ustuner O, Kuruuzum-Uz A, 2019. *In vitro* evaluation of the therapeutic potential of Anatolian kermes oak (*Quercus coccifera* L.) as an alternative wound healing agent. *Industrial Crops and Products* 137: 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.008>.
- Belkhdja H, Meddah B, Gezici S 2017. Anti-Inflammatory Effects of Essential Oils From *Rosmarinus officinalis* and *Populus alba* on Experimental Models of Acute and Chronic Inflammation in Rats. *Indian Journal of*

- Pharmaceutical Education and Research 51(3): 180-184. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.8>.
- Davis PH 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 7, Edinburgh, UK: Edinburgh University Press.
- Gezici S 2018. Promising anticancer activity of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) essential oil through induction of both apoptosis and necrosis. Annals of Phytomedicine 7(2): 38-45. <https://doi.org/10.21276/ap.2018.7.2.5>.
- Gezici S 2019. Anticancer, antiproliferative, lysosomal and lactate dehydrogenase inhibitory effects of fruit extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.) on human lung cancer cells. Acta Oncologica Turcica 52(1): 160-168. <https://doi.org/10.5505/aot.2019.09326>.
- Gezici S, Sekeroglu N 2019a. Neuroprotective potential and phytochemical composition of acorn fruits. Industrial Crops and Products 128: 13-17. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.082>.
- Gezici S, Sekeroglu N 2019b. Current perspectives in the application of medicinal plants against cancer: novel therapeutic agents. Anticancer Agents in Medicinal Chemistry 19(1): 101-111. <https://doi.org/10.2174/1871520619666181224121004>.
- 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. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.74>.
- Gundogdu M, Tuncturk M, Berk S, Sekeroglu N, Gezici S 2018. Antioxidant Capacity and Bioactive Contents of Mulberry Species from Eastern Anatolia Region of Turkey. Indian Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 52(4): 96-101. <https://doi.org/10.5530/ijper.52.4s.82>.
- Ito H, Yamaguchi K, Kim TH, Khennouf S, Gharzouli K, Yoshida T 2002. Dimeric and Trimeric Hydrolyzable Tannins from *Quercus coccifera* and *Quercus suber*. Journal of Natural Product 65(3): 339-345. <https://doi.org/10.1021/np010465i>.
- Karik U, Cinar O, Tuncturk M, Sekeroglu N, Gezici S 2018. Essential Oil Composition of Some Sage (*Salvia* spp.) Species Cultivated in İzmir (Turkey) Ecological Conditions. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 52(4): 102-107. <https://doi.org/10.5530/ijper.52.4s.83>.
- Manoharachary C, Nagaraju D 2016. Medicinal plants for human health and welfare. Annals of Phytomedicine 5(1): 24-34.
- Molina-García L, Martínez-Expósito R, Fernández-de Córdoba ML, Llorent-Martínez EJ 2018. Determination of the Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Leaves and Fruits of Spanish *Quercus coccifera*. Journal of Chemistry Article ID 2573270, 9 pages. <https://doi.org/10.1155/2018/2573270>.
- Mosmann T 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of Immunological Methods 65(1-2): 55-63.
- Newman DJ, Cragg GM 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. Journal of Natural Products 79(3): 629-661.
- Ozcan T, Bayçu G, 2005. Some elemental concentrations in the acorns of Turkish *Quercus* L. (Fagaceae) taxa. Pakistan Journal of Botany 37 (2): 361.
- Roleira FM, Varela CL, Costa SC, Tavares-da-Silva EJ 2018. Phenolic derivatives from medicinal herbs and plant extracts: anticancer effects and synthetic approaches to modulate biological activity. Studies in Natural Products Chemistry 57: 115-56. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64057-4.00004-1>.
- Sekeroglu N, Karaoglan M, Gezici S, Kulak M, Ozkutlu F, Kacar O, Gul F 2018. Variation in the composition of the essential oils, hypericin and mineral elements in aerial parts, stem and flower of *Hypericum capitatum* (CHOISY) growing in Turkey with oxidative DNA damage protective activity. Journal of Pharmaceutical Research 17: 67-77. <https://doi.org/10.18579/jperkc/2018/17/2/123613>.
- Sekeroglu N, Urlu E, Kulak M, Gezici S, Dang R 2017. Variation in Total Polyphenolic Contents, DNA Protective Potential and Antioxidant Capacity from Aqueous and Ethanol Extracts in Different Plant Parts of *Hypericum perforatum* L. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 51: 1-7. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.2s.43>.
- 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. <https://doi.org/10.3906/tar-1711-18>.
- Shida W, Tateishi H, Fujita M, Koga R, Radwan MO, Ciftci HI, Otsuka M, Husham AL-Saadi, D, Watanabe M, Gezici S, Wada M, Sekeroglu N, Watanabe T 2019. Anticancer activity of extract from twigs of Caucasian beech in Turkey. The Fifth International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Sciences (ISPBS-5), Cappadocia-Turkey, Oral presentation p: 29. www.ispbs.org.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A 2018. Cancer statistics, 2018. CA: Cancer Journal for Clinicians 68(1): 7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21442>.
- Sohretoglu D, Ekizoglu M, Kilic E, Sakar MK 2007. Antibacterial and antifungal activities of some *Quercus* species growing in Turkey. FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences 32 (3):127-130.
- Strober W 2015. Trypan blue exclusion test of cell viability. Current Protocols in Immunology 111(1): A3. B.1-A3. B.3. <https://doi.org/10.1002/0471142735.ima03bs111>.

Investigation of the Cytotoxicity of Fig, Lemon, Olive, and Turnip Exosomes on MCF-7 Cells

Oğuzhan KARAOSMANOĞLU

Department of Biology, Kamil Özdağ Faculty of Science, Karamanoğlu Mehmetbey University, 70200, Karaman, Turkey

<http://orcid.org/0000-0003-2028-7339>

✉: karaosmanoglu@kmu.edu.tr

ABSTRACT

With their nano-sized structure, exosomes are involved in a wide variety of cellular processes such as genetic information flow, immune system modulations, intercellular communication, and pathophysiological changes. The use of exosomes are exponentially growing particularly in the areas of identification of biomarkers, development of nanocarriers for effective drug delivery, and vaccine production. In recent years, edible plant derived exosomes gained much interest with their strong antimicrobial activities, modulatory activities on the intestinal stem cells, and the anticancer activities. In this study, the cytotoxic effects of fig, lemon, olive and turnip derived exosomes were investigated through the neutral red uptake assay. It was observed that 100 µg/mL protein containing lemon and turnip derived exosomes inhibited the cell proliferation significantly, on the other hand, fig and olive derived exosomes did not alter the proliferation of MCF-7 cells. Since the results for the cytotoxic activity of turnip exosomes are original in this research, it was found worthy to emphasis the utility of turnip exosomes for the development of new anticancer agents or new drug delivery nanocarriers.

Research Article

Article History

Received : 10.07.2019

Accepted : 23.08.2019

Keywords

Exosomes
Cytotoxicity
MCF-7
Turnip

İncir, Limon, Zeytin ve Turp Ekzozomlarının MCF-7 Hücrelerinde Sitotoksik Etkisinin Araştırılması

ÖZET

Nano-boyutlu yapılarıyla ekzozomlar genetik bilgi akışı, immun sistem düzenlenmesi ve patofizyolojik değişiklikler gibi çok çeşitli hücrenel süreçlere dahil olurlar. Ekzozomların, özellikle biyoisaret tanımlanması, etkin ilaç dağıtımı için nanotaşıyıcıların geliştirilmesi ve aşı üretilmesi alanlarında kullanımları hızla artmaktadır. Son yıllarda yenilebilir bitkilerden türevlenen ekzozomlar yüksek antimikrobiyal etkileri, bağırsak kök hücreleri üzerinde düzenleyici etkileri ve antikanser etkileriyle ilgi çekmektedir.

Bu çalışmada incir, limon, zeytin ve turp türevli ekzozomların sitotoksik etkileri nötral kırmızısı alım testiyle araştırılmıştır. Protein miktarı 100 µg/mL olan limon ve turp ekzozomlarının hücre çoğalmasını engellediği gözlenirken incir ve zeytin türevli ekzozomların MCF-7 çoğalmasını etkilemediği görülmüştür. Turp ekzozomlarının sitotoksik aktivitesi sonuçları, bu çalışmada orijinal olduğu için, yeni antikanser ajanlarının veya yeni ilaç dağıtım nanotaşıyıcılarının geliştirilmesi için turp ekzozomları kullanımına vurgu yapmanın değerli olabileceği düşünülmüştür

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 10.07.2019

Kabul Tarihi : 23.08.2019

Anahtar Kelimeler

Ekzozomlar
Sitotoksikite
MCF-7
Turnip

To Cite : Karaosmanoğlu O 2019. Investigation of The Cytotoxicity of Fig, Lemon, Olive, and Turnip Exosomes on MCF-7 Cells. KSU J. Agric Nat 22(Suppl 2): 382-387. DOI: 10.18016/ksutarimdog.v22i49454.589845

INTRODUCTION

Exosomes are endocytic vesicles of late endosomes released as multivesicular bodies. After three decades of dismissing exosomes as a disposal mechanism of cellular waste molecules, researchers have been uncovering the functions of these nanoscale-sized (poses maximum of 100 nm diameter) extracellular vesicles. Recent publications suggest exosome-

mediated intercellular transfer of genetic information with the shuttling of DNA, mRNAs, miRNAs, and lncRNAs (Dragomir et al., 2018; Deatherage and Cookson, 2012; Nagarajah, 2016; van Niel et al., 2018). In physiological conditions, exosomes have involved in coagulation, inflammation, cellular homeostasis (Boriachek et al., 2018), immune surveillance (Schorey and Bhatnagar, 2008), fetal survival in pregnancy (Mincheva-Nilsson and Baranov, 2010), and

neuroprotection (Xin et al., 2013). In pathological conditions, exosomes have included in pre-metastatic niche formation (Hoshino et al., 2015), promotion of angiogenesis (Mineo et al., 2012), metastasis (Min et al., 2018), and extension of neurodegenerative diseases (Pant et al., 2012). Exosomes have both beneficial and detrimental effects on the immune system, such as having anti-tumor effects and inducing immune evasion (Li et al., 2006). By reporting the cellular status instantly and easily achievable from various body fluids, exosomes are considered to be an attractive pool of biomarkers in miscellaneous diseases from cancer (Karaosmanoğlu et al., 2018) to Alzheimer (Ma et al., 2018). In addition, with the proven of anti-tumor and immune stimulatory effects of exosomes by clinical trials, their utilization in vaccine production has been investigated in recent decades (Escudier et al., 2005). Moreover, exosomes are considered to be effective nanocarriers for drug delivery with their non-immunogenic, biocompatible and highly stable biological properties (Kibria et al., 2018).

Exosomes are also secreted by plant cells. During fungal and bacterial infections exosomes containing antimicrobial compounds and immune defence-related proteins are accumulated on the regions of being attacked, next, transfer the antimicrobial agents to the invading pathogen (An et al., 2006; Böhlenius et al., 2010; Meyer et al., 2009). In addition, to immune defence, exosomes released from edible plants (carrot, ginger, grapefruit and grape) have been shown to induce the expression of antioxidant, anti-inflammation cytokine-related genes in recipient intestinal macrophages and stem cells (Mu et al., 2014). Paralelly, grapefruits derived exosomes are shown to functional in the intestine system (B. Wang et al., 2014). Moreover, the ability of grapefruit exosomes to prevent the oral mucositis that is associated with the chemoradiation treatment of head and neck cancer has been shown in a clinical trial (NCT01668849). Besides, grapefruit-derived nanovectors have been observed to be useful for delivering therapeutic agents to inflammatory tumor sites (Wang et al., 2015). Not only grapefruit-derived exosomes but also ginger-derived exosomes are well studied in the literature. In a study, the prophylactic effects of ginger-derived exosomes against alcohol-induced liver damage have been reported (Zhuang et al., 2015). Finally, there is a recent study, conducted with exosomes from 11 edible fruits and vegetables (blueberry, coconut, ginger, grapefruit, Hami melon, kiwifruit, orange, pea, pear, soybean, and tomato) demonstrating the association of exosomal miRNAs with the inflammatory response and cancer-related pathways (Xiao et al., 2018).

Since edible plant derived exosomes have the potential of being used for cancer therapy, the present study conducted to evaluate the cytotoxic effects of exosomes

isolated from fig, lemon, olive and turnip which were grown by local Turkish farmers.

MATERIAL METHOD

Differential Ultracentrifugation Mediated Exosome Isolation

All fresh fruits are purchased at their season from a local bazaar in Eskişehir (Turkey) then washed thoroughly three times with tap water to remove dirt and dust particles. Second wash was performed by using phosphate buffered saline (PBS) for the elimination of contaminating ions and elements in the tap water. For the extraction of lemon juice, hand squeezing was used. For the extraction of olive and turnip juices, 100 g pieces were weighted, sliced then homogenized with 100 mL PBS in a mixer. For the extraction of fig juices, 100 g pieces were weighted, sliced then homogenized with 500 mL PBS in a mixer. The collected juices from all samples were filtered through a clean muslin cloth and subjected to sequential centrifugation consisting of at $1200 \times g$ for 20 min, $3000 \times g$ for 20 min, and $10000 \times g$ for 60 min at 4°C in a Heraeus biofuge centrifuge (Stratos, Thermo, USA), to remove the cellular debris and particles. Using aseptic techniques from this step, supernatant was filtered through a $0.2\text{-}\mu\text{m}$ filter (Minisart, Sartorius, Germany) then centrifuged at $150000 \times g$ for 120 min at 4°C in an LE-80 K ultracentrifuge (Beckman Coulter, Palo Alto, CA, USA) using Type 45 Ti Rotor (Beckman Coulter, Palo Alto, CA, USA) to obtain exosomes. Isolated exosomes were resuspended in 1 mL sterile PBS and pooled in a new ultracentrifuge tube. Final ultracentrifugation at $150000 \times g$ for 120 min at 4°C was implemented to pellet the concentrated exosomes.

Exosome Preparation

The concentrations of exosomes were determined by analyzing protein contents in a fluorescence-based quantitation device (Qubit 2, Thermo, USA). Briefly, ten volumes of exosome suspension in PBS was mixed with a volume of 10x RIPA buffer. Next, the protein content of the mixture was determined with Qubit protein assay kit (Thermo) according to the directions of the manufacturer. The protein contents of the stock exosome pellets are equalized to 1 mg/mL by diluting in sterile PBS. Then the exosomes were aliquoted and stored at -80°C

Cell Culture

MCF-7 human breast adenocarcinoma cells (ATCC, HTB-22) obtained from Prof. Dr Tansu Koparal (Eskişehir Technical University, Eskişehir, Turkey) was cultured in exosome-depleted Dulbecco's modified Eagle's medium (exofree-DMEM) as previously reported (Théry et al., 2006). Briefly, DMEM (Sigma-

Aldrich, USA) was supplemented with 20 % fetal bovine serum (FBS) then centrifuged at $100000 \times g$ in the LE-80 K ultracentrifuge (Beckman Coulter, Palo Alto, CA, USA) using Type 45 Ti Rotor (Beckman Coulter, Palo Alto, CA, USA) for overnight at 4°C . The supernatant was filtered through a $0.2\text{-}\mu\text{m}$ filter (Minisart, Sartorius, Germany) to a sterile bottle. Processed DMEM which contains 20% FBS was used to prepare the 10% FBS (Gibco, USA) and 1% penicillin (100 U/mL)-streptomycin ($100\text{ }\mu\text{g/mL}$). Cells were incubated at 37°C in a humidified atmosphere containing 5% CO_2 .

Cellular Morphology and Cytotoxicity Assessment

The cytotoxic effects of isolated exosomes were evaluated with neutral red uptake assay as formerly specified (Karaosmanoğlu et al., 2018). Briefly, cells were separated from the culture flasks by treatment of 0.25% trypsin/EDTA (Invitrogen) and plated a 96-well culture plate (Thermo Scientific, Germany) with the concentration of 1×10^4 cell/200 μL DMEM. Following overnight incubation, cells were treated with $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ protein containing exosomes and further incubated for 72 h. Since $20\text{ }\mu\text{g/mL}$ nanovesicle containing lemon exosomes was reported to significantly inhibit the proliferation of tumor cells (Raimondo et al., 2015), the cytotoxicity of lemon exosomes was used as a positive control for the evaluation of the cytotoxicity of fig, turnip and olive exosomes. After morphology was evaluated by an inverted microscope (Olympus, BX 50, Center Valley, PA, USA). Next, DMEM containing $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ neutral red dye was applied to cells further incubation

continued for 3 h. The dye medium was then poured, and cells was washed with PBS. Next, dye extraction solution consisting of acetic acid-water-ethanol in water (1:49:50) was added to each well. After plates were incubated for 15 min at room temperature with shaking on a GFL 3012 shaker (Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Germany). Finally, absorbance values originated from the viable cells was measured by ELx 808 Ultra Microplate Reader (Biotek, USA) equipped with a 540 nm filter. The viability was evaluated based on a comparison with untreated cells. The IC_{50} values were calculated by linear regression using Microsoft Excel and presented as a table.

Statistical Analysis

The experiments were implemented with three independent biological replicates. Graphing and statistical analyses and were executed with GraphPad (GraphPad Prism 6, San Diego, CA, USA). One-way ANOVA with Dunnet post hoc test was used for variance analyses, and p-values less than 0.05 were assigned as statistically significant.

RESULTS

Cellular Morphology

MCF-7 cells treated with $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ protein containing fig, lemon, olive, and turnip exosomes for 72 h were photographed by an inverted microscope. As it can be seen from images in Figure 1, control cells were healthy and at a satisfactory concentration for evaluating the exosome-mediated growth alterations of MCF-7 cells.

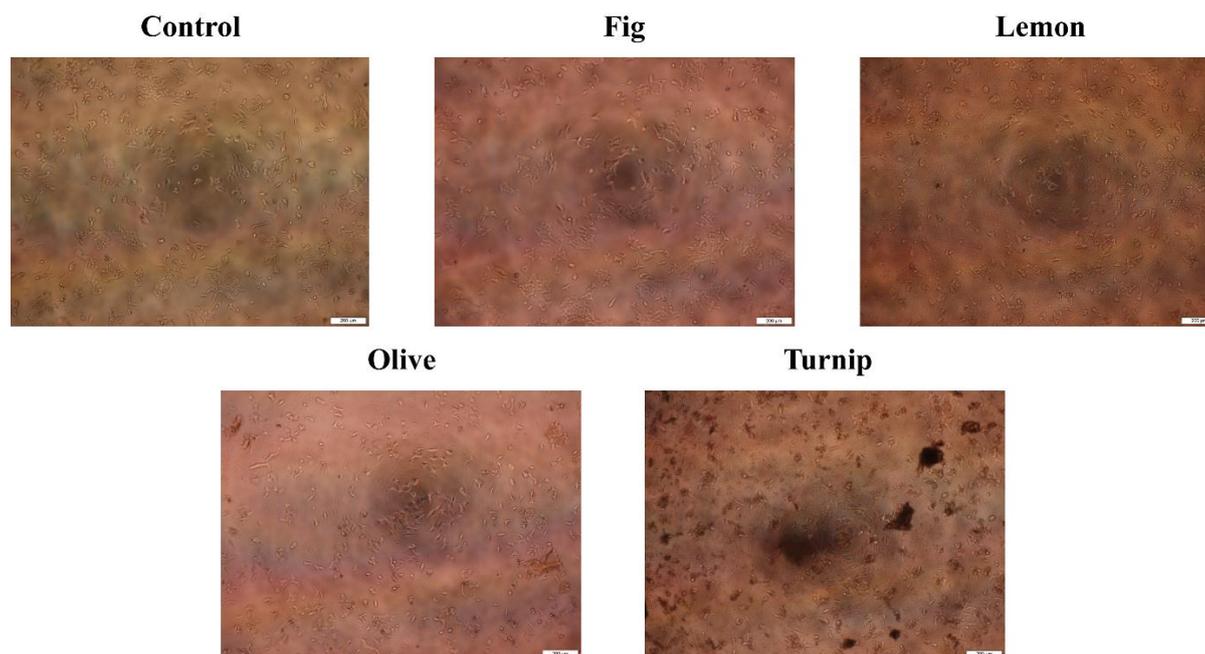


Figure 1. MCF-7 cells treated with $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ protein containing fig, lemon, olive, and turnip exosomes for 72 h were photographed by an inverted microscope.

Fig exosomes-treated cells were nearly identical with the control cells based on their morphology and concentrations. Lemon exosomes-treated cells were exhibited the impaired growth percentage. Therefore, lemon exosomes might promote cellular death mechanisms in MCF-7 cells. Olive exosomes-treated cells were observed to decrease the cellular growth, however, this reduction was not statistically significant. Turnip exosomes-treated cells exerted the most promising results in microscopic examinations. The cell concentration was remarkably reduced in a

field of view, suggesting the turnip exosome-mediated growth inhibition of MCF-7 cells.

Cytotoxicity Assessment

The viabilities of MCF-7 cells treated with fig, lemon, olive, and turnip exosomes were estimated through the neutral red uptake assay. The percentage of viable cells treated with the fig, lemon, olive and turnip exosomes were 99%, 48%, 87%, and 27% respectively. These results imply the anticancer activities of lemon and turnip exosomes.

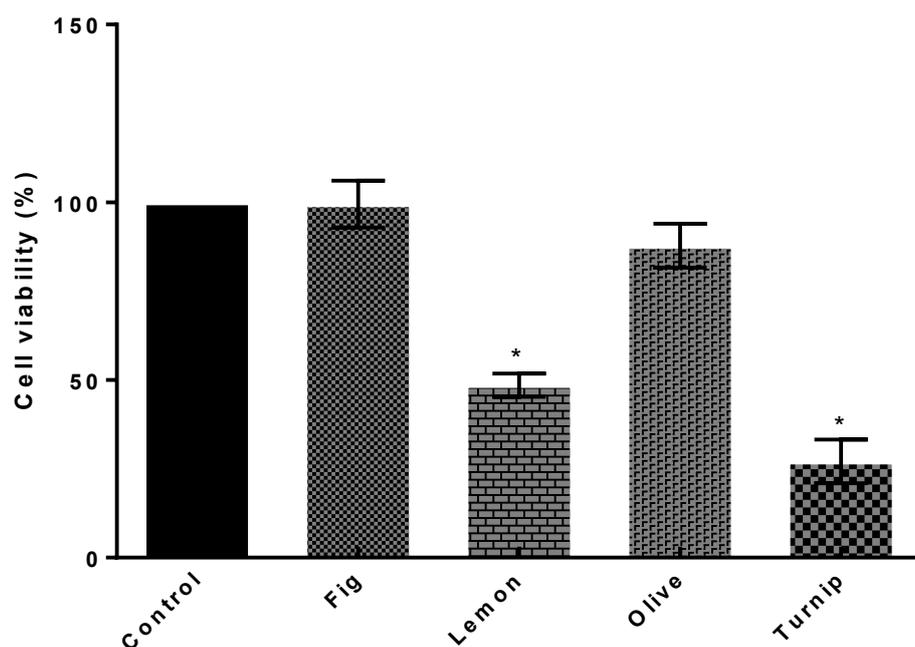


Figure 2. The viabilities of MCF-7 cells treated with 100 $\mu\text{g/mL}$ protein containing fig, lemon, olive and turnip exosomes for 72 h. Statistical comparisons were performed with ANOVA followed by Dunnet's post hoc (* $p < 0.05$).

As is seen from Table 1, the IC_{50} values of lemon and turnip exosomes were estimated to be 98.03 and 61.15 $\mu\text{g/mL}$. However, fig and olive exosomes were not cytotoxic to 100 $\mu\text{g/mL}$.

Table 1. Cytotoxicity of tested exosomes towards MCF-7 cells determined by the neutral red assay

Exosome	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$ Mean \pm SD)
Fig	>100
Lemon	98.03 \pm 13.65
Olive	>100
Turnip	61.16 \pm 5,63

DISCUSSION

The present study is conducted to screen the possible anticancer activities of edible plant derived exosomes from fig, lemon, olive, and turnip. It was demonstrated that while fig and olive exosomes have not any growth inhibitory activities, lemon and turnip exosomes were

significantly inhibited the breast cancer proliferation. This observation may be related with the differences of the constituents of exosomes originated from different plants. While some exosomes originated from a particular plant like turnip and lemon can contain nucleic acids, and proteins that have tumor suppressor effects, others such as fig and olive may not. In the literature, lemon exosome-mediated inhibition of the proliferation of leukemia, colorectal adenocarcinoma, and lung carcinoma cell lines are reported (Raimondo et al., 2015). However, this is the first publication to demonstrate the better cytotoxic activities of turnip exosomes than lemon exosomes on a breast cancer cell line.

Lemons are a member of evergreen trees, originated from India, cultivating for more than 4000 years. Polymethoxyflavones enriched in lemons have been well known to exhibit anticancer activities (L. Wang et al., 2014). Moreover, Citrus limon-derived exosomes

are proven to inhibit cancer cell proliferation and suppress chronic myeloid leukemia xenograft growth by inducing TRAIL-mediated cell death (Raimondo et al., 2015). In this study, it was concordantly realised that the lemon exosomes have inhibitory effects on the proliferation of breast cancer cells.

Turnips are a member of cruciferous vegetables, grown in cool climates, and they have been planted from the Roman times. Organosulphur compounds found in the turnip have been shown to decrease the proliferation of cancer cells (Farag and Motaal, 2010). In addition, broccoli-derived exosomes observed to inhibit mouse colitis (Deng et al., 2017). In this study, the observation that 100 µg/mL protein containing turnip exosome-mediated inhibition of the proliferation of a breast cancer cell is unique for exosome-mediated growth inhibition of cancer cells, therefore this is an important contribution to the anticancer activities of cruciferous vegetables.

Despite the absence of data regarding to the cytotoxic effects of turnip exosomes on primary normal cells, this study can initiate new investigations for future studies that are deciphering the mechanism of cell death promoted by turnip exosomes. Besides, since adverse drug reactions are one of the most challenging obstacles in cancer treatment, turnip derived exosomes can be engineered for developing a new drug and/or drug delivery vehicle which has minimum side effects with the edible character of turnip.

REFERENCES

- An Q, Huckelhoven R, Kogel K-H, van Bel AJE 2006. Multivesicular bodies participate in a cell wall-associated defence response in barley leaves attacked by the pathogenic powdery mildew fungus. *Cellular Microbiology*, 8(6): 1009–1019.
- Böhlenius H, Mørch SM, Godfrey D, Nielsen ME, Thordal-Christensen H 2010. The Multivesicular Body-Localized GTPase ARFA1b/1c Is Important for Callose Deposition and ROR2 Syntaxin-Dependent Preinvasive Basal Defense in Barley. *The Plant Cell*, 22(11): 3831–3844.
- Boriachek K, Islam MN, Möller A, Salomon C, Nguyen N-T, Hossain MSA, Yamauchi Y, Shiddiky MJA 2018. Biological Functions and Current Advances in Isolation and Detection Strategies for Exosome Nanovesicles. *Small*, 14(6): 1702153. <https://doi.org/10.1002/sml.201702153>
- Deatherage BL, Cookson BT 2012. Membrane Vesicle Release in Bacteria, Eukaryotes, and Archaea: a Conserved yet Underappreciated Aspect of Microbial Life. *Infection and Immunity*, 80(6): 1948–1957.
- Deng Z, Rong Y, Teng Y, Mu J, Zhuang X, Tseng M, Samykutty A, Zhang L, Yan J, Miller D, Suttles J, Zhang H-G 2017. Broccoli-Derived Nanoparticle Inhibits Mouse Colitis by Activating Dendritic Cell AMP-Activated Protein Kinase. *Molecular Therapy*, 25(7): 1641–1654.
- Dragomir M, Chen B, Calin GA 2018. Exosomal lncRNAs as new players in cell-to-cell communication. *Translational Cancer Research*, 7(S2): S243–S252. <https://doi.org/10.21037/tcr.2017.10.46>
- Escudier B, Dorval T, Chaput N, André F, Caby M-P, Novault S, Flament C, Leboulleire C, Borg C, Amigorena S, Boccaccio C, Bonnerot C, Dhellin O, Movassagh M, Piperno S, Robert C, Serra V, Valente N, Le Pecq J-B, Spatz A, Lantz O, Tursz T, Angevin E, Zitvogel L 2005. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: results of the first phase I clinical trial. *Journal of Translational Medicine*, 3(1): 10.
- Farag MA, Motaal AAA 2010. Sulforaphane composition, cytotoxic and antioxidant activity of crucifer vegetables. *Journal of Advanced Research*, 1(1): 65–70.
- Hoshino A, Costa-Silva B, Shen T-L, Rodrigues G, Hashimoto A, Tesic Mark M, Molina H, Kohsaka S, Di Giannatale A, Ceder S, Singh S, Williams C, Soplop N, Uryu K, Pharmed L, King T, Bojmar L, Davies AE, Ararso Y, Zhang T, Zhang H, Hernandez J, Weiss JM, Dumont-Cole VD, Kramer K, Wexler LH, Narendran A, Schwartz GK, Healey JH, Sandstrom P, Jørgen Labori K, Kure EH, Grandgenett PM, Hollingsworth MA, de Sousa M, Kaur S, Jain M, Mallya K, Batra SK, Jarnagin WR, Brady MS, Fodstad O, Muller V, Pantel K, Minn AJ, Bissell MJ, Garcia BA, Kang Y, Rajasekhar VK, Ghajar CM, Matei I, Peinado H, Bromberg J, Lyden D 2015. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*, 527(7578): 329–335. <https://doi.org/10.1038/nature15756>
- Karaosmanoğlu O, Banerjee S, Sivas H 2018. Identification of biomarkers associated with partial epithelial to mesenchymal transition in the secretome of slug over-expressing hepatocellular carcinoma cells. *Cellular Oncology*, 41(4): 439–453. <https://doi.org/10.1007/s13402-018-0384-6>
- Kibria G, Ramos EK, Wan Y, Gius DR, Liu H 2018. Exosomes as a Drug Delivery System in Cancer Therapy: Potential and Challenges. *Molecular Pharmaceutics*, 15(9): 3625–3633.
- Li X-B, Zhang Z-R, Schluesener HJ, Xu S-Q 2006. Role of exosomes in immune regulation. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 10(2): 364–375. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2006.tb00405.x>
- Ma Q-L, Teng E, Zuo X, Jones M, Teter B, Zhao EY, Zhu C, Bilousova T, Gylys KH, Apostolova LG, LaDu MJ, Hossain MA, Frautschy SA, Cole GM 2018. Neuronal pentraxin 1: A synaptic-derived plasma biomarker in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 114: 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.02.014>

- Meyer D, Pajonk S, Micali C, O'Connell R, Schulze-Lefert P 2009. Extracellular transport and integration of plant secretory proteins into pathogen-induced cell wall compartments. *The Plant Journal*, 57(6): 986–999.
- Min H, Sun X, Yang X, Zhu H, Liu J, Wang Y, Chen G, Sun X 2018. Exosomes Derived from Irradiated Esophageal Carcinoma-Infiltrating T Cells Promote Metastasis by Inducing the Epithelial–Mesenchymal Transition in Esophageal Cancer Cells. *Pathology & Oncology Research*, 24(1): 11–18. <https://doi.org/10.1007/s12253-016-0185-z>
- Mincheva-Nilsson L, Baranov V 2010. The Role of Placental Exosomes in Reproduction. *American Journal of Reproductive Immunology*, 63(6): 520–533.
- Mineo M, Garfield SH, Taverna S, Flugy A, De Leo G, Alessandro R, Kohn EC 2012. Exosomes released by K562 chronic myeloid leukemia cells promote angiogenesis in a src-dependent fashion. *Angiogenesis*, 15(1): 33–45.
- Mu J, Zhuang X, Wang Q, Jiang H, Deng Z, Wang B, Zhang L, Kakar S, Jun Y, Miller D, Zhang H 2014. Interspecies communication between plant and mouse gut host cells through edible plant derived exosome-like nanoparticles. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(7): 1561–1573.
- Nagarajah S 2016. Exosome Secretion - More Than Simple Waste Disposal? Implications for Physiology, Diagnostics and Therapeutics. *Journal of circulating biomarkers*, 5: 7. <https://doi.org/10.5772/62975>
- Pant S, Hilton H, Burczynski ME 2012. The multifaceted exosome: Biogenesis, role in normal and aberrant cellular function, and frontiers for pharmacological and biomarker opportunities. *Biochemical Pharmacology*, 83(11): 1484–1494.
- Raimondo S, Naselli F, Fontana S, Monteleone F, Lo Dico A, Saieva L, Zito G, Flugy A, Manno M, Di Bella MA, De Leo G, Alessandro R 2015. Citrus limon-derived nanovesicles inhibit cancer cell proliferation and suppress CML xenograft growth by inducing TRAIL-mediated cell death. *Oncotarget*, 6(23): 19514–27. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4004>
- Schorey JS, Bhatnagar S 2008. Exosome Function: From Tumor Immunology to Pathogen Biology. *Traffic*, 9(6): 871–881.
- Théry C, Amigorena S, Raposo G, Clayton A 2006. Isolation and Characterization of Exosomes from Cell Culture Supernatants and Biological Fluids. *Current Protocols in Cell Biology*, 30(1): 3.22.1–3.22.29. <https://doi.org/10.1002/0471143030.cb0322s30>
- Van Niel G, D'Angelo G, Raposo G 2018. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(4): 213–228. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.125>
- Wang B, Zhuang X, Deng Z-B, Jiang H, Mu J, Wang Q, Xiang X, Guo H, Zhang L, Dryden G, Yan J, Miller D, Zhang H-G 2014. Targeted Drug Delivery to Intestinal Macrophages by Bioactive Nanovesicles Released from Grapefruit. *Molecular Therapy*, 22(3): 522–534. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.190>
- Wang L, Wang J, Fang L, Zheng Z, Zhi D, Wang S, Li S, Ho C-T, Zhao H 2014. Anticancer activities of citrus peel polymethoxyflavones related to angiogenesis and others. *Biomed Research International*, 2014: 453972. <https://doi.org/10.1155/2014/453972>
- Wang Q, Ren Y, Mu J, Egilmez NK, Zhuang X, Deng Z, Zhang L, Yan J, Miller D, Zhang H-G 2015. Grapefruit-Derived Nanovectors Use an Activated Leukocyte Trafficking Pathway to Deliver Therapeutic Agents to Inflammatory Tumor Sites. *Cancer Research*, 75(12): 2520–2529.
- Xiao J, Feng S, Wang X, Long K, Luo Y, Wang Y, Ma J, Tang Q, Jin L, Li X, Li M 2018. Identification of exosome-like nanoparticle-derived microRNAs from 11 edible fruits and vegetables. *PeerJ*, 6: e5186. <https://doi.org/10.7717/peerj.5186>
- Xin H, Li Y, Cui Y, Yang JJ, Zhang ZG, Chopp M 2013. Systemic Administration of Exosomes Released from Mesenchymal Stromal Cells Promote Functional Recovery and Neurovascular Plasticity After Stroke in Rats. *J. Cereb. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 33(11): 1711–1715.
- Zhuang X, Deng Z-B, Mu J, Zhang L, Yan J, Miller D, Feng W, McClain CJ, Zhang H-G 2015. Ginger-derived nanoparticles protect against alcohol-induced liver damage. *Journal of Extracellular Vesicles*, 4(1): 28713. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.28713>

Determination of Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Gölevez [(*Colocasia esculenta* (L.)) Tubers

Mehmet AKYÜZ

Kilis 7 Aralık University, Faculty of Science and Arts, Department of Chemistry, 79000, Turkey
<https://orcid.org/0000-0001-7971-8389>

✉: makyuz@kilis.edu.tr

ABSTRACT

In this study, the antioxidant activity of the ethanolic extract of *Colocasia esculenta* tubers were determined by four different antioxidant tests including DPPH and ABTS radicals scavenging activities, metal chelating activity and reducing power. The scavenging effect of extract of *C. esculenta* tubers and standards on DPPH radical at the highest concentration (600 µg mL⁻¹) decreased in the following order: Vitamin C>Trolox>*C. esculenta*>BHA and were found as 95.4, 93.6, 83.8 and 78.8 %, respectively. The scavenging effect of *C. esculenta* tuber extract and standards on ABTS radical at the highest concentration (100 µg mL⁻¹) decreased in the order: Trolox = BHA>*C. esculenta* and were found as 100, 100, 94.6 %, respectively. The metal chelating capacity of extract of *C. esculenta* tubers and standards decreased in the order of *C. esculenta*>BHA>Trolox at lowest concentration (100 µg mL⁻¹) and was found to be 78.0, 76.0, 63.5 %, respectively. Reducing power of extract of *C. esculenta* tubers and standards at the highest concentration (600 µg mL⁻¹) followed the order: BHA>Trolox>*C. esculenta*. Total phenolic compound and flavonoid amounts of *C. esculenta* tubers were designated as 2400 mg GAE/kg extract and 2050 mg QE/kg extract, respectively.

Research Article

Article History

Received : 09.07.2019

Accepted : 23.08.2019

Keywords

Colocasia esculenta

Antioxidant activity

Phenolic content

Radical scavenging

Gölevez [(*Colocasia esculenta* (L.)) Yumrularının Etanol Ekstresinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

ÖZET

Bu çalışmada Gölevez (*Colocasia esculenta*) yumrularının etanol ekstresinin antioksidan aktivitesi DPPH ve ABTS radikallerini giderme aktiviteleri, metal şelatlama aktivitesi ve indirgeme gücü gibi dört farklı antioksidan metotla belirlendi. *C. esculenta* yumrularının ekstreleri ve standartların en yüksek konsantrasyonda (600 µg mL⁻¹) DPPH radikali üzerindeki giderme etkisi Vitamin C >Trolox>*C. esculenta*>BHA sırasına göre azaldı ve sırasıyla % 95.4, 93.6, 83.8 ve 78.8 olarak bulundu. *C. esculenta* yumrularının ekstreleri ve standartların en yüksek konsantrasyonda (100 µg mL⁻¹) ABTS radikali üzerindeki giderme etkisi Trolox=BHA>*C. esculenta* şeklinde azaldı ve sırasıyla % 100, 100 ve 94.6 olarak bulundu. *C. esculenta* yumrularının ekstreleri ve standartların en düşük konsantrasyonda (100 µg mL⁻¹) metal şelatlama aktiviteleri *C. esculenta*>BHA>Trolox sırasına göre azaldı ve sırasıyla % 78.0, 76.0 ve 63.5 olarak bulundu. *C. esculenta* yumrularının ekstreleri ve standartların en yüksek konsantrasyonda (600 µg mL⁻¹) indirgeme güçleri BHA>Trolox>*C. esculenta* şeklinde sıralandı. *C. esculenta* yumru ekstrelerinin toplam fenolik bileşik ve flavonoid miktarları sırasıyla 2400 mg GAE/kg ekstre ve 2050 mgQE/kg ekstre olarak belirlendi.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 09.07.2019

Kabul Tarihi : 23.08.2019

Anahtar Kelimeler

Colocasia esculenta

Antioksidan aktivite

Fenolik içerik

Radikal giderme

INTRODUCTION

Reactive Oxygen Species (ROS) are produced by various biochemical reactions in the human body and living organisms (Dehpour et al., 2009) during normal cellular functions (Mates, 2000). They become toxic when their levels increased (Ferreira et al., 2007). Excessive ROS and production of other radical molecules can damage biomolecules like proteins, carbohydrates, polyunsaturated fatty acids and DNA (Brighente et al., 2007). ROS also can cause many sicknesses like Parkinson's disease, cancer, diabetes, rheumatoid arthritis, aging, ischemia and liver disorders (Gowri and Madhavan, 2013). Gülçin (2010) reported that ROS play a role in more than 100 ailments related to excessive ROS. Antioxidants are often added to foods for retarding the oxidation process. These compounds can also clear free radicals and delay the advance of plenty of chronic illnesses (Gülçin, 2012). Nowadays, butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) and propyl gallate are among the most prevalent used antioxidants in food and pharmaceutical industries (Ak and Gülçin, 2008). However, BHA and BHT are both potent antioxidants but have been reported to have carcinogenic activity (Madsen and Bertelsen, 1995). Therefore, interest in natural and safer antioxidants from natural products has been increased (Gülçin et al., 2012).

Colocasia esculenta is commonly known as Göleveze in Turkish folk medicine (Tanker et al., 2014). Also, it is grown in Southeast Asia, Cyprus and Turkey, especially in Mersin and Anamur (Tanker et al., 2014). Moreover, it was locally cultivated and used as a vegetable in India (Yadav et al., 2017). It belongs to the family of Araceae (Tuti et al., 2015) and is a tropical perennial plant, specific to Asia and the Pacific and widely spread out in tropical regions (Li et al., 2014). *Colocasia esculenta* include dietary fiber, protein and vitamins including vitamin C, thiamine, riboflavin and niacin (Yadav et al., 2017) and minerals such as iron, potassium, sodium and zinc (Nakharekar and Berde, 2016). Therefore, it is used as a source of protein, vitamins and starch (Sheikh and Tembhre, 2016). It is also recognized for its color, flavor and therapeutic value (Nakharekar and Berde, 2016). *C. esculenta* is reported to display some biological activities including antidiabetic, anti-inflammatory (Li et al., 2014; Tuti et al., 2015; Yadav et al., 2017) antibacterial, antifungal, anthelmintic (Tuti et al., 2015), antioxidant and anticancer effects (Li et al., 2014; Yadav et al., 2017). Its edible corms and leaves are traditionally used for hepatic ailments (Nakharekar and Berde, 2016).

This study was carried out in order to determine the antioxidant activities of the ethanolic extracts of *Colocasia esculenta* (L.) tubers. The results were

compared to standard antioxidants, which are Vitamin C, BHA and Trolox. At the same time, in the extract total phenolic compound and flavonoid amounts were detected.

MATERIALS and METHODS

Materials and Extraction Procedure

Colocasia esculenta (L.) tubers collected in Anamur, Mersin, and Mediterranean region of Turkey. The ethanolic extract was prepared according to Elmastaş et al., (2006). Peels of tubers thinly separated with a knife and the tubers dried in an oven at 40 °C. Then 25 g *Colocasia esculenta* tuber was powdered by blender and mixed with 500 mL ethanol. Residual uptake was continued until the extraction solvent had lost its color. The extracts were combined and filtered. The ethanol was taken out with rotary evaporator at 40 °C. The remaining extract transferred to a plastic flask and protected at -20 °C until used.

DPPH free radical scavenging activity

The DPPH free radical scavenging activity of the ethanolic extract was determined according to the Blois method (1958). For this purpose, 1 mL solution of DPPH (0.1 mM) was added to 3 mL of sample extract at various concentrations (100-600 µg mL⁻¹). The mixture incubated in room condition in dark about thirty minutes. The absorbance was spectrophotometrically recorded at 517 nm. BHA, Trolox and Vitamin C were used as standard radical scavengers. Radical scavenging activity was calculated by following equation:

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left[\frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \right] \times 100$$

ABTS radical scavenging activity

ABTS radical scavenging effect of the ethanol extract was conducted as indicated in method of Re et al. (1999) and Gülçin (2009). Firstly, 2 mM ABTS and 2.45 mM Na₂S₂O₈ solutions were mixed in a 1: 2 ratio and kept for 6 hours in the dark. The absorbance was read at 734 nm. To adjust the absorbance, the melange was diluted with phosphate buffer (0.1 M, pH: 7.4) when the absorbance was higher than 0.75. The sample was then placed in test tubes at different concentrations (5-100 µg mL⁻¹). Phosphate buffer was added to obtain a total volume of 3 mL. After this process, 1 mL of ABTS radicals was added to the mixture, then was vortexed and waited at room temperature for half an hour. Finally, its absorbance was spectrophotometrically recorded at 734 nm. The scavenging capability of extract and standards were calculated from equation, which given below:

$$\text{ABTS scavenging effect (\%)} = \left[\frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \right] \times 100$$

Metal chelating activity

The chelating activity of *C. esculenta* tubers extracts and standards was determined in the light of literature (Dinis et al., 1994). Shortly, 0.4 mL of FeCl₂ (2 mM) and 0.4 mL of ferrozine (5 mM) solutions were added to the extracts of varied concentrations (100-600 µg mL⁻¹). The volume was completed to 4 mL with ethanol. The mixture was strongly vortexed and waited at room heat for 10 min and the absorbances were recorded by spectrophotometry at 562 nm. Metal chelating effect of extract and standards were calculated from following equation:

$$\text{Metal chelating effect (\%)} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}) / A_{\text{Control}}] \times 100$$

Reducing power

The reducing power effect of the extract was measured by taking the procedure proposed by Oyaizu (1986). Varied concentrations of *Colocasia esculenta* (L.) tuber extracts (100-600 µg mL⁻¹) were put into test tubes and 2.5 mL phosphate buffer (0.2 M, pH: 6.6) and 2.5 mL (1 %) potassium ferricyanide solutions were added. The mixture was thoroughly mixed, incubated at 50 °C for 20 min. Then 2.5 mL of TCA (10 %) solution was added to, and centrifuged for 10 min at 3000 rpm. Then 2.5 mL of supernatant and 0.5 mL of FeCl₃ (0.1 %) were mixed. The absorbance of the reaction mixture was read and recorded at 700 nm.

Determination of total phenolic content

Total phenolic compounds in *C. esculenta* tuber extracts were determined according to literature (Slinkard and Singleton, 1977) using gallic acid as a standard phenolic compound. Shortly, 1 mL of the extract solution was taken up in a volumetric flask and diluted with pure water (46 mL) and 1 mL Folin-Ciocalteu reagent was added and mixed well. After 3 minutes, 3 mL sodium carbonate (2 %) was added, then the mixture was allowed to stand for 2 hours at room temperature. The absorbance was measured at 760 nm in a spectrophotometer. The total phenolics in ethanolic extract was determined as milligram of gallic acid equivalent by using an equation that was obtained from a standard gallic acid graph.

Determination of total flavonoid amount

Total flavonoid quantification of the extracts was done as indicated in the literature (Moreno et al., 2000; Park et al., 1997) and was expressed as mg quercetin equivalent (QE). Briefly, 90 mg of extract was prepared with 15 mL of ethanol and 1 mL of was taken to a test tube. Then 0.1 mL of aluminum nitrate (10 %) and potassium acetate (1.0 M) were added and vortexed and the volume was completed

with ethanol to obtain 4 mL. It was waited at room heat for forty minutes and the absorbance was read at 415 nm.

RESULTS and DISCUSSION

It has been reported that natural antioxidants show a large spectrum of biological effects such as antibacterial, antiviral, anti-inflammatory, antiallergic, antithrombotic and vasodilatory activities (Gülçin et al., 2010). Antioxidant capacity is commonly used to for characterizing foods or medicinal plants and their biologically active ingredients (Telci et al., 2009). Many antioxidant techniques and modifications are used to evaluate antioxidant capacity (Gülçin et al., 2004).

DPPH free radical scavenging activity

DPPH method is widely used to determine the antioxidant effect (Baydar, 2013). The method is based on electron-transfer that produces a purple solution in ethanol. If there is an antioxidant molecule in the ambit, the DPPH radical is reduced and leads to a colorless ethanol solution. Since the method is easy and fast, it may be useful to evaluate different products in terms of antioxidant activity at one time with spectrophotometry (Garlica et al., 2012).

C. esculenta tubers extracts scavenging effect and standards on the DPPH radical at the highest concentration (600 µg mL⁻¹) decreased in the order of Vitamin C>Trolox>*C. esculenta*>BHA and were 95.4, 93.6, 83.8 and 78.8 %, respectively and at lowest concentration (100 µg mL⁻¹) decreased in the order of Trolox>Vitamin C>BHA>*C. esculenta*> and were 88.7, 82.4, 63.4 and 24.2 %, respectively. The results were shown in figure 1.

ABTS radical scavenging activity

The ABTS radical scavenging method is often used to evaluate the antioxidant capability of foods (Fitriana et al., 2016) and biological samples (Shang et al., 2018). *C. esculenta* tubers extracts scavenging effect and standards at the lowest concentration (5 µg mL⁻¹) on ABTS radical decreased in order: Trolox>BHA> *C. esculenta* and were 100, 96.6 and 6.3 %, respectively and at highest concentration (100 µg mL⁻¹) decreased in the order of Trolox=BHA>*C. esculenta* and were 100, 100 and 94.6 %, respectively. The results were shown in figure 2.

Metal chelating activity

The metal chelating activity of an antioxidant prevents the oxidative formation and consequently oxidative detriment. Metal chelation plays an important role in antioxidant mechanisms as it reduces the transition metal concentration. These

ions are powerful catalysts and are capable of initiation lipid peroxidation particularly in cell membranes (Ruiz Ruiz et al., 2015). The metal chelating effect of *C. esculenta* tubers and standards decreased in the order of *C. esculenta*>BHA>Trolox at the lowest concentration (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and were found as 78.0, 76.0 and 63.5 %, respectively and decreased in the order of Trolox>*C. esculenta*>BHA at the highest concentration (600 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and were found as 71.5, 68.0 and 64.0 %, respectively. The results were shown in figure 3.

Reducing power

Reducing power of a compound may function as an important reflection of its potency antioxidant capacity (Benslama and Harrar, 2016). Reducing power of *C. esculenta* tubers and standards at the

highest concentration (600 $\mu\text{g mL}^{-1}$) followed the order: BHA>Trolox>*C. esculenta*, respectively and at the lowest concentration (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) followed the order: BHA>Trolox>*C. esculenta*, respectively. The results were shown in figure 4.

Determination of total phenolic compound amount

Phenolics are the most important compounds that were found in plants (Elmastaş et al., 2006). It was emphasized that the antioxidant activity of the plants was caused by phenolic compounds (Mathangi and Prabhakaran, 2013). These particularly have strong antioxidant, antimicrobial, and antiviral effects and make strong the organisms and prevent diseases (Liaudanskas et al., 2017). Total phenolic compound amount of *C. esculenta* was determined as 2400 mg GAE/kg extract.

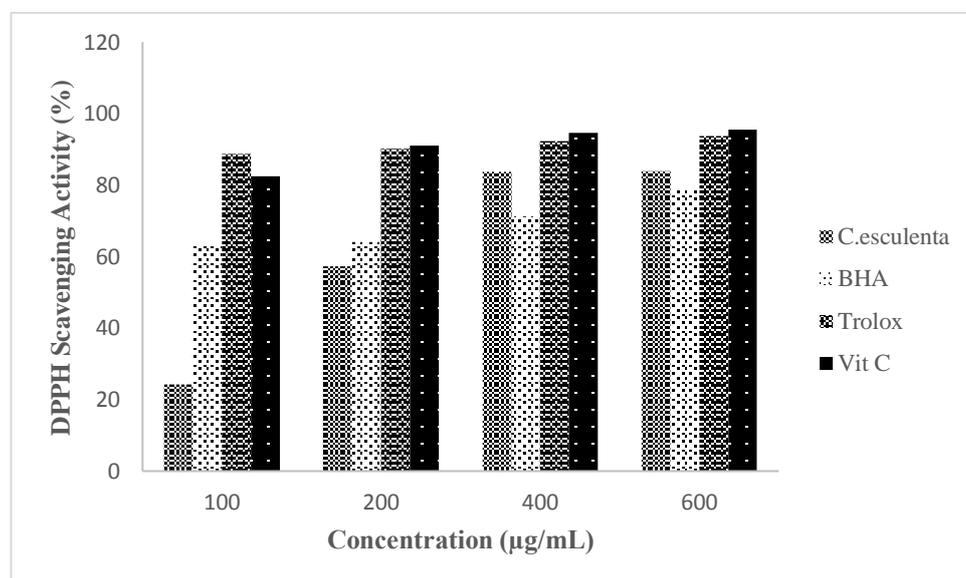


Figure 1. DPPH free radical scavenging activity of *Colocasia esculenta* tubers and standards

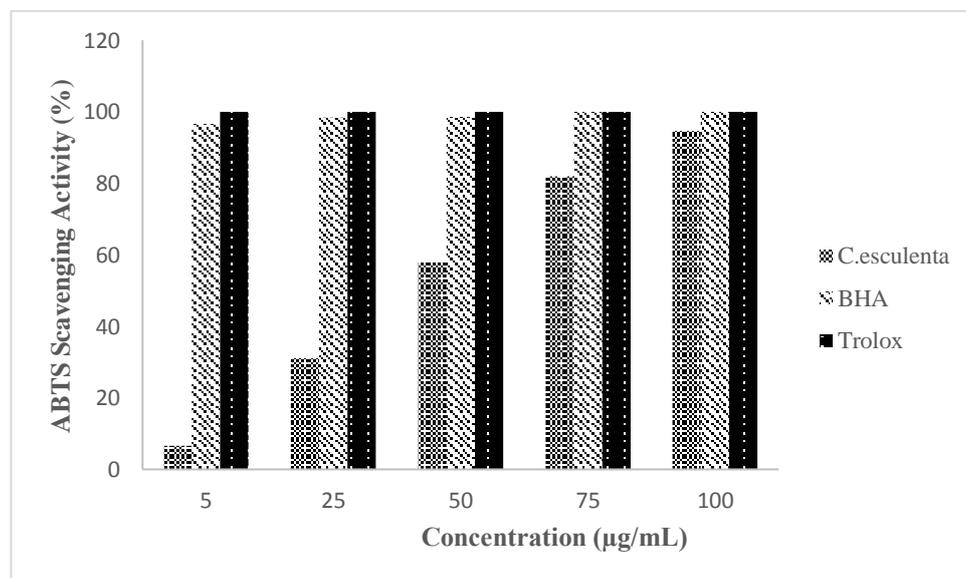


Figure 2. ABTS scavenging activity of *Colocasia esculenta* tubers and standards

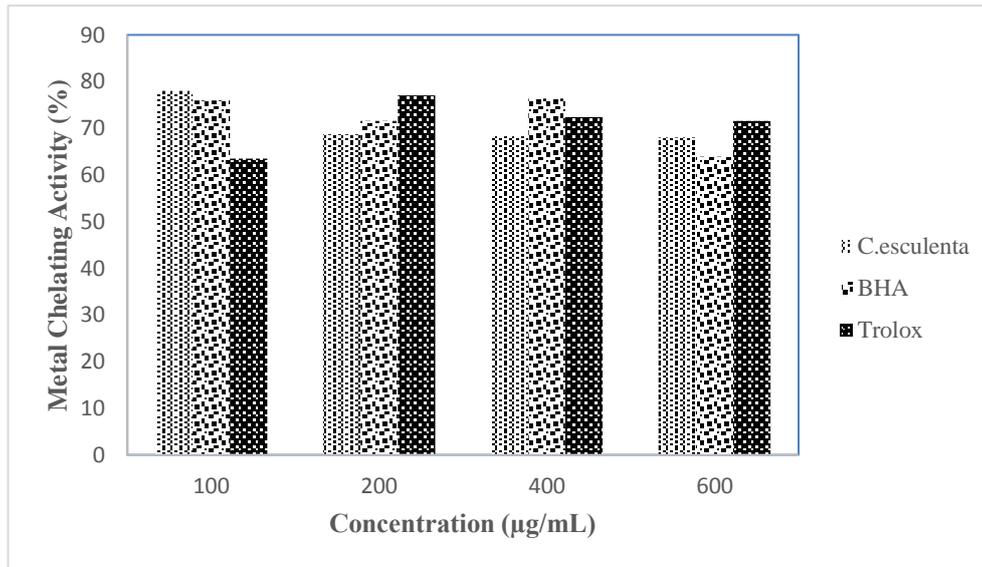


Figure 3. Metal chelating activity of *Colocasia esculenta* tubers and standards

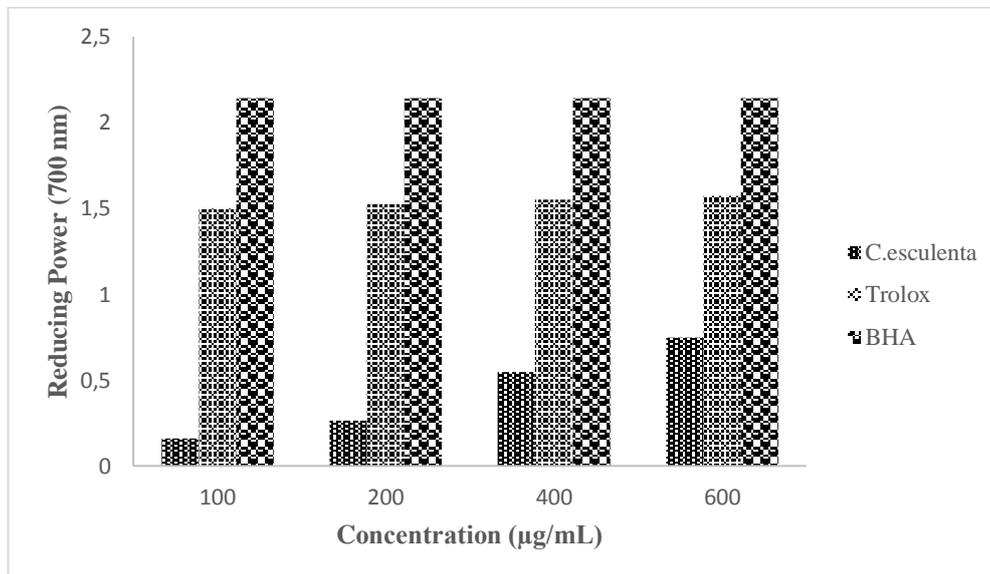


Figure 4. Reducing power activity of *Colocasia esculenta* tubers and standards

Determination of total flavonoid amount

Flavonoids are responsible for antioxidant effects and prevent the growth of bacteria and viruses and provide resistance to cancer and heart attack (Baydar, 2013). It has been reported that dietary flavonoids play a protective role against coronary heart disease (Khan et al., 2014). Total flavonoid amount of *C. esculenta* tuber was detected as 2050 mg QE/kg extract.

As a result, in this study, it was observed that the effective antioxidant activity of *C. esculenta* tuber extract was depending on its concentration. The plant has a powerful antioxidant activity to remove DPPH and ABTS radicals at the highest concentrations. Reducing power was also determined at high concentration but lower than the standards (Trolox and BHA). On the contrary at lowest concentration the plant showed higher metal chelating activity than

standards (Trolox and BHA). It is thought that the radical removal activity of *C. esculenta* tuber extract was due to the flavonoid and phenolic compounds it contains. Due to radical scavenging activities and phenolic compounds, *C. esculenta* tubers may be preferred as an alternative source instead of synthetic antioxidants in food industry.

REFERENCES

- Ak T, Gülçin İ 2008. Antioxidant and radical scavenging properties curcumin. *Chemico-Biological Interactions*, 174: 27-37.
- Baydar H 2013. *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi (Genişletilmiş 4. Baskı)*. Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 51, Isparta, 303 s.
- Benslama A, Harrar A 2016. Free radicals scavenging activity and reducing power of two Algerian Sahara medicinal plants extracts. *International*

- Journal of Herbal Medicine, 4 (6): 158-161.
- Blois MS 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 26, 1199-1200.
- Brighente IMC, Dias M, Verdi LG, Pizzolatti MG 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of some Brazilian Species. *Pharmaceutical Biology*, 45 (2): 156-161.
- Dehpour A.A, Ebrahimzadeh MA, Fazel NS, Mohammad NS 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition, *Grasas Y Aceites*, 60 (4): 405-412.
- Dinis TCP, Madeira VMC, Almeida LM 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315: 161-169.
- Elmastaş M, Gülçin İ, Beydemir Ş, Küfrevioğlu Öİ, Aboul-Enein, HY 2006. A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus Communis* L.) fruit extracts. *Analytical Letters*, 39, 47-65.
- Ferreira Isabel C.F.R, Baptista P, Vilas-Boas M, Barros L 2007. Free radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, 100: 1511-1516.
- Fitriana WD, Ersam T, Shimizu K, Fatmawati S 2016. Antioxidant activity of *Moringa Oleifera* extracts. *Indonesian Journal of Chemistry*, 16 (3): 297-301.
- Garlica EJ, Oldoni TLC, Alencar SM, de Reis A, Loguercio AD, Grande RHM 2012. Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on Bleached Teeth. *Brazilian Dental Journal*, 23(1): 22-27.
- Gowri R, Madhavan V 2013. Evaluation of antioxidant activity of ethanolic extract of *Sphaeranthus amaranthoides* Burm. *International Drug Development and Research*, 5(4): 320-329.
- Gülçin İ 2009. Antioxidant activity of L-adrenaline: A structure-activity insight. *Chemico-Biological Interactions*, 179: 71-80.
- Gülçin İ 2010. Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 210-218.
- Gülçin İ 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86, 345-391.
- Gülçin İ, Elmastaş M, Aboul-Enein HY 2012. Antioxidant activity of cloveoil-A powerful antioxidant source, *Arabian Journal of Chemistry*, 5: 489-499.
- Gülçin İ, Huyut H, Elmastaş M, Aboul-Enein HY 2010. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3: 43-53.
- Gülçin İ, Şat İG, Beydemir Ş, Elmastaş M, Küfrevioğlu Öİ 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry* 87, 393-400.
- Khan N, Al Daghri, NM, Al Ajlan AS, Alokail MS 2014. The use of natural and derived sources of flavonoids and antioxidants in Saudi Arabia. *Integrative Food Nutrition Metabolism*, 1(2): 100-106.
- Li HM, Hwang SH, Kang BG, Hong JS, Lim SS 2014. Inhibitory effects of *Colocasia esculenta* (L.) Schott constituents on aldose reductase, *Molecules*, 19: 13212-13224.
- Liaudanskas M, Zymone K, Viškelis J, Klevinskas A, Janulis V 2017. Determination of the phenolic composition and antioxidant activity of pear extracts. *Hindawi Journal of Chemistry*, Article ID, 7856521: 1-9.
- Madsen HL, Bertelsen G 1995. Species as antioxidants. *Trends in Food Science and Technology*, 6 (8): 271-277.
- Mates JM 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153: 83-104.
- Mathangi T, Prabhakaran, P 2013. DPPH free radical scavenging activity of the extracts of the aquatic fern *Marsilea quadrifolia* Linn. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(10): 534-536.
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacol*, 71: 109-114.
- Nakharekar VG, Berde CV 2016. Secondary metabolites and nutritional value profiling of *Colocasia esculenta*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 5 (10): 709-720.
- Oyaizu M 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Japan Journal of Nutrition*, 44: 307-315.
- Park YK, Koo MH, Ikegaki M, Contado, JL 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 40 (1): 97-106.
- 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: 1231-1237.
- Ruiz Ruiz, JC, Moguel Ordoñez, YB, Matus Basto, A, Segura Campos, MR 2015. Antioxidant capacity of leaf extracts from two *Stevia rebaudiana* Bertoni varieties adapted to cultivation in Mexico. *Nutricion hospitalaria* 31(3): 1163-1170.

- Shang HM, Zhou HZ, Yang JY, Li R, Song H, Wu HX 2018. In vitro and in vivo antioxidant activities of inulin. Plos One, 2, 1-12.
- Sheikh MA, Tembhre M, 2016. Preliminary phytochemical screening, in vitro antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of *Colocasia esculenta* leaf extract. Asian Journal of Experimental Sciences 30: (1&2): 39-43.
- Slinkard K, Singleton VL 1977. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28: 49-55.
- Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M 2014. Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 105, Ankara, 424s.
- Telci İ, Elmastas M, Sahin A 2009. Chemical composition and antioxidant activity of *Ocimum minimum* essential oils. Chemistry of Natural Compounds, 45 (4): 568-571.
- Tuti MD, Pal RS, Arun Kumar R, Bist JK, Bhatt JC 2015. Colocasia based cropping systems affects the antioxidant properties and productivity of colocasia [*Colocasia esculenta* (L.) schott] tuber. The Bioscan an International Quaterly Journal of Life Sciences, 10 (1): 117-123.
- Yadav M, Kushawaha DK, Chatterji S, Watal G 2017. Assessment of antioxidant activity and phytochemical screening of *Colocasia esculenta* corm. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 8(4): 1758-1764.

Cytogenetic Characteristics of *Microtus guentheri*, *Microtus arvalis* sensu lato and *Microtus majori* (Mammalia: Rodentia) From Turkey: Constitutive Heterochromatin Distribution

Ahmet Yesari SELÇUK^{1*}, Mehmet Akif BİLİR², Haluk KEFELİOĞLU³

Department of Biology, Faculty of Science, Ondokuz Mayıs University, 55200. Samsun- Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-2785-2823>, ²<https://orcid.org/0000-0002-6835-9154>, ³<https://orcid.org/0000-0002-7421-6037>

✉: ahmetyesari@gmail.com

ABSTRACT

Conventionally stained and C- banded karyotypes of Guenther's vole (*Microtus guentheri*), Major's pine vole (*Microtus majori*) and Common vole (*Microtus arvalis*) were studied from Turkey. Diploid chromosome numbers of *M. guentheri*, *M. arvalis* and *M. majori* were found as $2n=54$ and $NFa=52$, $2n=46$ and $NFa=68$ and $2n=54$ and $NFa=56$, respectively. All chromosomes of *M. guentheri* were pericentromeric C- band. In *Microtus arvalis* (*obscurus* cytotype) and *Microtus majori* karyotypes, autosomal chromosomes were heterochromatin C band positive and negative band. In *M. arvalis* (*obscurus* cytotype), sex chromosome was C band negative. In this study, heterozygote chromosome was not found in the obtained autosomal chromosome set of *M. arvalis*. *M. majori* has enlarged heterochromatin block from centromere to telomere on the long arm of X chromosome. Y chromosome was completely heterochromatin.

Research Article

Article History

Received : 20.03.2019

Accepted : 05.08.2019

Keywords

Common vole
C- banding
Guenther's vole
Major's pine vole
Obscurus cytotype

Microtus guentheri, *Microtus arvalis* ve *Microtus majori* (Mammalia: Rodentia) Türlerinin Sitogenetik Özellikleri: Konstitüif Heterokromatin Dağılımı

ÖZET

Bu çalışmada, Güentheri tarla faresi (*Microtus guentheri*), Kısa kulaklı kır faresi (*Microtus majori*) ve Yaygın tarla faresi (*Microtus arvalis*) türlerinin standart karyotipleri ve kromozomların C-bant özellikleri belirlendi. *M. guentheri* türünün diploid kromozom sayısı ($2n$) = 54 ve otozomal kromozomların kol sayısı (NFa) = 52, *M. arvalis* (*obscurus* sitotip) türünün $2n$ = 46 ve NFa = 68, *M. majori* türünün $2n$ = 54 ve NFa = 56 şeklindedir. *M. guentheri* otozomal ve eşey kromozomlarda pericentromerik C-bant olduğu belirlendi. *Microtus arvalis* (*obscurus* sitotip) ve *Microtus majori* karyotiplerinde otozomal kromozomlar C bant pozitif ve negatif şeklindedir. *M. arvalis* türünde X ve Y kromozomu C bant negatif özelliktedir. *M. majori* karyotipinde X kromozomunun uzun kolunda sentromerden telomere doğru genişlemiş heterokromatin blok bulunmaktadır. Y kromozomu ise tamamen heterokromatindir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 20.03.2019

Kabul Tarihi : 05.08.2019

Anahtar Kelimeler

C-bantlama
Guenther tarla faresi
Kısa kulaklı kır faresi
Obscurus sitotip
Yaygın tarla faresi

To Cite : Selçuk AY, Bilir MA, Kefelioğlu H 2019. Cytogenetic Characteristics of *Microtus guentheri*, *Microtus arvalis* sensu lato and *Microtus majori* (Mammalia: Rodentia) From Turkey: Constitutive Heterochromatin Distribution. KSU J. Agric Nat 22(Suppl 2): 395-400. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.542371.

INTRODUCTION

Microtus is the most branched species genus among the rodents distributed in the Palearctic (Shenbrot and Krasnov, 2005). It is very difficult to morphologically distinguish the *Microtus*, which is represented by 65 species, from each other (Musser and Carleton, 1993; Jaarola et al., 2004). However, they are frequently used in comparative cytotaxonomy studies since they differ from each other in terms of diploid chromosome numbers ($2n=17-62$) despite their morphological similarities (Zima and Král, 1984; Modi, 1987;

Zagorodnyuk, 1990; Lemskaya et al., 2010). Twelve of the vole species, *M. dogramacii*, *M. anatolicus*, *M. hartingi*, *M. levis*, *M. arvalis*, *M. subterraneus*, *M. daghestanicus*, *M. irani*, *M. schidlovskii*, *M. majori*, *M. guentheri* and *M. socialis* have been reported from Turkey (Jaarola et al., 2004; Kryštufek and Vohralik, 2005; Kryštufek et al., 2012; Arslan et al., 2016; Selçuk and Kefelioğlu, 2018; Demirtaş and Gürler, 2019). These species distributed in Turkey are classified in three main groups as 'pine voles', 'social voles' and 'arvalis group' (Kryštufek and Vohralik, 2005).

According to Tougard et al., (2013) in the *Microtus arvalis* sensu lato, cytogenetic studies revealed that there were two distinct cytotypes in the *Microtus arvalis* sensu lato; the common (*arvalis* cytotype) and Altai (*obscurus* cytotype) voles. These cytotypes were attributed to the common (*arvalis*) and Altai (*obscurus*) voles having, respectively, fundamental number of autosomes (NFa)=80 in Caucasian populations; NFa=68–70 (Meyer et al., 1996). Within the distribution areas of populations of *M. majori*, *M. guentheri* and *obscurus* cytotype, various researchers have conducted karyological studies in the form of conventional chromosome staining (Kefelioğlu, 1995; Çolak et al., 1997a, b; Çolak et al., 1998; Kefelioğlu and Kryštufek, 1999; Yiğit and Çolak, 2002; Arslan and Zima, 2014), G- banding (Macholan et al., 2001; Zima et al., 2013), C and Ag-NOR banding (Yiğit and Çolak, 2002; Baydemir et al., 2011; Tougard et al., 2013; Yorulmaz et al., 2013; Zima et al., 2013). According to these studies, variations was found in the autosomal and sex chromosome morphologies of *M. guentheri*, *M. arvalis* (*obscurus* cytotype) and *M. majori* species.

The objective of this study was to compare the conventional karyotypes of *M. majori*, *M. guentheri* and *M. arvalis* (*obscurus* cytotype) species and their constitutive heterochromatin regions, which is a karyotypic characteristic, with previously conducted studies and thus contribute to future karyological studies.

MATERIAL and METHOD

Chromosome preparations were obtained from the femoral bone marrow cells of colchicine treated

animals (Ford and Hamerton, 1956). Two samples (two females) of *M. guentheri* species were obtained from Tokat province (N40°21'-E36°37', Central Anatolia), two samples (two males) of *M. majori* species were obtained from Artvin province (N41°13'-E41°59', Northeast Anatolia, Caucasia region) and one sample of *M. arvalis* (*obscurus* cytotype) was obtained from Ardahan-Kars border province (N40°48'-E42°52', Northeast Anatolia) by using live animal traps. Diploid chromosome number (2n) and fundamental number of autosomal arms (NFa) and sex chromosomes of small mammals used in the study were defined as metacentric, acrocentric, submetacentric and subtelocentric. The constitutive heterochromatin distribution was determined by using techniques from Summer (1972). From each specimen, 10 to 20 slides were prepared and at minimum of 10 well-spread metaphase plates were analysed. Karyotype slides and chromosome-fixative solution, which did not undergo diffusion procedure, are being kept at Ondokuz Mayıs University Cytogenetic Laboratory under -20 degrees for future studies.

RESULT

Karyotype is $2n=54$ and NFa=52 in Tokat samples of *M. guentheri*. The karyotype has 26 pairs of acrocentric autosomal chromosome in different sizes (chromosomes no: 1-26). In sex chromosomes, X chromosome is large submetacentric. In the C-banding pattern of *M. guentheri*, positive constitutive heterochromatins are in centromere region. The X chromosome is positive C-band (Figure 1).

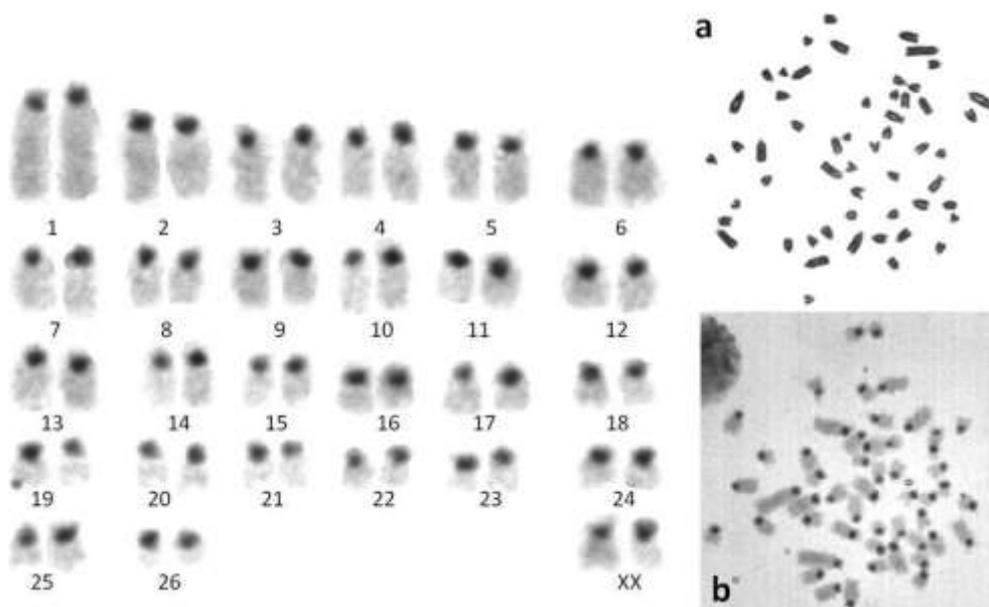


Figure 1. Metaphase plate (a) and C-banded karyotype (b) of *Microtus guentheri* (female) from Tokat (Central Anatolia)

Karyotype is $2n=46$ and $NFa=68$ in Kars sample of *M. arvalis* (*obscurus* cytotype). The karyotype has four pairs of different sizes of metacentric and submetacentric (chromosomes no: 1-4), one pair of subtelocentric (chromosome no: 5), seven pairs of small metacentric and submetacentric (chromosomes no: 6-12) and 10 pairs of different sizes of acrocentric (chromosomes no: 13-22) autosomal chromosome. The X chromosome is large metacentric and the Y chromosome is small metacentric (Figure 2).

The karyotype has positive and negative constitutive heterochromatin. While small two-armed chromosomes (chromosomes no: 6-11) have pericentromeric C- positive banding pattern, only chromosomes: 13-15-16-19-22 have pericentromeric C- positive banding pattern in acrocentric chromosomes. Sex chromosomes (X and Y) are C- band negative (Figure 3).

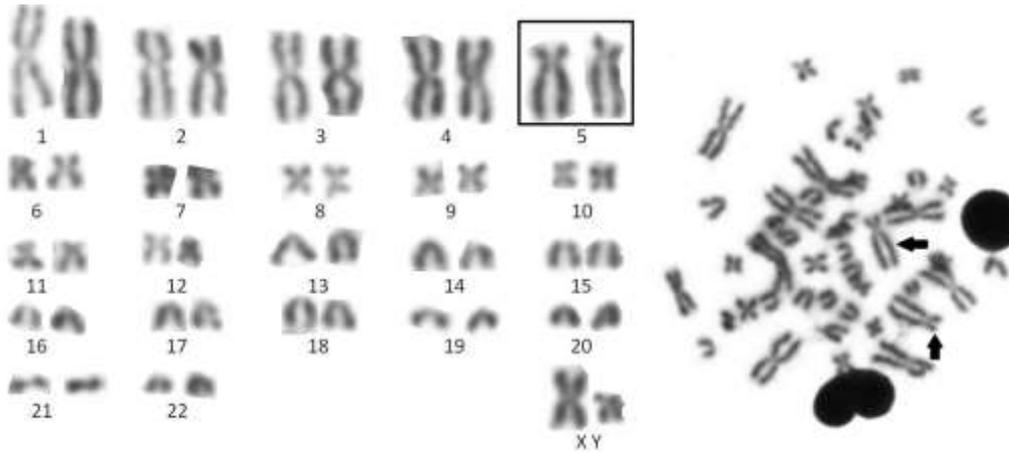


Figure 2. Conventional karyotype and metaphase plate of *M. arvalis* (*obscurus* cytotype) (male) from Kars. In box: Homomorphic subtelocentric autosomal chromosome, arrows: homomorphic subtelocentric chromosome

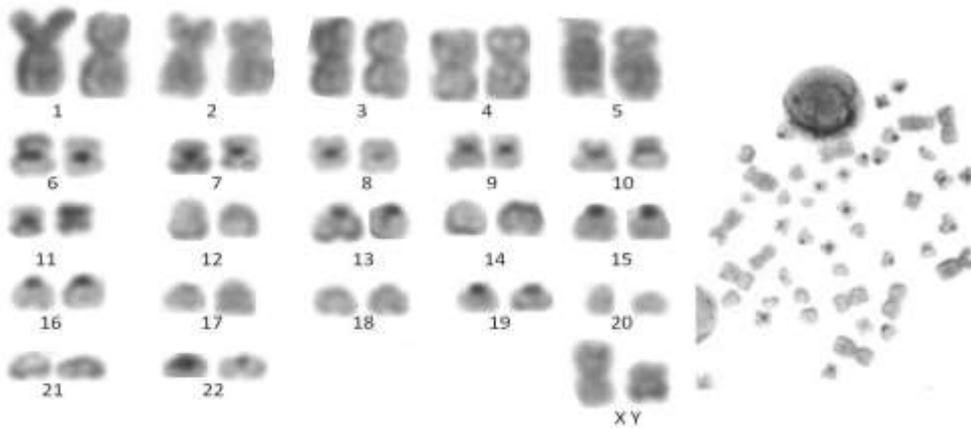


Figure 3. C-banded karyotype and metaphase plate of *M. arvalis* (*obscurus* cytotype)

In *Microtus majori* Artvin samples, the karyotype is $2n=54$, $NFa=56$. While X chromosome is large submetacentric, Y chromosome is acrocentric (Figure 4). The karyotype has two pairs of submetacentric (chromosomes no: 1-2) and 24 pairs of acrocentric autosomal chromosome (chromosomes no: 3-26). The karyotype has positive (chromosomes no: 2, 3, 4, 8, 20, 22, 25) and negative C- banding pattern (Figure 4). The long arm of the X chromosome has heterochromatin block enlarged from centromere to telomere. The Y chromosome is completely heterochromatin (Figure 4).

DISCUSSION

Microtus guentheri karyotype ($2n=54$) was found to be compatible in similar with the studies conducted in the Anatolia and neighbouring regions (Kefelioğlu, 1995; Baydemir et al., 2011; Zima et al., 2013). *M. guentheri* shows variations in terms of sex chromosome morphology (X=acrocentric, metacentric, submetacentric, subtelocentric). X chromosome is metacentric in studies conducted in South Anatolia (Çolak et al., 1997a) and in various regions of Anatolia

(Kefelioğlu, 1995; Yiğit and Çolak, 2002); acrocentric in studies conducted in Central and Southern Anatolia (Çolak et al., 1998; Baydemir et al., 2011); submetacentric in studies conducted in Central Anatolia (Baydemir et al., 2011); and subtelocentric in Southern Anatolia and Syria population (Zima et al., 2013) and the present study (central Anatolia). Constitutive heterochromatin distribution is homomorphic and pericentromeric in autosomal chromosomes (O'Brien, 2006; Baydemir et al., 2011;

Zima et al., 2013; in this study). In Harput (Southern Anatolia) samples, while the short arm of the X chromosome consists of completely heterochromatin block (Zima et al., 2013), constitutive heterochromatin is in the pericentromeric region of subtelocentric or submetacentric X chromosome in Central Anatolia sample (Nevşehir samples, Baydemir et al., 2011; Konya samples, Zima et al., 2013; Tokat samples in the present study).

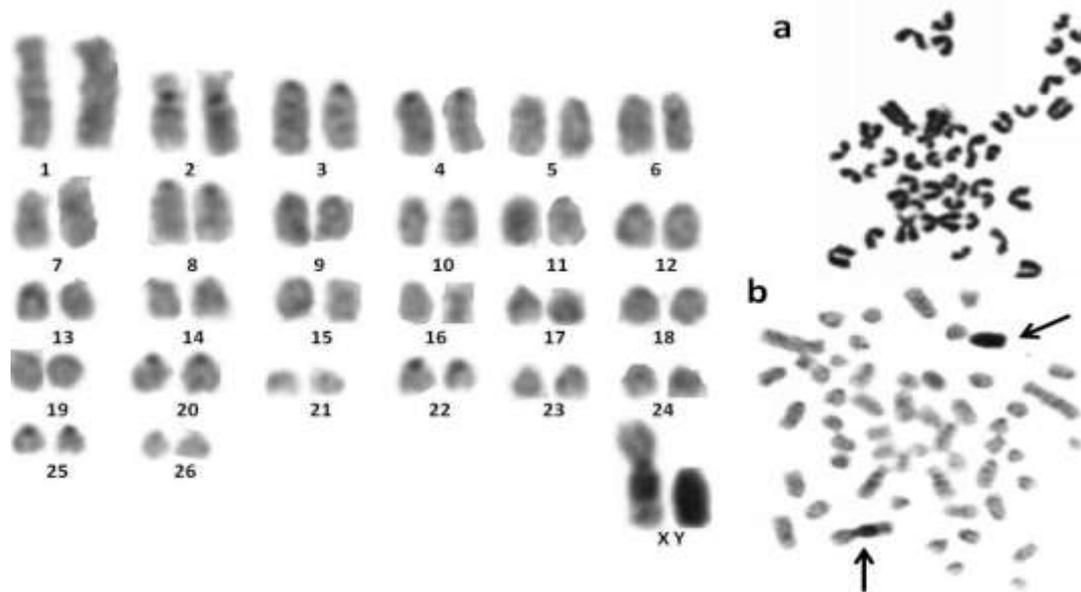


Figure 4. Metaphase plate (a) and C-banded karyotype (b) of *Microtus majori* (male) from Artvin (Northeast Anatolia, Caucasia region). Arrows: X and Y chromosome

In terms of *M. arvalis* (*obscurus* cytotype) diploid chromosome number, this study was similar to previously conducted (Zima and Král, 1984; Kefelioğlu, 1995; Yorulmaz et al., 2013) studies. However, due to pericentric inversion, NFA number can differ (Gileva and Rakitin, 2006; Baskevich et al., 2016). Due to pericentric inversion, there may be one pair of the heteromorphic chromosome (subtelocentric and acrocentric) in autosomal chromosome set of *obscurus* cytotype (Gileva and Rakitin, 2006; Yorulmaz et al., 2013; Baskevich et al., 2016). In this study, (chromosome no: 5) and in Kefelioğlu (1995)'s study conducted in Turkish populations, heterozygote chromosome was not found in the obtained autosomal chromosome set. However, Heteromorphic chromosome was found in the Artvin (Turkey) sample (Yorulmaz et al., 2013). While X chromosome is metacentric in *obscurus* cytotype (Zima and Král, 1984; Kozlovskii et al., 1988; Kefelioğlu 1995; Tougard et al., 2013; Yorulmaz et al., 2013; Baskevich et al., 2016), variations can be seen in the centromere position of Y chromosome (Baskevich, 1996). While Y chromosome was found to be acrocentric in a study conducted in Turkey by Kefelioğlu (1995) and in Chinese by Tougard et al., (2013), it is metacentric in

the present study. Constitutive heterochromatin distribution generally shows negative C- banding pattern in autosomal chromosomes and this is similar to a study conducted by Yorulmaz et al., (2013) from Turkey. In addition, X chromosome has negative C- banding pattern in our study.

Microtus majori diploid chromosome number and sex chromosome morphology was similar in the studies conducted previously in Turkey and Caucasia (Zima and Král, 1984; Macholan et al., 2001; O'Brien, 2006; Kuliev and Bickham, 2010; Arslan and Zima, 2014; Baskevich et al., 2015). As an exception to this result, in studies conducted by Çolak et al., (1997b) on samples of *M. majori* species, X chromosome was reported to be subtelocentric. While constitutive heterochromatin distribution is obscurely C- positive banded in autosomal chromosomes, autosomal chromosomes are generally C- negative banded. A similar result was found in a study conducted by Kuliev and Bickham (2010) on the Greater Caucasus Mountains and Lesser Caucasus Mountains. Autosomal chromosome set generally shows C- band negative characteristic (Kuliev and Bickham, 2010; in this study). A wide heterochromatin block extending down the centromere from the long arm of the X

chromosome is similar to samples obtained from Greater Caucasus Mountains by Kuliev and Bickham (2010) and samples obtained by Macholan et al., (2001) from Turkey. However, in samples obtained from Lesser Caucasus Mountains, there was not a wide heterochromatin block in the long arm of the X chromosome (Kuliev and Bickham, 2010). The Y chromosome consists of completely heterochromatin block in both Caucasian and Turkish population (Macholan et al., 2001; Kuliev and Bickham, 2010; in this study).

ACKNOWLEDGEMENT

This study was conducted after permission was obtained from the Ondokuz Mayıs University Local Ethics Committee for Animal Experiments (permission number: B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04-56). The wild animals used in the study were obtained within the scope of 'National Biological Variation Inventory and Monitoring Project (UBENIS)' conducted by the Ministry of Forestry and Water Management. We would like to thank the employees in the Ministry of Forestry and Water Management Kars branch Office for their contribution in the field studies.

REFERENCES

- Arslan A, Zima J 2014. Karyotypes of the mammals of Turkey and neighbouring regions: review. *Folia Zoologica* 63: 1-62.
- Arslan A, Toyran K, Gözütok S, Yorulmaz Y, Zima J 2016. Comparison of the chromosome banding patterns in three species of social voles (*Microtus irani karamani*, *M. schidlovskii*, *M. anatolicus*) from Turkey. *Turkish journal of Zoology*, 40: 910-916.
- Baskevich MI 1996. On the karyological differentiation in Caucasian populations of common vole (Rodentia, Cricetidae, *Microtus*). *Zoologicheskii zhurnal*. 75: 297-308. (in Russian with English summary).
- Baskevich MI, Potapov SG, Khlyap LA, Okulova NM, Ashibokov UM, Grigoriev MP, Dzagurova TK 2015. Chromosomal and molecular investigations of cryptic species of the subgenus *Terricola* (Rodentia, Arvicolinae, *Microtus*) in the Caucasian region: Analysis of new records. *Zoologicheskii zhurnal*. 94 (8): 963-971.
- Baskevich MI, Mironova TA, Cherepanova EV, Krivonogov DM 2016. New Data on Chromosomal Variability, Distribution of Sibling Species, and Hybridization of 46-Chromosomal Forms of *Microtus arvalis* sensu lato (Rodentia, Arvicolinae) in the Upper Volga Basin. *Biology Bulletin*, 43 (9): 1281-1291.
- Baydemir AN, Albayrak I, Gözütok S 2011. Cytogenetic study on *Microtus guentheri* (Danford & Alston, 1880) (Mammalia: Rodentia) from Turkey: constitutive heterochromatin distribution and nucleolar organizer regions. *Folia Biologica (Kraków)*, 59: 35-40.
- Çolak E, Yiğit N, Sözen M, Özkurt Ş 1997a. Distribution and taxonomic status of the genus *Microtus* (Mammalia: Rodentia) in Southeastern Turkey. *Israel Journal of Zoology*, 43: 391-396.
- Çolak E, Yiğit N, Sözen M, Özkurt Ş 1997b. A study on taxonomic status of *Microtus subterraneus* (de Selys Longchamps, 1836) and *Microtus majori* Thomas, 1906 (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 22: 119-129 (in Turkish with English summary).
- Çolak E, Sözen M, Yiğit N, Özkurt Ş 1998. A study on ecology and biology of *Microtus guentheri* Danford and Alston, 1880 (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 22: 289-295.
- Demirtaş S, Gürler AT 2019. New records of the Iranian Vole, *Microtus irani* Thomas, 1921, from eastern Turkey (Mammalia: Rodentia). *Zoology in the Middle East*, 65: 91-94.
- Ford CE, Hamerton JL 1956. 'A colchicine-hypotonic-citrate' squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain Technology*, 31: 247-251.
- Gileva EA, Rakitin SB 2006. Factors of Maintaining Chromosome Polymorphism in Common Vole *Microtus arvalis* Pallas, 1779: Reduced Fertility and Meiotic Drive. *Russian Journal of Genetics*, 42 (5): 498-504.
- Jaarola M, Martínková N, Gündüz I, Brunhoff C, Zima J, Nadachowski A, Amori G, Bulatova NS, Chondropoulos B, Fragedakis-Tsolis S, González-Esteban J, López-Fuster MJ, Kandaurov AS, Kefelioğlu H, Mathias ML, Villate I, Searle JB 2004. Molecular phylogeny of the speciose vole genus *Microtus* (Arvicolinae, Rodentia) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33: 647-663.
- Kefelioğlu H 1995. The taxonomy of the genus of *Microtus* (Mammalia: Rodentia) and its distribution in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 19: 35-63. (in Turkish with English summary).
- Kefelioğlu H, Kryštufek B 1999. The taxonomy of *Microtus socialis* group (Rodentia: Microtinae) in Turkey, with the description of a new species. *Journal of Natural History*, 33: 47-67.
- Kozlovskii AI, Bulatova NS, Novikov AD 1988. Double effect of an inversion in the karyotype of common vole. *Doklady AN SSSR* 298: 994-997 (in Russian).
- Kryštufek B, Vohralik V 2005. *Mammals of Turkey and Cyprus*. Rodentia I: Sciuridae, Dipodidae, Gliridae, Arvicolinae. *Založba Annales, Koper, Slovenia*, 292 pp.
- Kryštufek B, Zorenko T, Buzan VE 2012. New insights into the taxonomy and phylogeny of social voles inferred from mitochondrial cytochrome *b* sequences. *Mammalian Biology*, 77: 178-182.
- Kuliev G, Bickham J 2010. Karyological Relationships and Biodiversity of the Pine Voles of Azerbaijan:

- Differentiation of Species from the Greater and Lesser Caucasus Mountains. Occasional Papers, Museum of Texas Tech University, 291 pp.
- Lemskaya NA, Romanenko SA, Golenishchev FN, Rubtsova NV, Sablina OV, Serdukova NA., O'Brien PCM, Fu B, Yiğit N, Ferguson-Smith MA, Yang F, Graphodatsky AS 2010. Chromosomal evolution of Arvicolinae (Cricetidae, Rodentia). III. Karyotype relationships of ten *Microtus* species. Chromosome Research, 18: 459–471.
- Macholán M, Filippucci MG, Zima J 2001. Genetic variation and zoogeography of pine voles of the *Microtus subterraneus* / *majori* group in Europe and Asia Minor. Journal of Zoology, London, 255: 3142.
- Meyer MN, Golenishchev FN, Radjably SI, Sablina OV 1996. Voles (subgenus *Microtus* Schrank) of Russia and adjacent territories. Proceedings of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences 232: 1–330 (in Russian).
- Modi WS 1987. Phylogenetic analyses of chromosomal banding patterns among the Nearctic Arvicolidae (Mammalia: Rodentia). Systematic Zoology, 36: 109–136.
- Musser GG, Carleton MD 1993. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. Smithsonian Institution Press, Washington, 510-756 pp.
- O'Brien SJ, Menninger JC, Nash WG 2006. Atlas of mammalian chromosomes. Wiley, Hoboken, 714 pp.
- Selçuk AY, Kefelioğlu H 2018. Cytogenetic characteristic of East European vole *Microtus levis* and common pine vole *Microtus subterraneus* (Mammalia: Rodentia) from Turkey: Constitutive Heterochromatin Distribution. Biharean Biologist, 12: 13-16.
- Shenbrot GI, Krasnov BR 2005. Atlas of the Geographic Distribution of the Arvicoline Rodents of the World (Rodentia, Muridae: Arvicolinae), Sofia: Pensoft.
- Summer AT 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Experimental Cell Research, 75: 304-306.
- Tougard C, Montuire S, Volobouev V, Markova E, Contet J, Aniskin V, Quere J 2013. Exploring phylogeography and species limits in the Altai vole (Rodentia: Cricetidae). Biological Journal of the Linnean Society, 108: 434–452.
- Yiğit N, Çolak E 2002. On the distribution and taxonomic status of *Microtus guentheri* (Danford and Alston, 1880) and *Microtus lydius* Blackler, 1916 (Mammalia: Rodentia) in Turkey. Turkish Journal Zoology, 26: 197-204.
- Yorulmaz T, Zima J, Arslan A, Kankılıç T 2013. Variations in the C-heterochromatin and AgNOR distribution in the common vole (*Microtus arvalis* sensu lato) (Mammalia: Rodentia). Archives of Biological Sciences, Belgrade, 65: 989–995.
- Zagorodnyuk IV 1990. Variability and systematics of the Arvicolini (Rodentia). Communication 1. Species and chromosomal numbers. Vestnik Zoologii, 2: 26-37.
- Zima J, Král B 1984. Karyotypes of European mammals I. Institute of Landscape Ecology, 18 (7): 1–51.
- Zima J, Arslan A, Benda P, Macholán M, Kryštufek B 2013. Chromosomal variation in social voles: a Robertsonian fusion in the Günther's vole. Acta Theriologica, 58: 255–266.

Determination of The Potential Use of Exopolysaccharide-Producing *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in Yogurt

Ayşe Esin KILINÇ², Yekta GEZGİNÇ^{1*}

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 46050, Kahramanmaraş,

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 46050,

¹<https://orcid.org/0000-0002-9358-4708>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3230-2850>

✉: yekgan@ksu.edu.tr

ABSTRACT

In this study exopolysaccharide production quantities of 88 *Streptococcus thermophilus* and 28 *Lactobacillus bulgaricus* bacteria were investigated. Chemical, physical and sensory properties of yogurt in which added the combination of the highest and the lowest exopolysaccharide producing bacteria were determined. In all 9 yogurt samples titration acidity, pH, acetaldehyde and lactate production, serum separation, viscosity and sensory evaluation results were investigated. In the yogurt samples examined, acidity in terms of lactic acid (%), pH, acetaldehyde, lactate, syneresis and viscosity values were found in the range of 0.63-1.055 %, 3.82-4.46, 20.45- 33.63 mg kg⁻¹, 50.41-144.56 mg kg⁻¹ 9.3-10.6 mL, 5339-9280 cP, respectively. Sensory properties of yogurts produced with the highest exopolysaccharide producing bacteria combination were most preferred by the panel group.

Research Article

Article History

Received : 16.05.2019

Accepted : 21.08.2019

Keywords

Yogurt

Streptococcus thermophilus

Lactobacillus bulgaricus

Exopolysaccharide

Ekzopolisakkarit Üreten *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 'ların Yoğurtta Kullanım Potansiyelinin Belirlenmesi

ÖZET

Bu çalışmada 88 adet *Streptococcus thermophilus* ve 28 adet *Lactobacillus bulgaricus* bakterilerinin ekzopolisakkarit üretim miktarları araştırılmıştır. En yüksek ve en düşük ekzopolisakkarit üreten bakteri kombinasyonları kullanılmış ve elde edilen yoğurtların kimyasal, fiziksel ve duyuşal özellikleri tespit edilmiştir. Üretilen 9 yoğurt örneğinde titre edilebilir asitlik, pH, metabolit üretimi, serum ayrılması, viskozite ve duyuşal değerlendirme sonuçları incelenmiştir. Yoğurt örneklerinde laktik asit cinsinden asitlik değeri, pH, asetaldehit, laktik asit, serum ayrılması ve viskozite değerleri sırasıyla % 0.63-1.055, 3.82-4.46, 20.45- 33.63 mg kg⁻¹, 50.41-144.56 mg kg⁻¹, 9.3-10.6 mL, 5339-9280 cP değerleri arasında bulunmuştur. En yüksek ekzopolisakkarit üreten bakteri kombinasyonları ile üretilen yoğurtların duyuşal özelliklerinin panelistler tarafından daha çok beğenildiği saptanmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 16.05.2019

Kabul Tarihi : 21.08.2019

Anahtar Kelimeler

St. thermophilus

Lb. bulgaricus

Yogurt

Ekzopolisakkarit

To Cite : Kılınç AE, Gezginç Y 2019. Determination of The Potential Use of Exopolysaccharide-Producing *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in Yogurt. KSU J. Agric Nat. 22 (Suppl 2): 401-408. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.566373

INTRODUCTION

One of the most known of the fermented foods is yogurt. Yogurt is identified as a coagulated milk product that results from the fermentation of lactic acid in milk by *Lactobacillus bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*) and *Streptococcus thermophilus* (*St. thermophilus*) (Bourlioux and Pochart, 1988). In milk medium lactic acid bacteria (LAB) as starter cultures exhibit symbiotic relations during their growth for

yogurt production. So, well-selected mixture of LAB species is used to complete each other and to achieve a considerable efficiency in acid production (Chandan and Shahani, 1993). Yogurt starter cultures have a remarkable impact on smooth texture, relevant viscosity, acceptable flavor and low post fermentation acidity of the milk product (Cheng, 2010).

Some LAB secrete a polysaccharide polymer. This extracellular polysaccharide, or exopolysaccharide

(EPS) is economically important because it can impart functional effects to foods and confer beneficial health effects (Welman and Maddox, 2003). In some countries, EPS plays a vital role in the production of fermented dairy products (Duboc and Mollet, 2001). EPSs from LAB have found their most precious application in the improvement of the texture, rheology and mouthfeel of fermented milk products, such as yogurt. The yogurt cultures producing EPS may reduce the extent of syneresis that considered as a major defect in yogurt (Güzel-Seydim et al., 2005).

There is a high consumer request for smooth and creamy yogurt products, which is typically met by increasing the content of fat, sugar, proteins or stabilizers. Consumer request for products with low fat or sugar content and low levels of additives, as well as cost factors, make EPSs a suitable alternative (Jolly et al., 2002). Although having no taste of their own, EPSs from LAB increase the time the milk product spends in the mouth, and hence impart an enhanced perception of taste (Duboc and Mollet, 2001). An additional hypothesized physiological benefit is that EPSs will remain for longer in the gastrointestinal tract, thus enhancing colonization by probiotic bacteria (German et al., 1999). In addition, LAB EPSs have been asserted to have antitumor effects (Kitazawa et al., 1998), immunostimulatory activity (Hosono et al., 1997, Chabot et al., 2001) and to lower blood cholesterol (Nakajima et al., 1992).

In these days, a great importance is given to use of EPS-producing LAB in the production of fermented dairy products. Because of this importance, a study has been planned and potential use of exopolysaccharide-producing LAB in yogurt has been investigated. For this purpose, EPS production quantities of *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* strains were found and the combinations of the highest and the lowest EPS-producing bacteria were used for yogurt production. The yogurts were compared in terms of titration acidity, pH, acetaldehyde and lactate production, serum separation, viscosity and sensory evaluation.

MATERIAL and METHODS

Bacterial strains used in this study were listed in Table 1. UHT whole milk was used for production of yogurt.

Growth of Bacterial Strains

Control strains of *St. thermophilus* NIZO 130 and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* LB 340 LYO 2 DCU were obtained from Netherlands Institute for Dairy Research and Danisco. Isolates of *St. thermophilus* and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* were provided from Kahramanmaraş Sutcu Imam University Food Engineering Laboratory -80 °C Culture Collection. *St. thermophilus* strains were cultured in M17 medium

added with 1 % (w/v) sucrose (SM17 medium) at 42 °C whereas *Lb. bulgaricus* strains were grown on de Man-Rogosa and Sharpe broth (MRS) at 37 °C.

Table 1. Bacterial strains and combinations used for yogurt production

Strains	Combinations
BioStr 33	BioStr 33-BioLb 94
BioStr 56	BioStr 33-BioLb 103
BioStr 164	BioStr 56-BioLb 94
BioStr 166	BioStr 56-BioLb 103
BioStr 132	BioStr 164-BioLb 94
NIZO130 (control)	BioStr 164-BioLb 103
BioLb 94	BioStr 166-BioLb 94
BioLb 103	BioStr 166-BioLb 103
BioLb 124	BioStr 132-BioLb 124
LB 340 LYO 2 DCU (control)	NIZO130-LB 340 LYO 2 DCU (control)

Exopolysaccharide Isolation and Quantification

Valerie et al. (1999)'s method was used for determination of EPS production quantities of *St. thermophilus* and *Lb. bulgaricus* strains. At the end of the incubation, the samples were cooled to 4 °C. 1 mL of the sample was centrifuged at 13000 rpm for 25 min by adding 85% trichloroacetic acid (TCA) (0.17 % = 1.7 µL). In order to determine EPS production quantities, Dubois et al. (1956) 's method was used. Total EPS production quantities were determined by spectrophotometric method by applying phenol sulfuric acid method using standard glucose. The optical density was measured spectrophotometrically at 490 nm. EPS quantities of samples were determined as mg L⁻¹.

Yogurt Production

UHT milk was used for yogurt production. After the milk was heated to 45 °C in a water bath, it was distributed to a sterilized glass bottle (200 mL) under aseptic conditions. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *St. thermophilus* starters were inoculated with 1 % (v/v). The starter cultures that contain NIZO130 and LB 340 LYO 2 DCU, were used as the control group. One of the *St. thermophilus* isolates was mixed with one of the *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* isolates and, thus 10 different mixed starter sets were generated. Each mixed inoculation was adequate to obtain initial counts of 10⁸ cfu mL⁻¹ and incubation times were set for 6 h to find better combination. Fermented products were cooled at 4-5 °C overnight before testing at different periods of time. Bacterial strains were selected from the highest EPS-producing (BioStr 33, BioStr 56, BioStr 164, BioStr 166, BioLb 94 and BioLb 103) and the lowest EPS-producing (BioStr 132 ve BioLb 124) strains respectively and control strains. Bacterial strains and combinations used for yogurt production are listed in Table 1.

Chemical Analysis of Yogurt

Titration acidity determination was followed by Dave and Shah (1997) and Metin and Öztürk (2002) methods; 10 g of the homogenous sample was weighed and 10 mL of distilled water at 40 °C was added. 0.5 mL of phenolphthalein indicator solution was added dropwise to the homogenized diluted yogurt and titrated with a 0.1 N NaOH solution until at least 30 sec. permanent pink color was obtained. The pH values of the yogurt samples were measured by using a microprocessor pH meter (Inolab WTW, Measurement system, FL, ABD).

The amounts of lactate and acetaldehyde produced in yogurt samples were analyzed using HPLC (Özoğul et al., 2000). Briefly, 1mL of a yogurt sample was centrifuged at 14.000 g at 4 °C for 5 min. The supernatant was filtered and placed in a fresh ependorf tube. The sample was diluted 1 fold in 0.5 % meta-phosphoric acid (Sigma-Aldrich, MO, USA) and 20 µL of the solution was injected onto the HPLC. Separation was made on a Capcell Pak 5 µM C18 MG column (150×4.6 mm).

Physical Analysis of Yogurt

The viscosity of the yoghurt samples was measured at 4 °C by a Brookfield viscometer, Model DV-III Ultra (Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, MA, USA) with an RV spindle (spindle No. 63) set at 10 rpm. All measurements were taken in triplicates and readings (cP) were taken for each sample at 30 s (Gassem and Frak, 1991). Syneresis was measured by weighing 100 g yoghurt in to a stainless-steel cylinder (50 mm ID) with a 120 mesh stainless steel screen base. The amount of whey (mL) collected after 3 h at 4 °C was taken as an index of syneresis (Modler et al., 1983).

Sensory Analysis of Yogurt

12 panelists were used in the sensory evaluation of the yogurt samples. Samples were presented to panelists and evaluated according to the taste, smell, consistency, and appearance criteria over 5 points.

Statistical Analysis

The Shapiro wilk test was used to check the normal distribution of continuous variables. Mann Whitney u test was used to compare 2 independent groups of non-normal distributions. Introductory statistics were given as mean ± SD values. SPSS for Windows version 23.0 package program was used for statistical analysis and P < 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS and DISCUSSION

Chemical Properties of Yogurt Samples

The EPS production of the 88 *St. thermophilus* and 28 *Lb. bulgaricus* strains isolated from traditional yogurt

were analysed. In Figure 1 and 2, it showed that different strains had different EPS production. In this study the highest EPS production amounts were obtained from BioStr 56 (408.74±3.17 mg L⁻¹), BioStr 166 (370.21±0.20 mg L⁻¹), BioStr 33 (365.75±8.08 mg L⁻¹), BioStr 164 (337.67±5.76 mg L⁻¹) and BioLb 94 (332.35 ±2.89 mg L⁻¹), BioLb 155 (242.83±9.63 mg L⁻¹), BioLb 159 (214.86±13.22 mg L⁻¹), BioLb 103 (213.01±3.29 mg L⁻¹) strains and the lowest EPS production amounts were obtained from BioStr 132 (38.15±8.02 mg L⁻¹) and BioLb 124 (54.72±11.71 mg L⁻¹) strains. Han et al. (2016) reported the EPS production of *St. thermophilus* strains range from 45±7 mg L⁻¹ to 384±22 mg L⁻¹. Garcia-Garibay and Marshall (1991) were determined for *Lb. bulgaricus* strains between 60 mg L⁻¹ and 150 mg L⁻¹.

Acidification capacity of a strain is the priority characteristic to select it as a yogurt starter culture. Acidity is responsible of aroma, texture and flavor of yogurt. When the acidity levels of the samples were examined, it was observed that the acidity levels of the samples produced with the high amount EPS-producing strains were higher than the samples produced with the low amount EPS-producing strains. The acidity (%) values of the yogurt samples produced using the highest and lowest EPS producing strains and control strains are given in Table 2. The highest acidity value was found in the yogurt produced with Str164-Lb94 combination (1.05±0.02 %) and the lowest acidity value was found in the yogurt produced with Str132-Lb124 combination (0.63 ±0.00 %). The acidity value in the yogurt produced by the control culture was 0.91±0.02 %. In the statistical analyzes, it was determined that the effect of all strains on acidity was significant (p < 0.05). The titratable acidity (%) values of the obtained yogurt samples were between 0.63 ± 0.00 % - 1.05 ± 0.02 %. According to Turkish Standards Institution method (Anonymus, 1999), it is stated that the degree of acidity that should be in yogurt should not be less than 0.8 % and not more than 1.6% by mass of lactic acid type. Güzel-Seydim et al. (2005) reported the degree of acidity between 0.7 % and 0.78 %. The pH values of the yogurt samples produced using the highest and lowest EPS producing strains and control strains are given in Table 2. The highest pH value was found in the yogurt produced by the combination of Str132-Lb124 (4.46±0.03) and the lowest pH value was found in the yogurt produced by the combination of Str164-Lb94 (3.82±0.05). The pH value of the yogurt produced by the control culture was 4.20±0.02. When the pH values of the samples were examined, it was found that the pH values of the samples produced with the highest number of EPS-producing strains were lower than the samples produced with the lowest number of EPS-producing strains. In the statistical analyzes, it was determined that the effect of all strains on pH was significant (p < 0.05).

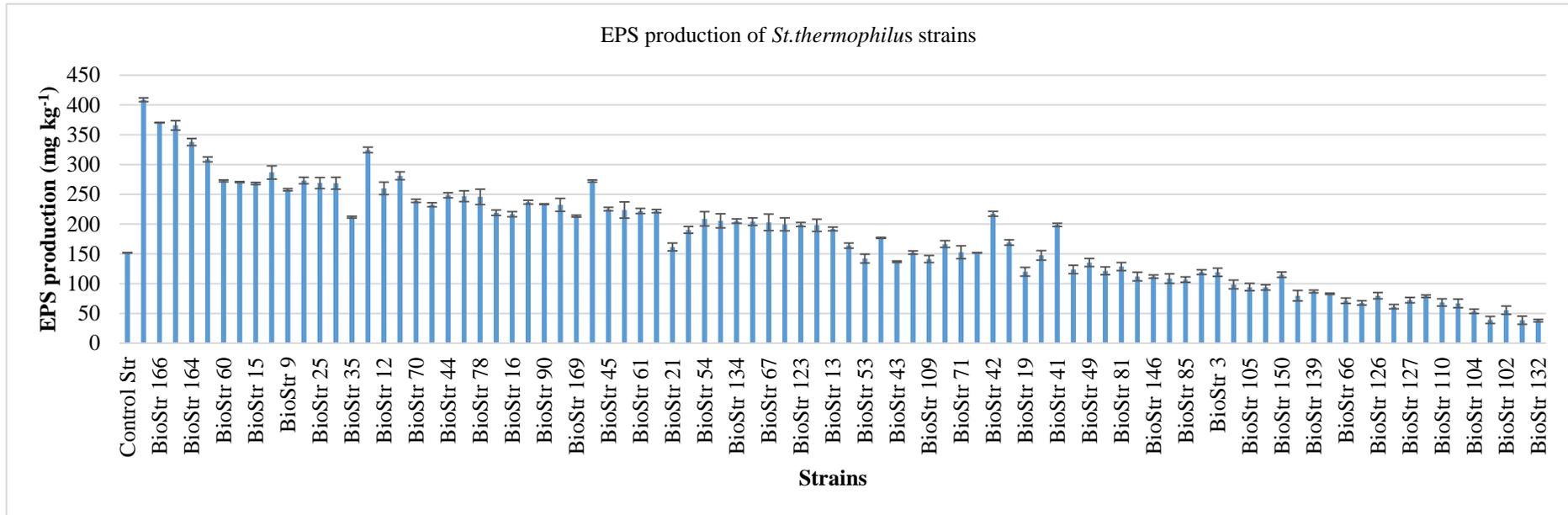


Figure 1. EPS production of *St.thermophilus* strains

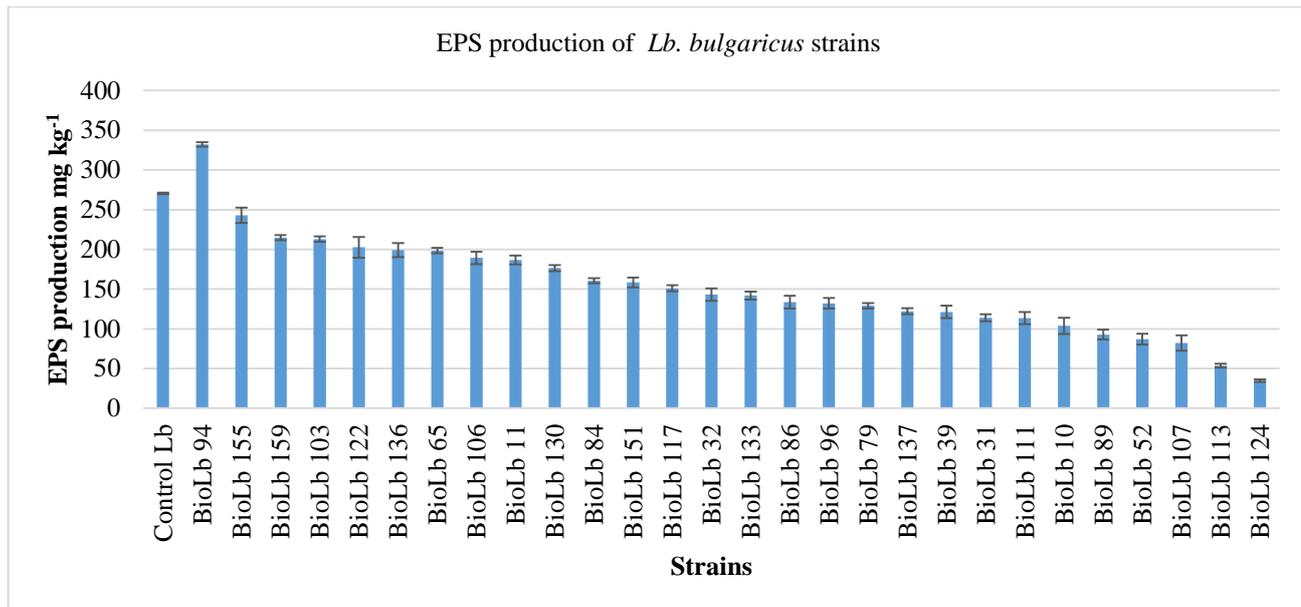


Figure 2. EPS production of *Lb. bulgaricus* strains

Table 2. Acidity (%) and pH values of yogurts produced with different combinations*

Strain combinations	Acidity (%)	pH
Str 33-Lb94	0.72±0.01 ^c	4.34±0.02 ^{bc}
Str33-Lb103	0.69±0.05 ^{cd}	4.38±0.02 ^{abc}
Str56-Lb94	0.88±0.03 ^b	3.89±0.02 ^{ef}
Str56-Lb103	0.65±0.01 ^d	4.41±0.00 ^{ab}
Str164-Lb94	1.05±0.02 ^a	3.82±0.05 ^f
Str164-Lb103	0.66±0.01 ^{cd}	4.33±0.01 ^{bc}
Str166-Lb94	0.99±0.06 ^a	3.92±0.02 ^e
Str166-Lb103	0.67±0.01 ^{cd}	4.30±0.06 ^c
Str132-Lb124	0.63±0.00 ^d	4.46±0.03 ^a
Control	0.91±0.02 ^b	4.20±0.02 ^d

*Different letters within each column are significant at $P < 0.05$

The pH values of the obtained yogurt samples were between 3.82±0.05-4.46±0.03. Measurement of pH presents a critical quality control step in the production of yogurt. Yogurt samples obtained with high amounts of EPS-producing bacterial combinations have low pH values from yogurt sample obtained with low amount of EPS-producing bacteria combination. The pH changes in commercial yogurt samples in western countries range between 3.8 and 4.0 (Birolo et al., 2000). The pH values varied within the range are generally considered as “acceptable” for yogurt. However, in Turkey, most consumers find yogurts with the pH between 4.8 to 5.2 more desirable (Dede et al., 2004). Furthermore, different commercial brands may have been produced by different starter cultures, which may have different acidification properties.

The acetaldehyde and lactic acid (lactate) values of yogurt samples produced using the highest and lowest EPS producing strains and control strains are given in Table 3. The acetaldehyde values of the obtained

yogurt samples were between 20.45±0.50 mg kg⁻¹ – 33.63±0.69 mg kg⁻¹. The basic aroma substance for the characteristic yogurt flavor is acetaldehyde. The highest acetaldehyde values were found in the yogurts produced with the combinations of Str33-Lb94 and Str56-Lb94 (33.63±0.69 mg kg⁻¹, 33.22±1.30 mg kg⁻¹) and the lowest acetaldehyde value was found in the yogurt produced with the combination of Str132-Lb124 (20.45±0.50 mg kg⁻¹). The acetaldehyde level in the yogurt produced by the control was 25.33±0.42 mg kg⁻¹. In the statistical analyzes, it was determined that the effect of all strains on acetaldehyde level was significant ($p < 0,05$). Acetaldehyde, the component that is responsible of fresh, fruity, pungent taste of yogurt, is produced by starter cultures from lactose and/or due to the formation of acetyl coenzyme A (Chaves et al., 2002). It has been accepted that the amount of acetaldehyde should be among 23 and 40 mg kg⁻¹ of yogurt for a desirable aroma (Cheng, 2010). In fact, the values were generally lower than expected for a mixed starter culture (2.0 and 41.0 mg kg⁻¹) even on the first day of the storage (Routray and Mishra, 2011).

Table 3. Lactate and Acetaldehyde values of yogurts produced with different combinations (mg kg⁻¹)*

Strain combinations	Lactate (mg kg ⁻¹)	Acetaldehyde (mg kg ⁻¹)
Str 33-Lb94	127.64±0.82 ^b	33.63±0.69 ^a
Str33-Lb103	144.56±5.62 ^a	23.61±1.28 ^{bc}
Str56-Lb94	126.88±4.26 ^b	33.22±1.30 ^a
Str56-Lb103	65.40±5.40 ^{def}	21.09±1.00 ^e
Str164-Lb94	60.66±4.32 ^{ef}	22.19±0.72 ^{de}
Str164-Lb103	78.45±7.55 ^{bc}	23.89±0.56 ^{bc}
Str166-Lb94	80.14±6.21 ^{bc}	20.96±0.64 ^e
Str166-Lb103	71.11±5.04 ^{de}	29.08±0.83 ^b
Str132-Lb124	50.41±4.31 ^f	20.45±0.50 ^e
Control	90.44±7.42 ^c	25.33±0.42 ^c

*Different letters within each column are significant at $P < 0.05$

Lactate, which is extremely important in the yogurt aroma, allows the yogurt to acquire acidic, sharp, pleasing taste. During fermentation of milk into yogurt, pyruvate is produced from glucose through Embden-Meyerhoff Pathway (EMP) and it is transformed to lactic acid by lactate dehydrogenase enzyme (Yildiz, 2010). Lactic acid production plays a specific role in the aroma and flavor properties of yogurt. The primary function of lactic acid cultures used in yogurt manufacture is to produce lactic acid required for the formation of the coagulum. Around 20-40% of lactose present in milk is converted into lactic acid during yogurt fermentation process and the content of lactic acid in yogurt reaches up to 0.9 % (Tamime and Robinson, 2007).

The combinations of the strains were found to produce different amounts of lactic acid and these differences were statistically significant ($P < 0.05$) compared to the control. Analyses made for each yogurt sample revealed that the maximum amount of lactic acid was generated by Str33-Lb103 combination (144.56±6.62 mg kg⁻¹), while the minimum accumulation value was measured in Str132-Lb124 (50.41±4.31 mg kg⁻¹) at the initiation. Lactic acid contents of the samples in control group, on the other hand, were determined to 90.44±7.42 mg kg⁻¹ (Table 3). Although lactic acid producing capacity is one of the most important factors to be evaluated for a starter culture to be used in a well-flavored yogurt production, it is also known that not only the amount but also the ratio of D(-)/L(+) isomers are needed to be considered in order to make a reasonable judgement about its contribution to the taste (Gezginc et al, 2015). Knowing that we did not perform such a separation in terms of lactic acid isomers, it is not feasible for us to make a conclusion on this regard.

Physical Properties of Yogurt Samples

Syneresis is an important factor effecting the acceptance of yogurts by consumers. Syneresis is

obtained by measuring the quantity of liquid separated from yogurt as a function of time. Syneresis values of the yogurt samples produced using the highest and lowest EPS producing strains and control strains are given in Table 4. The highest serum separation value was found in the yogurt produced with Str132-Lb124 combination (10.6 ± 0.2 mL) and the lowest serum separation value was found in the yogurt produced with Str33-Lb94 combination (9.3 ± 0.1 mL). Syneresis value in yogurt produced with control culture was found 10.25 ± 0.14 mL. When the syneresis values of the samples were examined, it was found that the syneresis values of the samples produced with the highest amounts of EPS-producing strains were lower than the samples produced with the lowest amount of EPS-producing strains. In the statistical analyzes, it was determined that the effect of all strains on syneresis value was significant ($p < 0.05$).

The syneresis values of the obtained yogurt samples were between 9.30±0.10 mL- 10.60±0.20 mL. Syneresis or otherwise, water release is a common flaw in yogurt and an important quality criterion. Yogurt samples obtained with high amounts of EPS-producing bacterial combinations have low syneresis values from yogurt sample obtained with low amount of EPS-producing bacteria combination. Amatayakul et al., 2005, reported that yogurt samples obtained with EPS-producing bacterial combinations have low syneresis values from yogurt sample obtained with non EPS-producing bacteria combination.

Table 4. Syneresis (mL) and viscosity (cP) values of yogurts produced with different combinations*

Strain combinations	Syneresis (mL)	Viscosity (cP)
Str 33-Lb94	9.30±0.10 ^c	9280±350 ^a
Str33-Lb103	9.75±0.05 ^b	7485±405 ^{bc}
Str56-Lb94	9.75±0.15 ^b	8350±250 ^a
Str56-Lb103	9.40±0.10 ^{bc}	8411±409 ^{ab}
Str164-Lb94	9.40±0.20 ^{bc}	8770±530 ^{ab}
Str164-Lb103	9.35±0.15 ^{bc}	8727±476 ^{ab}
Str166-Lb94	9.65±0.15 ^{bc}	7585±150 ^b
Str166-Lb103	9.70±0.10 ^{bc}	8496±554 ^{ab}
Str132-Lb124	10.60± 0.20 ^a	5339±132 ^d
Control	10.25±0.14 ^a	6470±135 ^c

*Different letters within each column are significant at $P < 0.05$

The viscosity values of the yogurt samples produced using the highest and lowest EPS producing strains and control strains are given in Table 4. The highest viscosity value was found in the yogurt produced with the Str33-Lb94 combination (9280±350 cP) and the lowest viscosity value was found in the yogurt produced with the Str132-Lb124 combination (5339±132 cP). The viscosity value of the yogurt produced with the control culture was 6470.50±13.50

cP. When the viscosity values of the samples were examined, it was found that the viscosity values of the samples produced with the highest amounts of EPS-producing strains were higher than the samples produced with the lowest amount of EPS-producing strains. In the statistical analyzes, it was determined that the effect of all strains on the viscosity values was significant ($p < 0.05$).

The viscosity values of the obtained yogurt samples were between 5339 ± 132 cP - 9280 ± 350 cP. Yogurt samples obtained with high amounts of EPS-producing bacterial combinations have high viscosity values from yogurt sample obtained with low amount of EPS-producing bacteria combination.

Sensory Properties of Yogurt Samples

Sensory properties of yogurt have an important effect on consumer acceptability. A good yogurt must have an unique light sour taste, a unique acidic odor. It should have a bright and homogeneous appearance, should not be in dirty color, should not be observed in serum separation. In our study, the sensory properties of the yogurt samples produced with high amounts of EPS-producing bacterial combinations were more appreciated by the panelists in terms of taste, odor, consistency and appearance.

Sensory values of the yogurt samples produced using the highest and lowest EPS producing strains and control strains are given in Table 5. The highest taste score was found in the yogurt produced with the Str56-Lb94 combination (5.00 ± 0.00) and the lowest taste

score was found in the yogurt produced with the Str132-Lb124 combination (3.50 ± 0.00). The highest odor score was found in the yogurts produced with the combinations of Str33-Lb94, Str56-Lb94 and Str164-Lb103 (4.50 ± 0.00 , 4.50 ± 0.00 , 4.50 ± 0.00) and the lowest odor score was found in the yogurt produced with the Str132-Lb124 combination (3.75 ± 0.25). The highest consistency score was found in the yogurts produced with combinations of Str33-Lb94, Str56-Lb94 and Str164-Lb103 (4.75 ± 0.25 , 4.75 ± 0.25 , 4.75 ± 0.25) and the lowest consistency score was found in the yogurt produced with the Str132-Lb124 combination (3.25 ± 0.25). The highest appearance score was found in the yogurt produced with the combinations of Str33-Lb94 and Str164-Lb94 (5 ± 0.00 , 5 ± 0.00) and the lowest appearance score was found in the yogurt produced with the Str132-Lb124 combination (4 ± 0.00). The taste, smell, consistency and appearance scores of the yogurt produced by the control culture were 4.50 ± 0.50 , 4.00 ± 0.50 , 4.50 ± 0.00 and 4.50 ± 0.00 . When the taste, odor, consistency, and appearance scores of the samples were examined, it was seen that the scores of the samples produced with the highest number of EPS-producing strains were higher than the scores of the samples produced with the lowest number of EPS-producing strains. In the statistical analyzes, it was determined that the effect of all strains on taste, consistency and appearance was significant ($p < 0.05$). In a previous study reported by Gürsoy et al., 2010, it was stated that sensory evaluation in yogurt (treatment D) ranged from 3.46 to 5.00.

Table 6. Sensory analysis values of yogurts produced with different combinations

Strain combinations	Taste	Odor	Consistency	Appearance	Total
Str 33-Lb94	4.75 ± 0.25	4.50 ± 0.00	4.75 ± 0.25	5.00 ± 0.00	19.00 ± 0.00
Str33-Lb103	4.50 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.25 ± 0.25	4.50 ± 0.00	17.25 ± 0.25
Str56-Lb94	5.00 ± 0.00	4.50 ± 0.00	4.75 ± 0.25	4.75 ± 0.25	19.00 ± 0.50
Str56-Lb103	4.50 ± 0.00	4.00 ± 0.50	4.50 ± 0.00	4.50 ± 0.00	17.50 ± 0.50
Str164-Lb94	4.75 ± 0.25	4.25 ± 0.25	5.00 ± 0.00	5.00 ± 0.00	19.00 ± 0.00
Str164-Lb103	4.50 ± 0.50	4.50 ± 0.00	4.75 ± 0.25	4.75 ± 0.25	18.50 ± 1.00
Str166-Lb94	4.50 ± 0.50	4.25 ± 0.50	4.50 ± 0.00	4.50 ± 0.00	17.75 ± 0.75
Str166-Lb103	4.50 ± 0.50	4.00 ± 0.50	4.50 ± 0.00	4.50 ± 0.00	17.50 ± 1.00
Str132-Lb124	3.50 ± 0.00	3.75 ± 0.25	3.25 ± 0.25	4.00 ± 0.00	14.50 ± 0.50
Control	4.50 ± 0.50	4.00 ± 0.50	4.50 ± 0.00	4.50 ± 0.00	17.50 ± 1.00

CONCLUSION

As a result, the use of high amounts of EPS-producing cultures (BioStr33, BioStr56, BioStr 164, BioStr166, BioLb94, BioLb103) contributed positively to all the quality criteria examined for yogurt. By using these cultures instead of the use of additives, desired results can be obtained, regulation of the intestinal flora, lowering of cholesterol, antitumor and anti-ulcer activity of exopolysaccharides will result in preservation of human health. Also contributes to the economy.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Kahramanmaraş Sütçü Imam University Scientific Research Council for financial support (Project No: 2015/1-75YLS) and the present study was derived from the MSc thesis entitled: Determination of The Potential Use of Exopolysaccharide-Producing *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in Yogurt.

REFERENCES

Amatayakul T, Halmas A L, Sherkat F, Shah N P

2005. Physical characteristics of yoghurt made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, 1:1-11.
- Anonymus 1999. Yoğurt Standardı. TS 1330. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Bourlioux P, Pochart P 1988. Nutritional and health properties of yogurt. *World Review of Nutrition Dietetics*, 56:217-58.
- Chabot S, Yu H L, Leseleuc L, Cloutier D, Calsteren M R, Lessard M, Roy D, Lacroix M, Oth D 2001. Exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M stimulate TNF, IL-6 and IL-12 in human and mouse cultured immunocompetent cells, and IFN- γ in mouse splenocytes. *Lait*, 81: 683-697.
- Chandan R C, Shahani K M 1993. Yogurt. In: Hui YH, ed. *Dairy Science and Technology Handbook*. New York: VCH Publishers, Inc, 1-57.
- Chaves A C, Fernandez M, Lerayer A L, Mierau I, Kleerebezem M, Hugenholtz J 2002. Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 5656-5662.
- Cheng H F 2010. Volatile flavor compounds in yoghurt: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50 (10): 938-944.
- Dave R I, Shah N P 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7: 31-41.
- Duboc P, Mollet B 2001. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11: 759-768.
- Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, Rebers P A, Smith F 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28 (3): 350-352.
- Garcia-Garibay M, Marshall V M E 1991. Polymer production by *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*. *Journal of Applied Bacteriology*, 70: 325-328.
- Gassem M A, Frak J F 1991. Physical properties of yoghurt made from milk treated with proteolytic enzymes. *Journal of Dairy Science*, 74: 1503.
- German B, Schiffrin E J, Reniero R, Mollet B, Pfeifer A, Neeser J R 1999. The development of functional foods: lessons from the gut. *Trends Biotechnology*, 17: 492-499.
- Gezginc Y, Topcal F, Comertpay S, Akyol I 2015. Quantitative analysis of the lactic acid and acetaldehyde produced by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* strains isolated from traditional Turkish yoghurts using HPLC. *Journal of Dairy Science*, 98: 1426-1434.
- Güzel-Seydim Z B, Sezgin E, Seydin A 2005. Influences of exopolysaccharide producing cultures on the quality of plain set type yogurt. *Food Control*, 16:3, 205-209.
- Han X, Yang Z, Jing X, Yu P, Zhang Y, Yi H, Zhang L 2016. Improvement of the texture of yogurt 10 by use of exopolysaccharide Producing Lactic Acid Bacteria. *BioMed 11 Research International*, 6 -12.
- Hosono A, Lee J, Ametani A, Natsume M, Hirayama M, Adachi T, Kaminogawa S 1997. Characterization of a water-soluble polysaccharide fraction with immunopotentiating activity from *Bifidobacterium adolescentis* M101-4. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 61: 312-316.
- Jolly L, Vincent S J F, Duboc P, Neeser J R 2002. Exploiting exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Antony van Leeuwenhoek*, 82: 367-374.
- Kitazawa H, Harata T, Uemura J, Saito T, Kaneko T, Itoh T 1998. Phosphate group requirement for mitogenic activation of lymphocytes by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *International Journal Food Microbiology*, 40: 169-175.
- Metin M, Öztürk G F 2002. Süt ve mamülleri analiz yöntemleri (Duyusal, fiziksel ve kimyasal analizler), Ege Meslek Yüksekokulu Basımevi, Bornova-İzmir, 439 s.
- Modler H W, Larmond M E, Lin C S, Froehlich D & Emmons D B 1983. Physical and sensory properties of yoghurt stabilized with milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 66: 422.
- Nakajima H, Suzuki Y, Kaizu K, Hirota T 1992. Cholesterol lowering activity of ropy fermented milk. *Journal Food Science*, 57: 1327-1329.
- Özoğul F, Taylor K D A, Quantick P C, Özoğul Y A 2000. Rapid HPLC-determination of ATP-related compounds and its application to herring stored under modified atmosphere. *International Journal of Food Science & Technology*, 35: 549.
- Routray W, Mishra H N 2011 Scientific and Technical Aspects of Yogurt Aroma and Taste: A Review. *Comprehensive Review of Food Science*, 10(4), 208-210
- Tamime AY, Robinson R K 2007 *Yoghurt: Science and Technology* 3rd ed. Woodhead Publishing Limited, Abington, England. 220.
- Valerie M M, Rawson H L 1999. Effects of exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria on the texture of stirred yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 34: 137-143.
- Welman A D, Maddox I S 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*, 21:6, 269-274.
- Yildiz, F. 2010. *Development and Manufacture of yogurt and Functional Dairy Products*. Taylor and Francis Group, United States. 454p.

The Effects of Dried Wormwood (*Artemisia absinthium*) on Performance, Carcass Characteristics and Biochemical Parameters of Broiler Chicks

Mehmet ÇETİN¹, Sabri YURTSEVEN², Abdurrahim KOÇYİĞİT³, Füsün TEMAMOĞULLARI⁴
Mehtap Gül ALTAŞ⁵, Zafer ÖZYILDIZ⁶, Rağsan YILMAZ⁷, Abdullah TAŞKIN⁸

^{1,2}Harran University, Agriculture Faculty, Department of Animal Science, Sanliurfa, Turkey, ³Bezm-i Alem Vakıf University, Medical Faculty, Department of Biochemical Science, İstanbul, Turkey, ⁴Harran University, Veterinary Faculty, Department of Pharmacology and Toxicology, Sanliurfa, Turkey, ⁵Harran University, Veterinary Faculty, Department of Parasitology, Sanliurfa, Turkey, ⁶Mehmet Akif Ersoy University, Veterinary Faculty, Department of Pathology, Burdur, Turkey, ⁷Harran University, Veterinary Faculty, Department of Pathology, Sanliurfa, Turkey, ⁸Harran University, Health Faculty, Department of Nursing, Science, Sanliurfa, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-2895-3618>, ²<https://orcid.org/0000-0002-6600-8772>, ³<https://orcid.org/0000-0003-2335-412X>

⁴<https://orcid.org/0000-0001-7738-1145>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-0120-9266>, ⁶<https://orcid.org/0000-0002-6009-9191>

⁷<https://orcid.org/0000-0002-0944-2230>, ⁸<https://orcid.org/0000-0001-8642-1567>

✉: mehmetcetin63@harran.edu.tr

ABSTRACT

Aim of this study was to determine the most appropriate dose for dried wormwood (W) in Ross 308 broiler diets. Wormwood was added to diets in different doses for a period of 42 days. The doses were W0 (Control), W1 (11.76), W2 (23.53), W3 (35.29) and W4 (47.06 g kg⁻¹). In this experiment, a total of 180 chicks were used. Results showed that there was no significant differences in live weight and feed conversion ratio except for feed consumption among treatment groups (P<0.01). Feed consumption was negatively correlated with the increase of wormwood doses in the diet. Liver and pancreas weights in the W1 group was significantly higher than those of the other groups (P<0.05). Blood parameters indicated that ceruloplasmin and phosphorus were significantly higher in W2 group than those of other groups (P<0,05), on the other hand triglyceride (P<0,01) was found significantly lower in all treatment groups when compared to the control (W0) group. As a conclusion, W1 (11.76 g kg⁻¹) was determined to be the most suitable dose in broiler rations.

Research Article

Article History

Received : 31.05.2019

Accepted : 22.08.2019

Keywords

Performance

Prophylactic feed additive

Appetite suppressant

Eimeria oocyt

Kurutulmuş Pelin (*Artemisia Absinthium*) Otunun Etlik Piliçlerin Performans, Karkas Özellikleri ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Ross 308 etlik piliç rasyonlarında kurutulmuş pelin otu (*Artemisia absinthium*) için en uygun dozu belirlemektir. Pelin otu rasyona 42 gün boyunca farklı dozlarda katılmıştır. Dozlar W0(Kontrol), W1(11.76), W2(23.53), W3(35.29) ve W4(47.06 g kg⁻¹)'dir. Bu çalışmada toplam 180 piliç kullanıldı. Canlı ağırlık ve yemden yararlanma oranı bakımından gruplar arasında önemli bir fark görülmez iken yem tüketimi bakımından önemli bir farklılık görülmüştür (P<0,01). Rasyonda pelin dozu arttıkça yem tüketimi düşmüştür. Karaciğer ve pankreas ağırlıkları W1 grubunda diğer gruplara göre önemli derecede yüksek bulunmuştur (P<0,05). Kan parametrelerinden seruloplazmin ve fosfor W2 grubunda diğer gruplara göre önemli derecede yüksek bulunmuştur (P<0,05), diğer taraftan tüm muamele gruplarında trigliserit kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulunmuştur (P<0,01). Sonuç olarak, etlik piliç rasyonlarında en uygun dozun W1 (11.76 g kg⁻¹) olduğu belirlenmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 31.05.2019

Kabul Tarihi : 22.08.2019

Anahtar Kelimeler

Performans

İyileştirici yem katkısı

İştah baskılayıcı

Oosit sayısı

To Cite : Çetin M, Yurtseven S, Koçyiğit A, Temamoğulları F, Altaş MG, Özyıldız Z, Yılmaz R, Taşkın A 2019. The Effects of Dried Wormwood (*Artemisia absinthium*) on Performance, Carcass Characteristics and Biochemical Parameters of Broiler Chicks KSU J. Agric Nat 22(Suppl 2): 409-417. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.551016.

INTRODUCTION

Alternative feed additive has extensively increased and the significant attention has been paid to medical herbs as alternative for antibiotic growth since phytochemical substances have several advantages over generally used antibiotics (Salih and Gürbüz, 2015; Gürbüz and Ismael, 2016; Çetin, 2016).

Wormwood is an herbal feed additive (Muto et al., 2003; Kostadinović et al. 2015), which has cytotoxic, antihepatotoxic, antibacterial, antifungicid, antioxidant, antimalarial, antitumor, antiparasitic features. It contains terpenoid, flavonoid, coumarin, caffeic acid, sterol and acetylenes (Bora and Sharma, 2010a; Brisibe et al., 2008). Rezaeinodehi and Khangholi (2008) reported that wormwood contains 1.3% essential oil that has 23.8% β -pinene and 18.6% β -thujone in its composition. Thujone content gives a bitter taste to wormwood (Lee et al., 2013; Tariku et al., 2011).

Excessive feeding and fat deposition have become a major problem in broiler nutrition. To control excess feed consumption, the use of feed restriction or suppressing appetite seems to be a practical method. Restriction of feed consumption can make an animal aggressive, while suppressing the appetite can offer more optimistic results. To overcome this problem, herbal products may be considered as an option to suppress appetite.

It has been reported that the wormwood cures stomach pain and stimulation of the heart, restores memory and decreasing mental functions, reperfusion injuries in rats, and behavior disorders caused by oxygen deprivation of the brain, 100-200 mg kg⁻¹ of methanol extract significantly reduced oxidative stress and damage in the brain (Bora and Sharma 2010b).

In recent studies, the direct use of plant itself has been on the agenda instead of the use of essential oils (Brisibe et al., 2008).

Wormwood leaves and stem contain bitter compounds that can control abnormal feed consumption without restriction. In this sense, they may be used in the management of feed intake of broiler, especially for breeding without any adverse effect.

The effects of using wormwood directly as *prophylactic* stimulators or appetite suppressants at microscopic levels are not known yet. In this study, it was aimed to reveal whether dried wormwood leaves reduce feed consumption without affecting performance in broiler. For this reason, live weight (LW), feed consumption (FC), feed conversion ratio (FCR), oxidative stress and blood parameters were examined. The changes within the duodenal wall structure of dried wormwood as well as the antioxidant and anticoccidial effects were also studied under normal feeding conditions.

MATERIALS and METHODS

In this experiment, a total of 180 Ross 308 chicks (both sexes were randomly distributed) were used in one control and four treatment groups of wormwood with the following doses; W0 (Control), W1 (11.76), W2 (23.53), W3 (35.29) and W4 (47.06 g kg⁻¹). Each treatment group consisted of three replicates, 12 chicks for each. The number of male and female chicks in the treatment groups are presented in the corresponding tables (Tables 2-5). The wormwood doses were added to broiler diets for a period of 42 days. At the beginning of the study, the live weights of the groups were equalized. Broilers feed, which contained 230, 200, 180 crude protein and 3100 kcal metabolizable energy per kg diets, was given for respectively 0 to 14 d, 15 to 35 d and 36 to 42 d of age. The contents of the trial rations are presented in Table 1.

The ground wormwood was added to rations without any chemical treatment such as extraction process. To determine the amount of wormwood to be included in the ration, the amount of extract in the wormwood was taken into account. The amount of extract of the wormwood was measured as 8.5 g extract kg⁻¹ wormwood (Baytop, 1999; Tariq et al., 2009). Pelin herb doses were considered as 100, 200, 300 and 400 mg extract kg⁻¹ ration, and equivalent wormwood was administered as wormwood kg⁻¹ ration of 11.76, 23.53, 35.29 and 47.06 g respectively.

At the trial, the chicks were weighed on the first day and the wing number was fitted after being handed out as completely randomized to groups (Yıldız and Bircan, 1991).

The chicks were housed in the main machines for the first 15 days and then taken to the floor divisions. The experiment was conducted during May and June. The lighting program consisted of 23 hours of light and one hour of darkness during the experimental period. Feed and water were offered as ad-libitum consumption throughout the experiment. Feed intake and body weights were measured weekly. The experiment was conducted for 6 weeks, from hatch to 42nd day. At the end of the study, all chicks were individually weighed, slaughtered, and tested.

Chemical Analysis

Following an analysis of the protein, fat, fibre, dry matter and ash contents of the raw materials used in the assay based on the method of Weende (Bulgurlu and Ergül, 1978; Akyıldız, 1984). Calculation of ME values of maize, wheat, soybean and whole oil soybean was done according to ETEVPF (1989), and ME value of wormwood was calculated according to MAFF (1976). The reason is the high cellulose content of wormwood. Trial rations were established according to these results.

Table 1. Content of broiler diets, (kg)

Raw Materials Ham Maddeler	0-14 days (Starter), 0-14 günler (Başlangıç)					15-35 days (Grower), 15-35 günler (Büyütme)					36-42 days (Finisher), 36-42 günler (Bitirme)				
	W0	W1	W2	W3	W4	W0	W1	W2	W3	W4	W0	W1	W2	W3	W4
Corn, Mısır	400	400	400	400	400	460	460	460	460	460	470	470	470	470	470
Wheat, Buğday	90.50	73.73	56.97	39.71	22.94	117	100.73	84	67	50	165	148	131	114.4	97.5
Soybean pulp Soya küspesi	361	364	367	370	373	242.50	245	248	251.21	254	107.40	110.6	113.67	116.41	119.44
Fullfat soybean Tam yağlı soya	50	50	50	50	50	100	100	100	100	100	200	200	200	200	200
Wormwood, Pelin	0	11.77	23.53	35.29	47.06	0	11.77	23.53	35.29	47.06	0	11.77	23.53	35.29	47.06
Soybean oil Soya yağı	56	58	60	62.5	64.5	36.50	38.5	40.47	42.5	44.94	13.60	15.63	17.80	19.90	22.00
Limestone Mermer Tozu	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Di Calcium phosphat, DCP	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Vitamin*	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Mineral**	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Lysine, Lisin	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Methionine Metiyonin	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Salt, Tuz	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Total, Toplam	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
	Calculated Nutritional Values, Hesaplanan Besin Değerleri														
Crude Protein (%) Ham protein	23.03	23.03	23.03	23.02	23.02	20.03	20.01	20.01	20.02	20.01	18.01	18.02	18.02	18.01	18.01
Metabolisable Energy (kcal/kg) Metabolik enerji	3100.3	3099.7	3099.1	3101.3	3100.7	3101.7	3101.6	3100.8	3100.2	3102.2	3100.6	3100.0	3100.3	3100.5	3100.4
Ham Yağ, % Crude Fat, %	8,68	8,89	9,10	9,36	9,58	7,62	7,83	8,04	8,26	8,52	6,98	7,20	7,43	7,65	7,87
Ham Kül, %	3,32	3,37	3,42	3,46	3,51	2,93	2,97	3,02	3,07	3,11	2,63	2,68	2,73	2,77	2,82
Crude Fiber (%) Ham sellüloz	2.89	3.22	3.55	3.88	4.21	2.86	3.19	3.52	3.85	4.18	2.98	3.31	3.64	3.97	4.30
Ca, %	1.20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17
P, %	0.76	0,76	0,76	0,75	0,75	0,74	0,73	0,73	0,73	0,72	0,72	0,72	0,72	0,71	0,71
Lysin, %	1.30	1,30	1,30	1,31	1,31	1,16	1,16	1,17	1,17	1,17	1,04	1,05	1,05	1,05	1,06
Metiyonin	0.46	0,46	0,46	0,46	0,46	0,53	0,52	0,52	0,52	0,52	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

* Per 2 kg Vitamin Premix Content: Vitamin-A 15.000.000 IU, Vitamin-D 6.000.000 IU, Vitamin-E 100.000 mg, Vitamin-K₃ 3.000 mg, Vitamin-B₁ 5.000mg, Vitamin-B₂ 8.000mg, Niacin 60.000mg, Ca-D Pantothenate 15.000mg, Vitamin-B₆ 5.000mg, Vitamin-B₁₂ 20mg, D-Biotin 200mg, Folic Acid 2.000mg, Vitamin-C 100.000mg, Antioxidan 120.000mg.

** Per kg Mineral Premix Content: Mn 120.000mg, Fe 80.000mg, Zn 80.000mg, Cu 16.000mg, I 200mg, Se 300mg

ME: Metabolisable energy, (Kcal kg⁻¹) W0, W1, W2, W3, W4: Wormwood doses, (g kg⁻¹ rations)

Wormwood contained 6% crude protein, 2.78% crude fat, 30.17% crude fibre, 92.52% dry matter, 4.66% crude ash, 48.91% nonprotein nitrogen and 2377 kcal kg⁻¹ of metabolizable energy.

ETEVPF (1989): ME (kcal/kg) = [(CP%*15.15) + (CFat%*35.75) + (NN%*15.59)] *2.39

MAFF (1976): ME(kcal/kg) = [(CP%*28.71) + (CF%*11.96) + (CFat%*74.16) + (NN%*33.49)]

ME: Metabolisable energy, DM: Dry matter, CP: Crude protein, CF: Crude fibre, CFat: Crude fat, NN: Nonprotein nitrogen

Determination of Extract Amount in Wormwood Plant

A. absinthium L. belongs to the Asteraceae family (Koul, 1997). The plant material for the present study was collected from the local fields of Simav, Kütahya province, in Turkey. It was identified and authenticated by a pharmacologist in the Department of Pharmacology and Toxicology, University of Harran, Şanlıurfa province, Turkey. The amount of *A. absinthium* extract was measured in accordance with to the method mentioned by Baytop (1999) and Tariq et al. (2009). In this process, 8.5 g extract kg⁻¹ wormwood was obtained.

Analysis of the Blood Parameters

At 42 days of age, six broilers per treatment were randomly selected and slaughtered by cervical dislocation for analysis of the blood parameters.

Determination of Total Oxidant Status (TOS)

Serum TOS was determined using a novel automated measurement method as developed by Erel (Erel, 2005).

Determination of Total Antioxidant Status (TAS)

Total antioxidant status in serum was determined using an automated measurement method (Erel, 2004).

Calculation of The Oxidative Stress Index (OSI)

(arbitrary units)=TOS (µmol H₂O₂ equiv/L) / TAS (mmol Trolox equiv/L) × 10⁻¹.

Determination of PON1 and ARE Activities

PON1 activities were measured using diethyl-0-pnitrophenylphosphate as a substrate.

Determination of Erythrocyte Cell DNA Damage

The endogenous chicken erythrocyte cell DNA damage was analyzed by alkaline comet assay according to Singh et al. (Singh et al., 1988) with minor modifications.

Analysis of Plasma Total Peroxide (LOOH) Concentration

Total peroxide concentrations were determined using the “FOX₂” method (Miyazawa, 1989) with minor modifications.

Analysis of Thiols Activities (Sh)

Serum total thiol concentration or sulfhydryl groups (SH) were measured by the methods originally described by Ellman (1959) and modified by Hu (1994).

Analysis of Ceruloplasmin

Erel's ceruloplasmin measurement method was used. (Erel, 1998; Erel, 2004).

Analysis of the Fecal Samples

To determine the fecal oocyte count reductions of chickens, fresh fecal samples of each group in the respective treatment groups were collected directly from plastic sheet which had been put on the ground in half on weekly basis. The fecal samples were not used for oocyte counting according to Mc. Master sedimentation technique (Hodgson, 1970) due to the negative image. For oocyte counting, zinc sulphate flotation technique (Bartlett et al., 1978; Kassai, 1999) was used. Oocyte counting was constructed in the Department of Parasitology, University of Harran, Şanlıurfa province, Turkey

Histological Analysis of The Intestine

At 42 days of age, six broilers per treatment were randomly selected and slaughtered by cervical dislocation for the collection of tissue samples from the duodenum, jejunum and ileum. The contents of the intestinal regions were carefully hand-stripped. Overall, 1/3 segment from the end of the duodenum, jejunum and ileum was excised, washed in physiological saline solution, and fixed in 10% buffered formalin. Then, the tissue samples were processed using routine histological methods and later embedded in paraffin wax blocks. Then 5 µm thick sections were cut and painted with routine haematoxylin-eosin staining. All specimens were examined under a light microscope (Luna, 1968) equipped with a digital camera head and a camera control unit. The villus height was measured using an image analysis system. Villus height was measured from the top of the villus to the top of the lamina propria. Three measurements were taken per bird and the mean value was recorded.

Statistical Analysis

In the evaluation of the data obtained at the end of the experiment, parameters related to feeding consumption, live weight, feed utilization rate, cut and duodenal characteristics were analyzed using SPSS,

(2013) in a one-way ANOVA and the means were compared by The Duncan Multiple Range Test. Statistical analyzes of biochemical parameters were performed by using Non-Parametric Test in this same program. The Mann-Whitney U test was used to control the significance of the differences between the groups.

RESULTS and DISCUSSION

Live weight changes, feed consumption and feed conversion ratio of control and treatment groups during the experiment are presented in Table 2. There was no significant difference between the treatments at LW and FCR at the end of the 6-week trial. However, significant differences were observed in the mean FC between the groups at 0-6 weeks ($P < 0.01$). There was no significant difference in live strength among the experimental groups.

In this study, live weight and feed conversion rate were not affected by the doses of wormwood added to the ration. The highest feed consumption was observed in

W1 group. Feed consumption has decreased in response to increasing doses of wormwood. Reduced consumption of feed might result from the strong odor and bitter taste inside the wormwood.

It is reported that taste plays an important role in feed selection and eating motivation (Gentle, 1971). It can be also attributed to high bitter taste and its toxic thujone content depending on dose in wormwood leaves (Lee et al., 2013). Therefore, it may play a role in the management of feed intake control of broiler, especially for breeding without any adverse effect.

Different suppressants were tested to control feed consumption without altering performance. It is obvious that the most suppressant effect of wormwood was observed in broilers which consumed 47.06 g of ground wormwood (W4). In this study, 4-5% reduction was found in feed consumption respectively in W1 and W4 at the end of the 6 weeks feeding period. FC pattern showed that wormwood can be used as suppressant factor for broilers.

Table 2. The effect of dried wormwood addition on *Live Weight (g)*, *Feed Consumption (g)* and *Feed Conversion Ratio of Broilers* (n=36)

Weeks Hafta	Criteria Özellik	Groups, Gruplar					P	SEM
		W0	W1	W2	W3	W4		
0-3	LW	41.56 ^c	39.50 ^{bc}	37.25 ^{ab}	36.26 ^a	36.41 ^a	0.000	0.88
	FC	60.68 ^c	58.18 ^b	56.49 ^a	58.28 ^b	56.51 ^a	0.000	0.39
	FCR	1.48 ^a	1.50 ^a	1.55 ^{ab}	1.64 ^b	1.59 ^{ab}	0.026	0.04
4-6	LW	94.65	99.25	93.08	94.46	91.60	0.258	2.52
	FC	161.73 ^a	169.14 ^c	163.07 ^{ab}	165.34 ^b	161.49 ^a	0.000	0.82
	FCR	1.74	1.73	1.79	1.78	1.80	0.753	0.05
0-6	LW	2867.88	2922.03	2763.52	2743.91	2711.07	0.088	63.20
	FC	4670.48 ^{ab}	4777.57 ^c	4615.45 ^{ab}	4694.96 ^{bc}	4581.16 ^a	0.000	24.65
	FCR	1.65	1.66	1.69	1.73	1.72	0.404	0.04
Sex, End of Trial		13 F, 20 M	14 F, 19 M	18 F, 14 M	12 F, 22 M	16 F, 17 M		

a, b, c: Different superscript letters within the rows show differences insignificant ($P < 0.05$).

LW: Live weight, **FC:** Feed consumption, **FCR:** Feed conversion ratio **n:** Number of animal **F:** Female **M:** Male **W0, W1, W2, W3, W4:** Wormwood doses, (g kg⁻¹ rations) **P:** Probability, **SEM:** Standard error means,

However, when broiler diets were supplemented with dried wormwood, 100, 150, 200 g kg⁻¹, LW and FC increased, but FCR decreased (Kostadinović et al., 2015).

In this study, feed conversion ratio was not adversely affected by the doses of wormwood. The highest LW and FC and the best FCR were achieved in group W1. Therefore, it can be said that the ideal dose was W1 and the chicks were accustomed to this dose.

The mean weights of carcass, liver, heart, gizzard and abdominal fat are presented in Table 3. Wormwood caused significant differences between liver and pancreas weights ($P < 0.05$) whereas carcass, heart, gizzard and abdominal fat were not significantly affected by the process. The highest liver and pancreas weights were observed in W1. Lee et al (2006) and Kostadinović et al., (2015) suggested that nutrient utilization and abdominal fat deposition significantly decreased as the levels of wormwood addition

increased. Lee et al., (2006) also advise that less than 1% addition of wormwood to broiler diets may have beneficial effects for human health by reducing the abdominal fat deposition of broiler chickens.

The oxidative stress and blood parameters are presented in Table 4. There was no significant difference between the treatment groups in terms of aryl, esterase, paraoxonase, lipid peroxidase, free thiol groups, total antioxidant, total oxidant, oxidative stress index, DNA damage, alkaline phosphates, total protein, albumin, total cholesterol, HDL cholesterol and calcium levels, yet there was a significant difference in ceruloplasmin, phosphorus ($P < 0.05$) and triglyceride ($P < 0.01$) levels.

The oxidative stress index (OSI) was not significant. Bora and Sharma (2010b) reported that 100-200 mg kg⁻¹ of methanol extract in rats significantly reduced oxidative stress and damage in the brain.

Table 3. The effect of dried wormwood addition on *carcass and inner organ weights (g) of broilers (n=36)*

Parameters, Özellik	Groups, Gruplar					P	SEM
	W0	W1	W2	W3	W4		
<i>Carcass</i> , Karkas	2093.44	2162.63	2043.28	2062.24	2011.78	0.261	49.44
<i>Liver</i> , Karaciğer	58.13 ^{ab}	62.03 ^c	52.07 ^a	55.70 ^{ab}	56.28 ^{ab}	0.025	2.10
<i>Heart</i> , Kalp	13.81	14.33	13.19	13.62	13.61	0.607	0.50
<i>Gizzard</i> Taşlık	38.00	38.09	38.71	38.36	37.00	0.811	0.99
<i>Pancreas</i> , Pankreas	6.56 ^{ab}	7.17 ^b	6.85 ^b	6.08 ^a	6.59 ^{ab}	0.015	0.21
<i>Abdominal Fat</i> , Karın Yağı	41.25	44.26	43.22	41.00	40.32	0.730	2.33
Sex, End of Trial	13 F, 20 M	14 F, 19 M	18 F, 14 M	12 F, 22 M	16 F, 17 M		

^{a, b, c}: Different superscript letters within the rows show differences insignificant (P<0.05).

W0, W1, W2, W3, W4: Wormwood doses, (g kg⁻¹ rations), **P**: Probability **SEM**: Standard error means

n: Number of animal F:Female M: Male

Table 4. The effect of dried wormwood addition on oxidative stress and some blood parameters of broilers

Parameters, Özellik	Groups, Gruplar					P	SEM
	W0	W1	W2	W3	W4		
<i>The parameters of oxidative stress</i> , Oksidatif stress parametreleri							
<i>Areyl esteraz</i> , U L ⁻¹ Ariil esteraz	43.9	44.5	43.4	44.3	44.5	0.688	0.51
<i>Paraxonase</i> , U L ⁻¹ Paraksonaz	3.1	3.0	3.5	3.3	2.9	0.733	3.79
<i>Lipid peroxidase</i> , µmol L ⁻¹ Lipit peroksidaz	4.1	3.9	3.8	3.9	3.9	0.855	0.24
<i>Ceruloplasmin</i> , U L ⁻¹ (Seruloplazmin)	254.4 ^{ab}	258.5 ^{bc}	262.7^c	254.4 ^{ab}	253.9 ^a	0.013	1.10
<i>Free thiol groups</i> , mmol L ⁻¹ Serbest tiol grupları	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.944	0.00
<i>TAS</i> , Toplam antioksidant durumu	1.11	1.02	0.89	0.84	1.04	0.136	0.06
<i>TOS</i> , Toplam oksidant durumu	8.8	10.26	9.67	11.53	11.20	0.414	5.43
<i>OSI</i> , Oxidative Stress Index., AU	0.79	1.08	1.19	1.19	1.18	0.245	0.54
<i>DNA Damage</i> , AU DNA hasarı	8.0	10.0	10.0	9.0	8.0	0.328	2.61
<i>The results of biochemical analysis</i> , Biyokimya analiz sonuçları							
<i>Alkaline phosphates</i> , U L ⁻¹ Alkalin fosfataz	723.66	978.98	1616.80	924.47	1070.92	0.435	240.18
<i>Total Protein</i> , g dL ⁻¹ Toplam protein	1.51	1.55	1.64	1.21	1.55	0.721	0.15
<i>Albumin</i> , g dL ⁻¹ , Albumin	0.73	0.70	0.75	0.59	0.77	0.653	0.07
<i>Triglyceride</i> , mg dL ⁻¹ , Trigliserit	33.43^b	25.07 ^a	24.67 ^a	18.45 ^a	22.62 ^a	0.004	2.85
<i>Total cholesterol</i> , mg dL ⁻¹ Toplam kolesterol	80.00	74.70	72.30	53.90	76.30	0.328	6.32
<i>HDL cholesterol</i> , mg dL ⁻¹ HDL kolesterol	74.25	69.94	65.43	57.54	68.30	0.100	4.87
<i>Calcium</i> , mg dL ⁻¹ , Kalsiyum	8.20	8.40	8.60	8.15	8.35	0.572	0.46
<i>Phosphorus</i> , mg dL ⁻¹ , Fosfor	8.40 ^{ab}	9.55 ^{bc}	10.20 ^c	7.90 ^{ab}	7.55 ^a	0.042	0.57
Sex, End of Trial	5 F, 6 M	1 F, 5 M	3 F, 3 M	3 F, 3 M	3 F, 3 M		

^{a, b, c}: Different superscript letters within the rows show differences insignificant (P<0.05).

TAS: Total antioxidant status, µmol Trolox Equiv. l⁻¹ **TOS**: Total oxidant status, µmol H₂O₂ Equiv. l⁻¹

OSI: Oxidative stress index, AU **HDL**: High density lipoprotein, **P**: Probability **SEM**: Standard error means

W0, W1, W2, W3, W4: Wormwood doses, (g kg⁻¹ rations) F:Female M: Male

The highest ceruloplasmin and phosphor (P) levels were obtained in W2. Ceruloplasmin is a protein that plays an important role in iron (Fe) metabolism, and its increase may be considered as a sign of increased iron levels (Demir et al., 2002). Phosphorus, along with calcium, plays an important role in bone formation and

metabolism (Kutlu et al., 2005).

The wormwood induced a significant decrease (P<0,01) in serum triglycerides. In this study the levels of plasma triglyceride which is linked to higher risk of heart diseases, were found significantly decreased related to wormwood addition. Daradka et al. (2014)

suggested that wormwood extract reduced serum triglyceride in rabbits.

According to the results of present study wormwood had neither negative nor positive effects on antioxidant status in the body, as explained by the OSI and LOOH value, indicators of oxidative stress. Furthermore, it appears that the antioxidant effect of wormwood did not originate from protein oxidation and reduced lipid peroxidation since the concentration of both thiol groups (SH) and lipid peroxide (LOOH), their indicator, were unaffected by the powder.

The antioxidant effect of wormwood did not tend to reduce DNA damage in the supplemented groups. One of the main causes of DNA damage is oxidative stress. The similarity in DNA damage, which resulted from the use of wormwood, indicates that animals may not be under stress.

Morphology results of the total mucosa, duodenum villus height (dvh), duodenum crypt depth (dcd) and gland depth (gd) (Micrometre μ) are presented in Table 5. There was no difference between treatment and control groups in terms of total mucosa, villus heights and gland depth of the duodenum. To identify any possible changes at the level of duodenum, microscopically sections were taken from the intestinal wall on the layers of the duodenum. It is assumed that an elevated villus height increases digestion and absorption due to the increased absorbent surface area (Pluske et al., 1996). The present result may be a consequence of the use of wormwood at low dose unlike the study of Lee et al., (2006). Any damage to the integrity of the villus epithelium was not detected. There was no evidence of a serious cell infiltration to point out an infection in Lamina propria.

Table 5. The effect of dried wormwood addition on Total villus heights and crypt depth (μ m) of duodenum of broilers

Criteria, Özellik	Groups, Gruplar					P	SEM
	W0	W1	W2	W3	W4		
<i>Villus height (Dvu), Villus yüksekliği</i>							
Dvh, first 1/3, ilk	1168.86	1114.57	1425.36	1269.51	1380.84	0.901	112.26
Dvh, middle 1/3, orta	1257.90	1144.93	1046.80	1259.02	1173.40	0.835	80.13
Dvh, last 1/3, son	1155.76	1300.53	1348.34	1238.80	1251.20	0.466	93.20
<i>Crypt depth (Dcd), Cript derinliği</i>							
Dcd, first 1/3, ilk	220.35	194.71	229.05	215.08	229.42	0.451	27.36
Dcd, middle 1/3, orta	227.13	183.44	254.57	253.60	209.74	0.178	32.33
Dcd, last 1/3, son	216.58	205.62	235.85	232.69	203.63	0.540	18.91
Sex, End of Trial	3 F, 4 M	2 F, 6 M	3 F, 4 M	3 F, 3 M	3 F, 3 M		

a, b, c: Different superscript letters within the rows show differences insignificant ($P < 0.05$).

Dvh: Duodenum villus height, Dcd: Duodenum crypt depth (μ m : Micrometer) **F**: Female **M**: Male

W0, W1, W2, W3, W4: Wormwood doses, (g kg⁻¹ rations) **P**: Probability **SEM**: Standard error means,

There were no significant changes in the number or morphologic status of intestinal glands. The absence of any signs of inflammatory cellular infiltration related to oocytes and deterioration of villi epithelia might indicate antibacterial, anthelmintic or antiprotozoal features of wormwood.

There were not any significant differences between the pathological parameters and intestinal analysis of the broiler chicken regardless of wormwood doses.

The dried wormwood leaves were preferred primarily for being a natural anticoccidial agent. Fresh fecal samples were collected from each group in order to count oocytes on weekly basis. The oocytes output was not found in feces obtained from all treatment groups either. This is also confirmed by the chemical analysis of the feces. Kostadinović et al., (2014) suggested that the essential oil of wormwood was effective in reducing the oocytes output of infected broilers. Lee et al., (2006) reported that small intestine contents in the broilers significantly increased as the levels of wormwood increased (from 1% to 10% of diet). Our results can also be attributed to the absence of stress conditions affecting the broilers, none of whom was infected.

CONCLUSIONS

In conclusion, the addition of wormwood to the diets of broiler chicks reduced feed intake and higher doses of wormwood (W2, W3 and W4) may be used as a very effective feed suppressant in breeding broilers. It was further observed that the highest live weight, feed consumption, liver weight and the best feed conversion ratio were obtained in W1 group. Therefore, it can be said that the ideal dose was W1. The higher doses of wormwood may be used as abdominal fat suppressant. Fast growing is parallel to the unwanted abdominal fat, thus addition of wormwood to broiler feed would both diminish abdominal fat and ensure long term beneficial effects especially on broiler breeding. The antioxidant effect of wormwood did not tend to reduce DNA damage in the supplemented groups. The similarity in DNA damage indicates that animals may not be under stress. Any damage to the integrity of the villus epithelium was not detected. There were no significant changes in the number or morphologic status of intestinal glands. The absence of any signs of inflammatory cellular infiltration related to oocytes

and deterioration of villi epithelia might point out antibacterial, anthelmintic or antiprotozoal features of wormwood. The oocytes output was not found in feces obtained from all treatment groups either. On the other hand, the highest ceruloplasmin and phosphorus were significantly higher in 23.53 (W2) group than those of other groups. Plasma triglycerides levels decreased in the wormwood groups. In addition, it may be necessary to reveal the effects of wormwood addition on the digestive system in further studies.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by Harran University research fund with 12078 Project Number.

REFERENCES

- Akyıldız R 1984. Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu. Atatürk Üniversitesi Basımevi, Yayın No: 127, Ankara.
- Bartlett MS, Harper K, Smith N, Verbanac P, Smith JW 1978. Comparative Evaluation of a Modified Zinc Sulfate Flotation Technique. *J. Clin. Microbiology*, 7 (6): 524-528.
- Baytop T 1999. Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
- Bora KS, Sharma A 2010a. Phytochemical and Pharmacological Potential of *Artemisia absinthium* Linn. and *Artemisia asiatica* Nakai. *J. Pharmacy Res.*, 3 (2): 325-328.
- Bora KS, Sharma A 2010b. Neuroprotective effect of *Artemisia absinthium* L. on focal ischemia and reperfusion-induced cerebral injury. *Journal of Ethnopharmacology*, 129(3): 403-409
- Brisibe EA, Umoren UE, Owai PU, Brisibe F 2008. Dietary Inclusion of Dried *Artemisia Annu*a Leaves for Management of Coccidiosis and Growth Enhancement in Chickens. *African J. Biotech.*, 7 (22): 4083-4092
- Bulgurlu Ş, Ergül M 1978. Yemlerin Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik Analiz Metotları. Ege Üniversitesi Basımevi, Yayın No: 127, İzmir.
- Çetin M 2016. Kümes Hayvanlarının Beslenmesinde Antibiyotiklere Alternatif Olarak Nane (*Mentha piperita* L.) Kullanmanın Etkileri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 20(3): 239-246.
- Daradka HM, Badawneh M, Aljamal JA, Bataineh Y 2014. Hypolipidemic Efficacy of *A. absinthium* Extracts in Rabbits. *World Applied Sci. J.*, 31 (8): 1415-1421.
- Demir K, Karaca Ç, Kaymakoğlu S, Özdil S, Dinçer D, Durakoğlu Z, Beşışık F, Çakaloğlu Y, Ökten A 2002. Serum Seruloplazmin Düzeyi. *Akademik Gastro.*, 1 (2): 86-91.
- Ellman GL 1959. Tissue Sulfhydryl Groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82: 70-77.
- Erel Ö 2004. A Novel Automated Method To Measure Total Antioxidant Response Against Potent Free Radical Reactions. *Clinical Biochemistry*, 37: 112-9.
- Erel Ö 2005. A New Automated Colorimetric Method for Measuring Total Oxidant Status. *Clinical Biochemistry*, 38: 1103-1111.
- Erel Ö 1998. Automated Measurement of Serum Ferroxidase Activity. *Clinical Chemistry*, 44: 2313-2319.
- ETEVPF 1989. European Table of Energy Values For Poultry Feedstuffs, 3rd Edition
- Gentle MJ 1971. Taste and Its Importance to the Domestic Chicken. *Br. Poultry Sci.*, 12:77-86
- Gurbuz Y, Ismael AI 2016. Effect of Peppermint and Basil as Feed Additive on Broiler Performance and Carcass Characteristics. *Iranian J. App. Anim. Sci.*, 6 (1): 149-156.
- Hodgson JN 1970. Coccidiosis: Oocyst Counting Technique for Coccidiostat Evaluation. *Expansional Parasitol.*, 28: 99-102.
- Hu ML 1994. Measurement of Protein Thiol Groups and Glutathione in Plasma. *Methods in Enzymology*, 233: 380-385.
- Kassai T 1999. *Veterinary Helminthology*. Butterworth-Heinemann, Linacre House, Jordan Hill, Oxford, 45-49.
- Kostadinović LM, Ivana SČ, Jovanka DL, Kormanjoš ŠM, Teodosin SJ, Sredanović SA 2014. Effect of *Artemisia absinthium* Essential Oil on Antioxidative Systems of Broiler's Liver. *Food and Feed Res.*, 41 (1): 11-17.
- Kostadinović L, Lević J, Popović ST, Čabarkapa I, Puvača N, Djuragic O, Kormanjoš S 2015. Dietary Inclusion of *Artemisia Absinthium* for Management of Growth Performance, Antioxidative Status and Quality of Chicken Meat. *Europ. Poult. Sci.*, 79: 1612-9199
- Koul MK 1997. *Medicinal Plants of Kashmir and Ladakh, Yemperate and Cold Arid Himalaya*. Indus Publishing Company, FS-5, Tagore Garden, New Delhi, pp. 102, ISBN: 81-7837-061-6
- Kutlu HR, Görgülü M, Çelik LB 2005. Genel Hayvan Besleme. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Adana
- Lee SJ, Song KD, Ko YD, Kim CH 2006. Effect of Dietary Addition of Wormwood (*Artemisia* sp.) on the Growth Performance Nutrient Utilization and Abdominal Fat Deposition of Broiler Chickens. *Korean J. Organic Agric.* 18: 545-561.
- Lee Y, Thiruvengadam M, Chung III-M, Nagella P 2013. Polyphenol Composition and Antioxidant Activity from the Vegetable Plant *Artemisia absinthium* L. *Aust. J. Crop Sci.* 7(12): 1921-1926.
- Luna LG 1968. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*, 3rd Edn. Mc. Graw. Hill, New York
- MAFF 1976. Ministry of Agriculture Food and Fisheries, Energy Allowances and Feeding System For Ruminant, *Technical Bulletin* 33

- Miyazawa T 1989. Determination of Phospholipids Hydroperoxides in Human Blood Plasma by a Chemiluminescence's-HPLC Assay. *Free Radic. Biol. Med.* 7: 209-217
- Muto T, Watanabe T, Okamura M, Moto M, Kashida Y, Mitsumori K 2003. Thirteen-Week Repeated Dose Toxicity Study of Wormwood (*Artemisia absinthium*) Extract in Rats. *J. Toxicol. Sci.* 28(5): 471-478.
- Pluske JR, Thompson MJ, Atwood CS, Bird PH, Williams LH, Hartmann PE 1996. Maintenance of Villus Height And Crypt Depth, And Enhancement of Disaccharide Digestion And Monosaccharide Absorption, in Piglets Fed on Cows' Whole Milk After Weaning. *Br. J. Nutr.* 76: 409-422.
- Rezaeinodehi A, Khangholi S 2008. Chemical Composition of The Essential Oil of *Artemisia absinthium* Growing Wild in Iran. *Pakistan J. Biol. Sci.* 11(6): 946-949.
- Salih YG, Gürbüz Y 2015. Sumac (*Rhus coriaria* L.) and Ginger (*Zingiber officinale*) as Feed Additive in Poultry Nutrition. *KSU J. Agric Nat.* 18(3): 44-48.
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL 1988. A Simple Technique For Quantitation of Low Levels of DNA Damage in Individual Cells. *Exp. Cell. Res.* 175:184-191
- SPSS 22.0 2013. IBM SPSS Statistics For Windows, (IBM Corp. Armonk, NY: USA)
- Tariq KA, Chishti MZ, Ahmad F, Shawl AS 2009. Anthelmintic Activity of Extracts of *Artemisia absinthium* Against Ovine Nematodes. *Vet. Parasit.* 160 (1/2): 83-88.
- Tariku Y, Hymete A, Hailu A, Rohloff J 2011. *In Vitro* Evaluation of Antileishmanial Activity and Toxicity of Essential Oils of *Artemisia absinthium* and *Echinops Kebericho*. *Chem. Biodiversity.* 8: 614-623.
- Yıldız N, Bircan B 1991. Araştırma ve Deneme Metotları. Atatürk Üniversitesi, Yayın No: 305, Erzurum.

EasyNRM: A Visual Basic Application Approach for Computing Numerator Relationship Matrix of Pedigreed Animals

Samet ÇINKAYA^{1*}, Mustafa TEKERLİ², Mustafa DEMİRTAŞ³, Koray ÇELİKELOĞLU⁴

Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-0736-4571>, ²<https://orcid.org/0000-0002-8634-1193>, ³<https://orcid.org/0000-0002-8349-9649>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-1610-2226>

✉: scinkaya@aku.edu.tr

ABSTRACT

The relationship and inbreeding are special concepts in animal breeding, for this reason, a free of charge VBA software was developed to calculate the coefficients of relationship and inbreeding in Microsoft Excel. The tabular method algorithm was implemented by using pedigree. The software was called as EasyNRM and verified with the inclusion of bull Comet's pedigree. Finally, the numerator relationship matrix was created and certified with the results of the literature. It would be beneficial for EasyNRM to be used by researchers and breeders in estimating the breeding values of animals.

Research Article

Article History

Received : 29.05.2019

Accepted : 18.07.2019

Keywords

Inbreeding coefficient
Numerator relationship matrix
Tabular method
Microsoft Excel
Visual Basic for Application

Pedigrili Hayvanlarda Paydan Akrabalık Matrisini Hesaplamaya Yönelik Bir Visual Basic Uygulaması Yaklaşımı: EasyNRM

ÖZET

Hayvancılıkta akrabalık ve akrabalı yetiştirme ayrıcalıklı öneme sahip kavramlardır. Bu nedenle yaygın kullanılan Microsoft Excel ortamında adı geçen değerleri hesaplamak üzere ücretsiz ve özgün bir yazılım geliştirilmiştir. Programda soykütüğüne dayalı tablo yöntemi uygulanmıştır. Yazılım EasyNRM olarak adlandırılmış ve bu konuda kaynaklar tarafından bilinen Comet isimli boğanın pedigrisi ile denenmiştir. Sonuç olarak Excel sayfalarında paydan akrabalık matrisi ve akrabalı yetiştirme katsayıları hesaplanmış ve bu bulgular literatür ile teyit edilmiştir. Bu yazılımın damızlık değer tahmininde akrabalık ilişkilerini de dikkate almak isteyen araştırmacılar ve yetiştiriciler için yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 29.05.2019

Kabul Tarihi : 18.07.2019

Anahtar Kelimeler

Akrabalı yetiştirme katsayısı
Paydan akrabalık matrisi
Tablo yöntemi
Microsoft Excel
Uygulama için Visual Basic

To Cite : Cinkaya S, Tekerli M, Demirtaş M, Çelikeloglu K 2019. EasyNRM: A Visual Basic Application Approach for Computing Numerator Relationship Matrix of Pedigreed Animals. KSU J. Agric Nat 22(Suppl 2): 418-423. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.571575

INTRODUCTION

The inbreeding coefficient of an animal is defined as the probability that two alleles in a locus of that animal are identical by descent from a common ancestor. The formula for the inbreeding coefficient is as follows:

$$F_X = \sum_{CA=1}^k \left(\frac{1}{2}\right)^{n_1+n_2+1} \cdot (1 + F_A) \quad (1)$$

Where F_X is the inbreeding coefficient of the individual X ; CA is a common ancestor of the sire and dam of X ; k is the number of common ancestors in X 's pedigree; n_1 is the number of generations separating the common ancestor from the sire of X ; n_2 is the number of generations separating the common ancestor from the dam of X ; F_A is the inbreeding coefficient of the common

ancestor A , from whom the lines of descent arise. The relationship of parents of individual X reflects the genotypic similarity due to common ancestors. The formula for expressing the degree of relationship, that is the genetic covariance between two individuals, is:

$$r_{SD} = \sum \left[\left(\frac{1}{2}\right)^{n_1+n_2} \cdot (1 + F_A)\right] \quad (2)$$

Due to it is the numerator of Wright's coefficient of relationship (Wright, 1922) between sire (S) and dam (D), it is called as the *numerator relationship*. The complete formula is expressed as follows:

$$R_{SD} = \frac{r_{SD}}{\sqrt{[(1 + F_S)(1 + F_D)]}} \quad (3)$$

So, the measure of relationship has been corrected for the effects of inbreeding. The numerator relationship for any pair of parents is twice the value of the inbreeding coefficient of the offspring. The numerator relationship matrix (NRM) of animals in a population is needed to estimate more accurate breeding values. The inverse of NRM is used in mixed models to reliably predict genetic parameters and breeding values (Bourdon, 2013; Kerr et al., 2012; Kaygısız and Kösetürkmen, 2011; Nicholas, 2010; Legates and Warwick, 1990; Tier, 1990; Van Vleck et al., 1987; Henderson, 1976; Bıyıkoğlu, 1973; Emik and Terrill, 1949; Lush, 2011; Wright, 1922).

There is a number of softwares (Cole, 2007; Sargolzaei et al., 2006; Gutiérrez and Goyache, 2005; Boichard, 2002) using different computing languages and algorithms for calculating inbreeding and relationship coefficients, NRM and inverse of NRM. The tabular method suggested by different researchers (Nicholas, 2010; Van Vleck et al., 1987; Cruden, 1949; Emik and Terrill, 1949) is practiced for computational ease.

Microsoft Excel [Microsoft Corp., CA, USA] harbours a type of visual programming language named Visual Basic for Application (VBA) to bring under control the different functions. Excel is widely used by animal scientists for data processing. An intuitive VBA

program, called EasyNRM, was written by using the tabular method for generating the numerator relationship matrix, inverse of NRM and Wright's relationship coefficient matrix in pedigreed populations.

MATERIAL AND METHODS

An Overview

The program was developed at the Laboratory of Department of Animal Science in the Faculty of Veterinary Medicine, Afyon Kocatepe University. This program was created in .xlam format. It can work in every Excel .xlsx extension files when it is loaded as an add-in. To install the program "File", "Options", "Add-ins" and "Go" are clicked to select an add-in type respectively, and then "Add-ins" are browsed to locate and EasyNRM.xlam is selected by pressing "Ok". After the excel file containing the pedigree was opened, it can be run using the "ctrl+shift+[c]" shortcut. The software comprises of codes in a module and visual components. Each subroutine in the module had been connected with the individual buttons on the userform. The userform including the respective buttons, textboxes showing elapsed time for calculation, and a progress bar was presented in Figure 1.

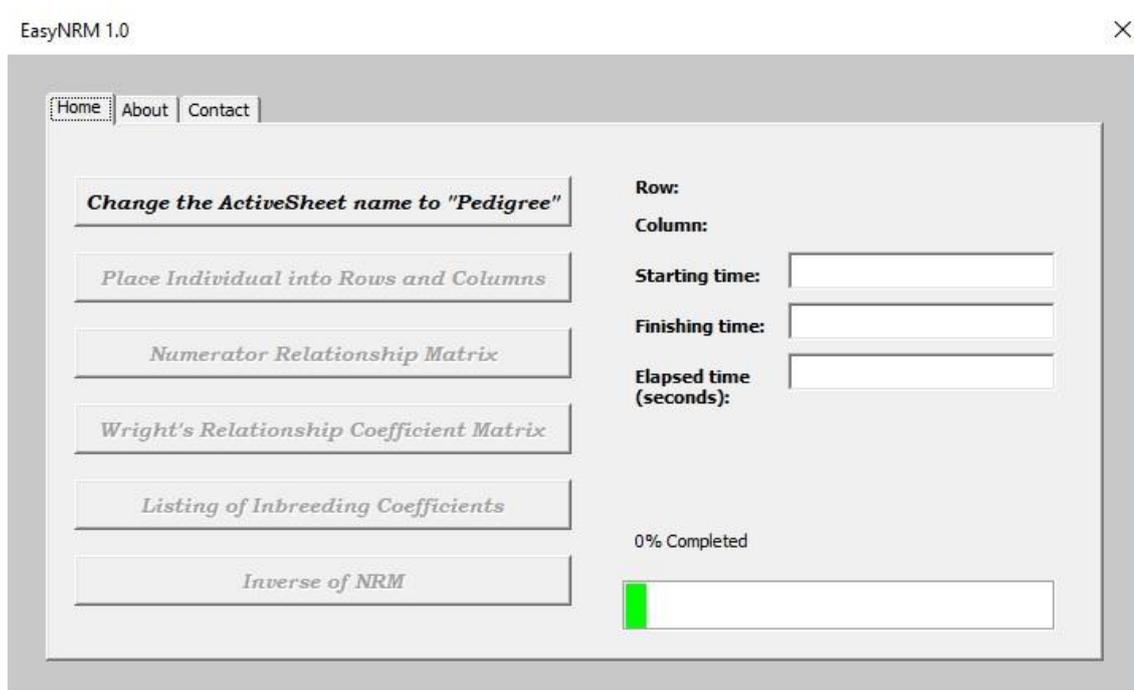


Figure 1. EasyNRM Home page view.

Preparing Pedigree File

Before the inbreeding and relationship coefficients are computed, some prerequisites have to be fulfilled. Alphanumeric individual IDs must be converted to numeric ones. Parents' ID numbers should not be greater than that of their offspring. Animal, sire and dam IDs must be written down the first, second and third columns, respectively. Individual IDs are sorted

from the oldest to the youngest according to the date of birth. Animals with problematic records must be pruned from the pedigree file. Editorial softwares such as RE-NUM-OR (Yazgan, 2018) or Pedigri Yıldızı (Teklerli, 2018) would be useful for reordering and renumbering of animals in the pedigree file. According to VanRaden (1992), inbreeding coefficients of the animals with unknown parents may be equalized to

the mean of animals with known parents born in the same period (Aquilar and Misztal, 2008). Because of this fact, the inbreeding coefficients of animals with unknown parents can be manually replaced with the mean after emerging of NRM. Provided that it has .xlsx extension any simple name can be given to pedigree file containing animal, sire and dam IDs. It must be considered that the maximum column number for .xlsx extension is 16.384. EasyNRM is restricted with Excel's infrastructure. If the file format is .xls, the number of columns will be limited with 256. The pedigree worksheet is automatically renamed as "Pedigree" by pressing the corresponding button.

Functioning of the software

How to use the tabular method to construct the numerator relationship matrix was illustrated by different researchers (Legates and Warwick, 1990; Nicholas, 2010; Tier, 1990; Van Vleck et al., 1987). The EasyNRM constitutes the NRM based on animal pedigrees starting from the individuals of the main population in which the relationship between their parents is unknown or ignored. The algorithm was presented step by step. Every phase is realized by pressing its respective button. The program starts with the button named "Change the ActiveSheet name to Pedigree" and traces the following steps.

Step 1: Placing the IDs of individuals and their parents into rows and columns

The individual IDs are written to the second row and column on the newly created worksheets called "NumeratorRelationshipMatrix" and "RelationshipCoefficientMatrix", from up to down, and left to right. Parent IDs (Sire and Dam) are written to column cells in the first row on the top of the individuals which are placed in the second row. "0" is placed instead of the IDs for unknown parents. The operations until now can be executed by pressing the button "Place Individuals into Rows and Columns" on the userform (Figure 1).

Step 2: Computing the Numerator Relationship Matrix

The calculation is launched from the first cell of diagonal. When the presence of a relationship between parents, since the relationship of an individual with itself (X) is 1 by definition, the animal's own relationship coefficient (R_{XX}) is equal to 1 plus its inbreeding coefficient (F_X). Inbreeding coefficient (F_X) of the individual, is half of the relationship between parents and is calculated according to the formula $F_X = \left(\frac{1}{2}\right) \cdot r_{SD}$ from the cell where parents' rows and columns intersect. This is the formula of the inbreeding coefficient for an individual. The values of each off-diagonal cells are computed by getting half of the relationship between the individual (Y) in the row and the parents (S and D) of the individual (X) in the

column according to the formula $r_{XY} = \left(\frac{1}{2}\right) \cdot (r_{SY} + r_{DY})$. After every individual row has been finished, its transpose is copied to the column having the same ID. The computation continues until the NRM is completed. The interpreter executes the codes associated with numerator relationship matrix after pressing the button "Numerator Relationship Matrix" (Figure 1).

Step 3: Computation of Wright's Relationship Coefficients Matrix

The denominator of the relationship coefficient may not be higher than 1.0 in the majority of the herds. Therefore, this part of Equation 3 can be ignored in real life. However, Lush (2011) declared that the inbred lines in a population show the tendencies for drifting apart from each other and so the inbreeding makes the population more variable than expected. Therefore, terms in the denominator of Equation 3 must be used to consider the fact that a couple of animals may be inbred individually. In this connection, the numerator relationship at the intersecting cell of two individuals is determined. Then the value at this cell divided by $\sqrt{(1 + F_X) \cdot (1 + F_Y)}$ to uncover the true relationship coefficient of Wright. This process is performed by pressing the "Wright's Relationship Coefficient Matrix" button in EasyNRM's home page window (Figure 1).

Step 4: Listing of Inbreeding Coefficients

After the formation of the numerator relationship matrix, the inbreeding coefficient ($F_X = r_{XX} - 1$) of each individual is calculated from the diagonal of the NRM sheet and listed on the newly created worksheet called "InbreedingCoefficients". This running can be accomplished by pressing the "Listing of Inbreeding Coefficients" button.

Step 5: Calculating the inverse of Numerator Relationship Matrix

NRM is used in BLUP (best linear unbiased prediction) analysis. So, NRM is useful for adjusting biases in the estimation of breeding values in mixed models (Henderson, 1976; Kim et al., 2016). The inverse of NRM is applied for this purpose. Through, by pressing the last button called "Inverse of NRM" this aim can be achieved.

RESULTS AND DISCUSSION

Testing of the Software with an Approved Example.

The EasyNRM program, running with an algorithm according to the tabular method was used to calculate the inbreeding coefficient of a bull named Comet with the pedigree presented in Figure 2. This sample was given in previous literature (García-Cortés et al., 2010; Wright, 1922).

Firstly, the names were converted to IDs manually

before the program was executed (Figure 3).

All the outcomes were obtained by clicking the respective buttons. Figures 4, 5, 6, 7 and 8 represent the results as individuals and their parents in the rows and columns, NRM, and Wright's relationship coefficient matrix, individual inbreeding coefficient and inverse of NRM, respectively.

	A	B	C
1	Animal	Sire	Dam
2	1	0	0
3	2	0	0
4	3	0	0
5	4	0	0
6	5	1	0
7	6	2	5
8	7	4	3
9	8	7	6
10	9	7	5
11	10	8	9
12	11	10	9
13	12	10	11
14			

Figure 3. The numerical pedigree of the Comet bull after conversion.

A	B	C	D
1	ID	Animal	Sire
2	1	Alcock's bull	-
3	2	Dalton duke	-
4	3	Haughton	-
5	4	R Barker's bull	-
6	5	Favorite (cow)	Alcock's bull
7	6	Young strawberry	Dalton duke
8	7	Foljambe	R Barker's bull
9	8	Bolimbroke	Foljambe
10	9	Phoenix	Foljambe
11	10	Favorite	Bolimbroke
12	11	Young phoenix	Favorite
13	12	Comet	Favorite
14			
15			
16			
17			

Figure 2. The real pedigree of the Comet bull (García-Cortés et al., 2010; Wright, 1922).

Comet's inbreeding coefficient was found to be 0.4687. This was consonant with the findings by Garcia-Cortes et al. (2010) and Wright (1922). After computing the NRM according to Equation 2 it was recalculated with Equation 3 for Wright's Relationship Coefficient Matrix. Individual inbreeding coefficients were listed on the "InbreedingCoefficients" page (Figure 7).

In the last step, the inverse of NRM is found and shown on the page "NRMinverse" (Figure 8).

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1		0-0	0-0	0-0	0-0	1-0	2-5	4-3	7-6	7-5	8-9	10-9	10-11
2			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
3	1												
4	2												
5	3												
6	4												
7	5												
8	6												
9	7												
10	8												
11	9												
12	10												
13	11												
14	12												
15													
16													
17													

Figure 4. Placing of individual animals and their parents on NumeratorRelationshipMatrix and RelationshipCoefficientMatrix sheet.

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1		0-0	0-0	0-0	0-0	1-0	2-5	4-3	7-6	7-5	8-9	10-9	10-11
2		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
3	1	1	0	0	0	0,5	0,25	0	0,125	0,25	0,1875	0,21875	0,203125
4	2	0	1	0	0	0	0,5	0	0,25	0	0,125	0,0625	0,09375
5	3	0	0	1	0	0	0	0,5	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
6	4	0	0	0	1	0	0	0,5	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
7	5	0,5	0	0	0	1	0,5	0	0,25	0,5	0,375	0,4375	0,40625
8	6	0,25	0,5	0	0	0,5	1	0	0,5	0,25	0,375	0,3125	0,34375
9	7	0	0	0,5	0,5	0	0	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
10	8	0,125	0,25	0,25	0,25	0,25	0,5	0,5	1	0,375	0,6875	0,53125	0,609375
11	9	0,25	0	0,25	0,25	0,25	0,5	0,25	0,5	1	0,6875	0,84375	0,765625
12	10	0,1875	0,125	0,25	0,25	0,375	0,375	0,5	0,6875	0,6875	1,1875	0,9375	1,0625
13	11	0,21875	0,0625	0,25	0,25	0,4375	0,3125	0,5	0,53125	0,84375	0,9375	1,34375	1,140625
14	12	0,203125	0,09375	0,25	0,25	0,40625	0,34375	0,5	0,609375	0,765625	1,0625	1,140625	1,46875
15													
16													
17													

Figure 5. Numerator Relationship Matrix.

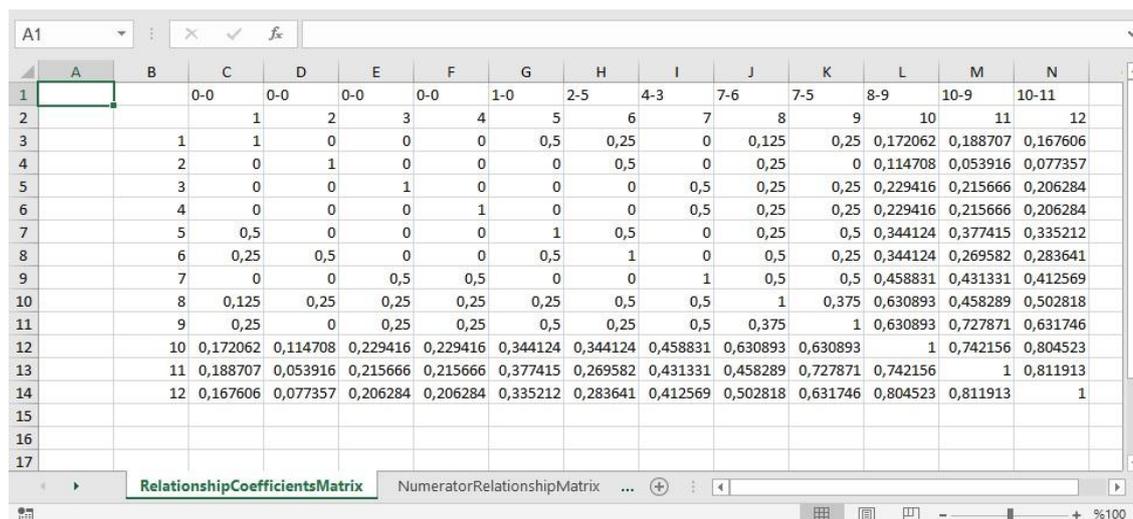


Figure 6. Wright's Relationship Coefficients Matrix.

Due to its visual components and being hosted in excel the EasyNRM is different from the other similar softwares such as PEDIG (Boichard, 2002), PyPedal (Cole, 2007), ENDOG (Gutiérrez and Goyache, 2005), Numericware N (Kim et al., 2016), CFC (Sargolzaei et al., 2006) and RELAX2 (Stranden and Vuori, 2006). These programs written in Fortran (Boichard, 2002; Stranden and Vuori, 2006), Python (Cole, 2007) and C++ (Kim et al., 2016; Sargolzaei, 2006) are available for pedigree analyses. EasyNRM shows a difference due to written in VBA. All inputs and outputs can be viewed in a single Excel workbook. Different types of data files are easily read in Excel. Whereas the majority of the others works with only a given type of data files. For example, PyPedal (Cole, 2007) and INBUPGF90 (Aquilar and Misztal, 2008) handle with ASCII formatted files for input. However, ENDOG (Gutierrez and Goyache, 2005) can use .xls files.

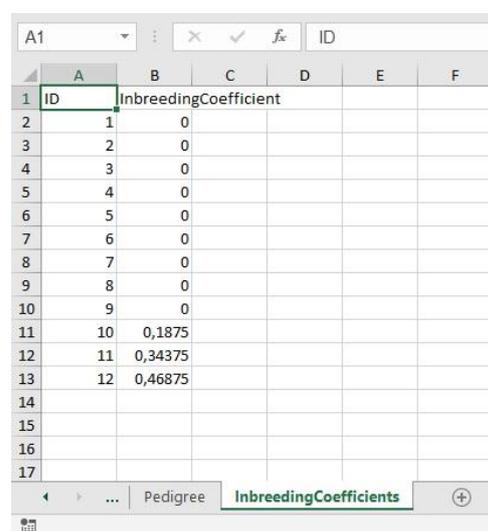


Figure 7. Inbreeding coefficients of individuals.

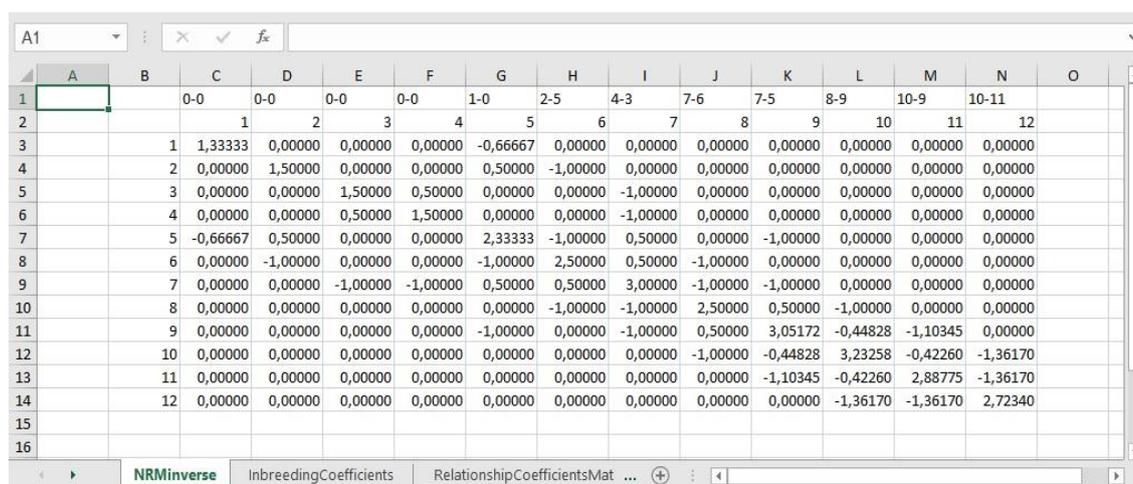


Figure 8. Inverse of NRM

EasyNRM was manufactured by using visual components of Excel VBA. Therefore, it is easy to use by the users relative to above mentioned programs. Especially, beginners can learn and operate this program with relative ease. In addition, Excel

functionality gives some possibilities to extend the software. For example, Excel's MInverse function can be used to find the inverse of NRM, without extra codes.

CONCLUSION

EasyNRM is user friendly and can be applied to plant and human pedigrees besides animals. It has also potential as a component for using in any software incorporating BLUP subroutines. It would be useful for the researchers interested with statistical mixed models, breeders who want to develop the successful mating strategies for their herds and the students of population genetics. The EasyNRM is free of charge. The software, Comet's pedigree sample, and instruction video are available from the www.sametcinkaya.com.

REFERENCES

- Aguilar I, Misztal I 2008. Recursive algorithm for inbreeding coefficients assuming nonzero inbreeding of unknown parents. *Journal of Dairy science*, 91(4): 1669-1672.
- Bıykoğlu MK 1973. Hayvancılıkta Uygulanan Yetiştirme Sistemleri (in Turkish). Erzurum, Turkey: Atatürk Üniversitesi Yayınları.
- Boichard D 2002. PEDIG: A Fortran package for pedigree analysis suited for large populations. *Proceedings of the 7th world congress on genetics applied to livestock production*, Montpellier, France.
- Bourdon RM 2013. *Understanding Animal Breeding* 2nd ed. Pearson Education Limited, Essex, England.
- Cole JB 2007. PyPedal: A computer program for pedigree analysis. *Computers and Electronics in Agriculture*, 57 (1): 107-113. Doi: 10.1016/j.compag.2007.02.002
- Cruden D 1949. The computation of inbreeding coefficients for closed populations. *Journal of Heredity*, 40 (9): 248-251.
- Emik LO, Terrill CE 1949. Systematic procedures for calculating inbreeding coefficients. *Journal of Heredity*, 40 (2): 51-55. doi: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a105986
- García-Cortés LA, Martínez-Ávila JC, Toro MA 2010. Fine decomposition of the inbreeding and the coancestry coefficients by using the tabular method. *Conservation Genetics*, 11 (5): 1945-1952. doi: 10.1007/s10592-010-0084-x
- Gutiérrez JP, Goyache F 2005. A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 122 (3): 172-176. Doi: 10.1111/j.1439-0388.2005.00512.x
- Henderson CR 1976. A simple method for computing the inverse of a numerator relationship matrix used in prediction of breeding values. *Biometrics*, 32 (1): 69-83. Doi: 10.2307/2529339
- Kaygısız A, Kösetürkmen E 2011. İsviçre Esmeri Sığırlarda Akrabalı Yetiştirme Düzeyi ve Akrabalı Yetiştirilmenin Süt Verim Özellikleri Üzerine Etkileri (in Turkish). *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 14(2): 1-6.
- Kerr RJ, Li L, Tier B, Dutkowski GW, McRae TA 2012. Use of the numerator relationship matrix in genetic analysis of autopolyploid species. *Theoretical and Applied Genetics*, 124 (7): 1271-1282. Doi: 10.1007/s00122-012-1785-y
- Kim B, Beavis WD, Léon J 2016. Numericware N: numerator relationship matrix calculator. *Journal of Heredity*, 107 (7): 686-690. Doi: 10.1093/jhered/esw057
- Legates JE, Warwick EJ 1990. *Breeding and Improvement of Farm Animals*. McGraw Hill Inc, New York, USA.
- Lush JL 2011. *Animal breeding plans* (Second Edition). Breiningsville, PA USA.
- Nicholas F 2010. *Introduction to Veterinary Genetics*. 1st ed. Wiley-Blackwell, Singapore.
- Sargolzaei M, Iwaisaki H, Colleau JJ 2006. CFC: A tool for monitoring genetic diversity. 8th World Congress Genetics Applied Livestock Production, Belo Horizonte, Brazil.
- StackOverflow-community, Test or check if sheet exists, <https://stackoverflow.com/questions/6688131/test-or-check-if-sheet-exists>, 2019.
- Strandén I, Vuori K 2006. Relax2: pedigree analysis programme. In *Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 13-18 August, 2006 (pp. 27-30). Instituto Prociência.
- Tekerli M 2018. Pedigri Yıldızı, Excel based unpublished pedigree software.
- Tier B 1990. Computing inbreeding coefficients quickly. *Genetics Selection Evolution*, 22 (4): 419-430. Doi:10.1186/1297-9686-22-4-419
- VanRaden PM 1992. Accounting for inbreeding and crossbreeding in genetic evaluation of large populations. *Journal of Dairy Science*, 75(11): 3136-3144.
- Van Vleck LD, Pollak EJ, Oltenacu EA 1987. *Genetics for the Animal Sciences*. W.H. Freeman and Company, New York, USA.
- Wright S 1922. Coefficients of Inbreeding and Relationship. *The American Naturalist* 56 (645): 330-338. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/2456273>
- Yazgan K 2018. RE-NUM-OR: Python-based renumbering and reordering software for pedigree files. *Czech Journal of Animal Science*, 63(2): 70-77.

The Effects of Progesterone and Estrogen Hormone Levels on Some Reproductive Characteristics of The Akkaraman Sheep

Afşin KOCAKAYA^{1*}, Ceyhan ÖZBEYAZ²

Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-2023-8895>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3748-9992>

✉: akocakaya@ankara.edu.tr

ABSTRACT

In this study, progesterone and estrogen hormone levels of Akkaraman (White Karaman/WK) sheep and their effects on some reproductive traits were investigated. The data obtained, from 31 ewes, as 90.32% for lambing, 53.57% for a single birth, 46.42% for twinning, 132.25% for lamb production and 1.46 for litter size. Between the first and second estrus, progesterone levels were found to be between 3.69-12.20 ng/ml for singles and 3.04-10.44 ng/ml for twins; estrogen levels were determined to be between 39.40-84.03 pg/ml for singles and 52.44-72.77 pg/ml for twins. The equivalent values at anestrus period of progesterone were 0.20-10.20 ng/ml, and estrogen levels were 6.30-169.60 pg/ml. The effects of birth type on estrogen level were not-significant, while progesterone levels were determined to be significant on the second and third days before the second estrus ($P<0.05$ and $P<0.001$). In conclusion, least square means and standard errors and differences between maximum and minimum progesterone hormone levels were similar to those of prolific breeds. Estrogen levels were found lower than prolific breeds but were higher than non-prolific breeds. Therefore, Akkaraman breed can be foreseen as a combine prolific breed.

Research Article

Article History

Received : 27.06.2019

Accepted : 21.08.2019

Keywords

Akkaraman (White Karaman)

Sheep

Estrogen

Progesterone

Reproductive Traits

Akkaraman Koyunlarının Bazı Üreme Özellikleri Üzerine Progesteron ve Östrojen Hormon Seviyelerinin Etkileri

ÖZET

Bu çalışmada, Akkaraman koyunlarının üreme döneminde progesteron ve östrojen hormon düzeylerini ve bu hormonların bazı üreme özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. İncelenen 31 baş koyunda doğum oranı %90.32; tek doğum oranı %53.57; ikizlik oranı %46.42; kuzu verimi %132.25 ve tek doğuma kuzu oranı ise 1.46 olmuştur. Birinci ikinci östrus arası progesteron seviyeleri tek doğuran koyunlarda 3.69-12.20 ng/ml; ikiz doğuran koyunlarda 3.04-10.44 ng/ml; östrojen miktarları tek doğuran koyunlarda 39.40-84.03 pg/ml ve ikiz doğuran koyunlarda 52.44-72.77 pg/ml olarak bulunmuştur. Progesteronun anöstrus dönemindeki seviyesi 0.20-10.20 ng/ml; östrojenin 6.30-169.60 pg/ml olmuştur. Östrojen hormonunun doğum tipi üzerine etkisi önemsiz; progesteron seviyelerinin ikinci östrüstan önceki ikinci ve üçüncü günlerde doğum tipine etkisinin önemli olduğu ($P<0.05$ ve $P<0.001$) tespit edilmiştir. Sonuç olarak, progesteron hormonunun ortalama değerleri ile maksimum ve minimum değerleri arasındaki farklılık prolific ırklara benzerlik göstermektedir. Östrojen hormonu seviyeleri prolific ırklardan düşük, prolific olmayan ırklardan yüksek olmuştur. Bu nedenle Akkaraman ırkının kombine verimli prolific bir ırk olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 27.06.2019

Kabul Tarihi : 21.08.2019

Anahtar Kelimeler

Akkaraman

Koyun

Östrojen

Progesteron

Üreme Özellikleri

INTRODUCTION

Sheep breeding is an important production field and common in many countries, which have arid climate conditions and wide pastures. With the advantage of characteristic traits of species, sheep breeding is highly profitable in low-quality pastures. Sheep is livestock with good adaptability, easy handling, and low costs. Moreover, sheep can provide most of its nutritional needs from pasture (Akçapınar, 2000).

Although sheep breeding has an important place in Turkey's livestock sector, a vast majority of the sheep breeds are native breeds with a low efficiency like WK. It is important for Turkey to conduct some research to improve the yields of these native breeds, and develop new genotypes with high efficiency and to ensure sustainable small ruminant production (Atasoy et al., 2003; Ünal et al., 2003; Ünal et al., 2004).

WK sheep is a multipurpose, fat-tailed, indigenous breed growing in the semi-arid continental climate conditions in Central Anatolia. The purpose of this study was to determine the levels of the progesterone and estrogen hormones along with the natural estrous cycle and investigate the relationship between reproductive characteristics and steroid hormones (progesterone and estrogen) of the WK sheep.

MATERIALS AND METHODS

The research approved by Ankara University Animal Experiments Local Ethics Committee (dated 11/04/2012, decree number 2012-8-54).

Animals and experimental design

This research was conducted in 2012-2013 at the Gözlü State Farm (38° 29' N - 32° 27' E) in Turkey. Thirty-one WK ewes in heat with different ages (2; 3; 4 and 5) were selected from the elite flocks by using teaser rams, and they did not mate until the second estrus. The ewes were selected in three days at the beginning of the mating season. All of the ewes were monitored by rams twice a day for 12 days from the first estrus, and they mated when in heat. The blood samples were collected daily from the first estrus to the fifth day after the second estrus. The blood samples (10 ml) were taken twice again from the same ewes in the 4th month of lactation which is an anestrus period.

Sampling and obtaining data

Total of 629 X 10 ml (6.290 ml) blood samples were taken from the jugular vein into tubes and the samples were centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes to the obtained serum (Bartlewski et al., 1998). The samples were stored at -80°C until the analysis of the progesterone and estrogen hormone levels (Tworoger et al., 2006).

The time between the 1st and the 2nd estrus calculated as the estrus cycle length. The birth of sheep was

monitored and the days between the conception and the birth were calculated as the gestation period (Ünal and Akçapınar, 1994; Ünal et al., 2006a). The lambing rate, fertility, single and twin birth rates and the litter size of the ewes were determined. The progesterone and estrogen levels of the serum were determined by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Ali et al., 2006; Haliloğlu and Serpek, 2000; Sulu et al., 1988).

Statistical Analysis

The obtained data were compared by birth type groups. The t-test was used to analyse the data of the progesterone and the estrogen levels (STATA 12/MP4).

RESULTS

Reproductive Characteristics

At the lambing season, 28 ewes gave birth, and three ewes remained infertile. The means for reproductive traits were obtained as 90.32% for the lambing rate, 53.57% for the single birth rate, 46.42% for the twinning rate, 132.25% for the lamb production and 1.46 for the litter size. The average gestation period by the type of birth was determined as 149.92±0.43 days for the single lambing ewes and 150.63±0.24 days for the twin lambing ewes. Similarly, the average estrous cycle duration by birth type was determined as 14.57±0.35 for the single lambing ewes and 16.00±0.33 for the twin lambing ewes.

Progesterone and Estrogen Hormone Levels

The progesterone and estrogen levels of the WK ewes were analysed during the estrus and anestrus period by type of the birth.

As a result of the ELISA tests, the hormone levels of progesterone and oestrogen could not be determined on some days. This situation could have resulted from the problems in the samples. For this reason, there were differences in the numbers of the animals according to the sample collection days.

The progesterone hormone levels according to the type of birth on the six-day period before the second estrus and the importance of the controls between the groups are given in Table 1. During all examination days, except for the 6th day before the second estrus, the levels of the progesterone of the single lambing ewes were found higher than the twin lambing ewes. However, the differences between the levels of the progesterone on the days second and 3rd before the second estrus were found statistically significant ($P<0.05$; $P<0.001$). The levels of progesterone were higher in the single lambing ewes than those of the twin lambing ewes on the 2nd and third days before the second estrus.

The estrogen hormone levels of ewes were determined in 11 days (six days before the second estrus, on the

day of second estrus and four days after the second estrus). As a result of the analyses, it was found that the effect of type of birth on the levels of estrogen was significant ($P < 0.05$) on the 4th day after the second estrus, but was not significant on all other days. The statistics for estrogen hormone were given in Tables 2 and 3, respectively. The amount of the estrogen does not follow a regular pattern by type of birth.

Assuming that sheep in lactation was in anestrus, the research material for the hormone analysis of the anestrus period was sampled twice in a total of 27 heads in 24 hours in June 2013. The hormone levels of the progesterone and estrogen were detected to be between 0.20-10.20 ng/ml and 6.30-239.60 pg/ml, respectively.

Table 1. Average progesterone levels \pm standard error in the days before the second oestrus by birth type (ng ml)

Birth Type	Days ^a											
	- 6	- 5	- 4	- 3	- 2	- 1						
	n	n	n	n	n	n						
Single ^b	15	7.80 \pm 1.71	12	11.18 \pm 2.76	13	11.53 \pm 2.85	15	12.20 \pm 2.72	15	8.92 \pm 2.50	15	3.69 \pm 1.31
Twin ^c	11	9.96 \pm 2.69	12	10.44 \pm 2.81	12	10.00 \pm 2.22	12	6.80 \pm 1.45	12	2.60 \pm 0.67	12	3.04 \pm 1.99
P	-	-	-	-	*	-	-	-	***	-	-	-

^a Six days period before the second oestrus.; ^b Single lambing ewes.; ^c Twin lambing ewes.

Table 2. Average Oestrogen levels \pm standard error in the days before the second oestrus by birth type (pg ml)

Birth Type	Days ^a											
	-6	-5	-4	-3	-2	-1						
	n	n	n	n	n	n						
Single ^b	6	43.98 \pm 17.6	1	84.03 \pm 26.9	1	83.47 \pm 20.7	1	78.54 \pm 24.7	1	79.33 \pm 37.9	1	39.40 \pm 10.8
Twin ^c	6	62.95 \pm 32.2	1	72.68 \pm 32.1	1	72.77 \pm 33.7	1	52.44 \pm 15.8	1	54.17 \pm 23.0	1	56.54 \pm 29.8
P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^a Six days period before the second oestrus.; ^b Single lambing ewes.; ^c Twin lambing ewes.

Table 3. Average Oestrogen levels \pm standard error on the second oestrus and four days after the second oestrus by birth type (ng ml)

Birth Type	Days ^a									
	2 nd Oestrus	1	2	3	4					
	n	n	n	n	n					
Single ^b	15	69.33 \pm 31.60	14	46.12 \pm 17.98	14	58.50 \pm 23.00	12	50.34 \pm 17.47	12	81.47 \pm 35.27 ^A
Twin ^c	10	97.57 \pm 47.66	11	68.72 \pm 36.21	13	56.27 \pm 33.17	11	65.54 \pm 28.98	8	38.66 \pm 8.39 ^B
P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*

^a Second oestrus day and four days period after the second oestrus.; ^b Single lambing ewes.; ^c Twin lambing ewes.

DISCUSSION

Reproductive Characteristics

The average gestation periods for this study were 149.92 \pm 0.43 for the single lambing ewes and 150.63 \pm 0.24 days for the twin lambing ewes. These values were close to the gestational periods that were reported before for the WK sheep (Akçapınar and Kadak, 1982; Ünal et al., 2006a), similar to the values determined for the WK crossbreeds (Ünal et al., 2006a) as between 144-152 days (Akçapınar, 2000) which were reported for sheep breeds. The effect of birth type on gestation period was found non-significant. This situation does not overlap with a prior report that mentions the increasing the number of offspring that leads to a decrease in the duration of the gestation period (Güler, 2007); this could be due to the numbers of animals in the groups.

The average estrus cycle lengths were determined as

14.57 \pm 0.35 days for the single lambing ewes and 16.00 \pm 0.33 days for the twin lambing ewes. While these values were lower than previous ones for the WK and its crossbreeds (Ünal et al., 2006a). They were also among the values that were reported for the sheep species which are 14-19 days (Akçapınar, 2000).

In this study, the estrus cycle lengths, which varied between 13-18 days, were shorter than those of given for Bafra sheep (15-21 days) (Özarslan, 2014). This situation may be related to the insufficient luteinisation and the shorter lifespan of Corpus Luteum (CL) (Bartlewski et al., 2011). Similar to the earlier reports, the effect of birth type on the estrus cycle was not significant (Özarslan, 2014). A previous study showed that there was a negative correlation between the cycle length and litter size (Özarslan, 2014). In this study, despite the estrus cycle being not affected by birth type, the lengths of the estrus cycle of

the twin lambing ewes were longer than those of the single lambing ewes. It indicates that the single and multiple births were occurring independently of the estrous cycle length.

The determination of the gestation period and estrous cycle length according to breeds would be useful for some management applications in sheep breeding such as the determining the mating time, practising of flushing, detection of the second mating time, the timing of gestation applications, and determination of the lambing season in the flock.

The results of this study showed that the birth rate (90.32%) was higher than the earlier studies of the WK sheep (Akçapınar et al., 1982; Ünal et al., 2006a; Yakan et al., 2012), and it was lower than the value reported by Akçapınar et al., (Akçapınar et al., 2000). Moreover, it is among the values that were reported in some studies (Çolakoğlu and Özbeyaz, 1999; Tekerli et al., 2002). Lamb production (132.25%), which was the most critical reproductive output, was higher than the values in the earlier results (Akçapınar et al., 1982; Çolakoğlu and Özbeyaz, 1999; Yakan et al., 2012) and similar to Büyüktekin and Öztürk (2018)'s findings. The single birth rate (53.57%) was lower than the values reported in other studies (Akçapınar et al., 2000; Tekerli et al., 2002; Yakan et al., 2012). The twinning rate (46.42%) was similar to the earlier results (Çolakoğlu and Özbeyaz, 1999), and it was higher than the values reported in some studies (Tekerli et al., 2002; Yakan et al., 2012). Also, it was higher than the general values for WK and its crossbreeds reported by Akçapınar et al., (2000). The litter size (1.46) was higher than the values of the various studies for WK and its crossbreeds (Akçapınar et al., 1982; Akçapınar et al., 2000; Tekerli et al., 2002; Ünal et al., 2006b; Yakan et al., 2012). Furthermore, it was similar to the earlier reports (Çolakoğlu and Özbeyaz, 1999) and lower than the values reported for the WK crossbreeds (Ünal et al., 2006b).

The lamb production, twinning rate and litter size in this study were found higher than other studies. This situation would be as a result of the animal material of this study, which was selected from the elite flock at the Gözlü state farm.

Progesterone Levels

The mean progesterone levels on the six-day period before the second oestrus were analyzed by the birth type groups. The levels of progesterone were significantly higher in the single lambing ewes than twin lambing ewes on the 2nd and third days, before the second oestrus. This was opposite to Haliloglu and Serpek, (2000)'s findings for the Merino sheep. However, Canoğlu and Sarıbay, (2012) reported that the high progesterone levels suppress the growth of seconder and graafian follicles. As a consequence, in this study, a high level of progesterone was required

for the low amount of ovum development. Also, Bartlewski et al., (2017) reported that the progesterone injections decreased the ovulation rate in prolific ewes.

According to Goodman and Inskeep, (2015), the ovulatory follicles of the twin ovulations need more days for maturing than the single ovulations and twin ovulations occurring due to the reducing of the atresia of smaller and larger follicles. This situation was related to the penultimate and last follicular development. While the large follicles developing on the penultimate wave were retained, the small follicles on the last wave reach the ovulatory size and competence. Then both were ovulated. More follicles ovulated from the penultimate wave in the ewes with lower progesterone levels. Bartlewski et al., (2011) reported that the high ovulation rate in some prolific breeds might be related to follicles in the last two follicular waves, and that prolific breeds had lower progesterone levels than non-prolific breeds. Moreover, the prolific breeds have more but a smaller CL. Likewise, Johnson et al., (1996) found that the lower levels of progesterone increased the ovulation rate.

The rate of ovulation was affected by hormonal, genetic and environmental factors. The most critical hormonal effect on the ovulation rate is progesterone; lower progesterone levels increase the ovulation rate independent of nutritional management (Goodman and Inskeep, 2015). In some studies which were investigated, the lower progesterone effects on the ovulation rate reported that lower progesterone levels increased the ovulation rate (Johnson et al., 1996) and the prolific breeds had lower progesterone levels compared to the non-prolific breeds (Bartlewski et al., 1999). Another study reported that the lower progesterone levels resulted in more ovulation by ensuring the continuity of the previous follicles, but increasing the ovulation rates did not lead to an increase in the number of lambs. In the same study, it was reported that oocytes from the penultimate wave were old and they had an inability for the fertilization or an embryonic development like cattle. Additionally, it was reported that the litter size could be limited with the uterus capacity (Devonish et al., 2009). However, in this study, the twin lambing ewes have lower progesterone levels, and the difference between the progesterone levels was found statistically significant on 2nd and third days before the second estrus ($P < 0.05$, $P < 0.001$). Because the WK breed was medium-sized and also slightly bigger than medium-sized breeds, it was considered that there will not be a problem with the uterine capacity. Eventually, this kind of problem did not occur in this study.

The progesterone levels during the period that starts six days before the second estrus ranged between 2.60-12.20 ng/ml and during the estrous cycle between 0.20-39.50 ng/ml. Values in this study were higher than the progesterone levels determined before as 0.10-2.00

ng/ml by Karagül et al., (1999) and similar with the progesterone levels determined before as 0.02–6.17 ng/ml by Arsoy and Sağmanlıgil (2018) for the WK sheep and various studies (Ali et al., 2006; Ali and Hayder, 2008; Coelho et al., 2006; Cunningham et al., 1975; Haliloğlu and Serpek, 2000; Seekallu et al., 2010) that were conducted on non-prolific breeds. They found similar mean progesterone levels reported in various studies (Mitchell et al., 1999; Özarslan, 2014; Sulu et al., 1988) on prolific breeds.

Goodman and Inskeep, (2015) reported that fluctuations in progesterone hormone levels in the estrus cycle did not change between breeds, but the maximum progesterone levels can be changed. Accordingly, it was considered that the high progesterone levels determined in this study could be specific for the WK breed.

The average amount of progesterone determined in the present study was higher than the reported values of 0.10-2.00 ng/ml for WK determined by Karagül et al., (1999). It could be because of the difference in the origins of animals, numbers of animals and trial procedures.

In summary, the mean levels and the differences between the minimum and maximum values of the progesterone levels were similar to the prolific breeds. Also, the mean levels of progesterone were higher than those of the non-prolific breeds.

Estrogen Levels

For the estrogen level analyses, blood samples were collected six days before the second estrus, on the day of the second estrus and four days after the second estrus. As a result of the analyses, the effect of type of birth on the estrogen levels was significant only on the 4th day after the second estrus.

The oestrogen levels showed a certain fluctuation on the days when it was measured (Goodman and Inskeep, 2015). The level of estrogen fell on the day before the second estrus and peaked on the day of the second estrus and then began to decrease. With that, on the 2nd day after the second estrus, estrogen started to rise again (Özarslan, 2014).

During the test days, the estrogen levels varied between 38.66-97.57 pg/ml. These values were found out to be close to the mean values (20.00-60.00 pg/ml) that were determined by Karagül et al., (1999) and higher than the estrogen levels determined before as 3.50-8.42 pg/ml by Arsoy and Sağmanlıgil (2018) for WK sheep, higher than the estrogen levels reported in various studies (Bartlewski et al., 1999; Haliloğlu and Serpek, 2000; Seekallu et al., 2010) and lower than the mean estrogen levels reported for Bafra sheep (Özarslan, 2014).

Johnson et al., (1996) reported that the ewes with high levels of estrogen before mating failed to conceive

compared to the ewes with low concentrations of estrogen. It could be due to the effect of the high levels of estrogen on the oocyte development in all pre-ovulatory follicles or alter function in the oviduct and uterus. In the present study, on the six-day period before the second estrus progesterone and estrogen levels were higher in the single lambing ewes than in the twin lambing ewes.

This study indicates that the lower progesterone levels are necessary to increase the ovulation rates and low levels of progesterone with lower estrogen levels are essential for increasing the number of lambs.

Progesterone and Estrogen Levels during Anestrus

The mean levels of progesterone and estrogen were detected as 1.60 ng/ml and 45.14 pg/ml, respectively in the samples taken twice at a 24-hour interval during the anestrus period. When these values were compared to those of estrus period, the mean level of the anoestrus progesterone was lower than the estrus levels, and the estrogen level was similar to the oestrus levels.

The mean levels of progesterone in the anoestrus period were lower than the mean levels for Western-White Faced sheep (Bartlewski et al., 1998) and Santa Inês sheep (Coelho et al., 2006). Those were between the levels of progesterone detected in autumn, winter and spring for Ossimi sheep (Ali et al., 2006) and these were similar to the Bafra sheep anoestrus progesterone levels (Özarslan, 2014).

While the level of oestrogen in the anestrus period was higher than Western-White Faced sheep (Bartlewski et al., 1998), it was similar to levels of Bafra sheep (Özarslan, 2014).

In this study, some sheep in the anestrus period have similar levels of hormones in the oestrus period and have similar levels of hormones with prolific Bafra sheep which was known to show estrus throughout a year. It suggests that the Akkaraman sheep could show estrus during a year.

To conclude, the estrus cycle length and the gestation period for the single lambing ewes were determined to be 14.57±0.35 and 149.92±0.43 days, respectively. Similarly, the estrus cycle length and the gestation period for the twin lambing ewes were determined to be 16.00±0.33 and 150.63±0.24 days, respectively. This data would be useful for the management practices in sheep breeding.

The reproductive hormone levels were determined in this study and the effect of birth type on estrogen (except the 4th day after the second estrus) was not found significant ($P>0.05$). It is important that the difference between the minimum and maximum values of progesterone was higher than those of non-prolific breeds in general, similar to the values reported in the prolific breeds, and that the levels of estrogen are lower

but more similar to the prolific breeds. This situation indicates that the WK breed needs to be investigated for prolificacy.

The levels of progesterone were higher in the single lambing ewes as compared to the twin lambing ewes, and were found statistically significant on second and third days before the second estrus ($P < 0.05$, $P < 0.001$). It suggests that there would be a negative relationship between the levels of progesterone and the twinning rate.

The similarity between the anoestrous and estrous progesterone levels and the resemblance of the progesterone levels with yearlong to polyoestrous breeds was an essential finding of the present study. This situation indicates that the ability of the WK breed to show estrus in the anoestrus period should be investigated. It is essential to study the ability of the breed to show estrus through the year under natural conditions and to examine the possibility of three lambing in two years.

In conclusion, this study indicates that the low progesterone levels with the low oestrogen levels on oestrus cycle result with multiple births. It could be used in selection for increasing twin births. Additionally, the Akkaraman sheep could be utilised as a prolific breed.

ACKNOWLEDGEMENTS

This article was produced from the PhD thesis of the first author with the consultancy of the second author and the study was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey-TUBITAK (project number: 1120342). An oral presentation produced from the same thesis titled "Investigation of Some Reproductive Characteristics and Progesterone Levels of Akkaraman Sheep" was presented at the International Congress on Advances in Veterinary Sciences & Technics (ICAVST) in Bosnia and Herzegovina and printed as full text in Book of Abstracts p:218-224, 24-29th August 2016.

REFERENCES

- Akçapınar H 2000. Koyun Yetiştiriciliği 2. Baskı, ISBN: 975-96978-1-5, TR: İsmat matbaası.
- Akçapınar H, Kadak R 1982. The effects of some factors on the duration of pregnancy and birth weight in Akkaraman and Morkaraman sheep breeds. *Vet J Ankara Univ* 29: 392-400.
- Akçapınar H, Kadak R, Odabaşoğlu F 1982. Comparative investigations on fertility and milk yield of Morkaraman and Kangal-Akkaraman sheep, *Vet J Ankara Univ* 29: 379-391.
- Akçapınar H, Özbeyaz C, Ünal N, Avci M 2000. The possibilities of developing dam and sire lines using Akkaraman, Sakız and Kıvırcık sheep breeds for lamb production I. Fertility in Akkaraman sheep, survival rate and growth characteristics of Sakız x Akkaraman F₁ and Kıvırcık x Akkaraman F₁ Lambs, *Turk J Vet Anim Sci* 24: 71-79.
- Atasoy F, Ünal N, Akçapınar H, Mundan D 2003. Some production traits of Karayaka and Bafra (Chios x Karayaka B₁) sheep. *Turk J Vet Anim Sci* 27: 259-264.
- Ali A, Derar R, Hussein H 2006. Seasonal variation of the ovarian follicular dynamics and luteal functions of sheep in the subtropics. *Theriogenology* 66: 463-469.
- Ali A, Hayder M 2008. Seasonal variation of reproductive performance, foetal development and progesterone concentrations of sheep in the subtropics. *Reprod Domest Anim* 43: 730-734.
- Arsoy D, Sağmanlıgil V 2018. Reproductive cycles in white Karaman ewes: comparison of ovarian hormone secretion and reproductive behavior in non-pregnant and pregnant ewes in semi-intensive conditions. *Acta Scientiarum* 10.4025/actascianimsci.v40i1.39908.
- Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Rawlings NC 1998. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *J Reprod Fertil* 113: 275-285.
- Bartlewski PM, Baby TE, Giffin JL 2011. Reproductive cycles in sheep. *Anim Reprod Sci* 124: 259-268.
- Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Chandolia RK, Honaramooz A, Rawlings NC 1999. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *J Reprod Fertil* 115: 11-124.
- Bartlewski PM, Sohal J, Paravinja V, Baby T, Oliveira MEF, Murawski M, Schwarz T, Zieba DA, Keisler DH 2017. Is progesterone the key regulatory factor behind ovulation rate in sheep? *Domest Anim Endocrin* 58: 30-38.
- Büyüktekin M, Öztürk A 2018. Effects of some factors on reproduction performance of Akkaraman sheep in breeder flocks in Konya province, Turkey. *Selcuk J Agr Food Sci*, 31 (1): 87-90.
- Canoğlu E, Sarıbay K 2012. Üreme kanalı morfolojisi ve üreme fizyolojisi. (Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji TR: Medipres: Ed. Semecan A, Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A) 521-548.
- Coelho LA, Rodrigues PA, Nonaka KO, Sasa A, Balieiro JCC, Vincente WRR, Cipolla-Neto J 2006. Annual pattern of plasma melatonin and progesterone concentrations in hair and wool ewe lambs kept under natural photoperiod at lower latitudes in the southern hemisphere. *J Pineal Res* 41: 101-107.
- Cunningham NF, Symons AM, Saba N 1975. Levels of progesterone, LH and FSH in the plasma of sheep during the oestrous cycle. *J Reprod Fertil* 45: 177-180.
- Çolakoğlu N, Özbeyaz C 1999. Comparison of Some Production Traits in Malya and Akkaraman Sheep.

- Turk J Vet Anim Sci 23: 351-360.
- Devonish EH, Knights M, Inskoop EK 2009. Effect of expected peripheral concentrations of progesterone on ovulation rate and litter size in Barbados blackbelly ewes. *Sheep goat res. j.* 24: 17-25.
- Goodman RL, Inskoop EK 2015. Control of the ovarian cycle of the sheep. (Knobil and Neill's Physiology of Reproduction Fourth Edition Volume 2. London, UK: Elsevier: Ed. Plant TM, Zelenik AJ) 1259-1305.
- Güler M 2007. Gebelik fizyolojisi. (Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. TR: Medisan: Ed. Alaçam E) 99-108.
- Haliloğlu S, Serpek B 2000. The effects of plasma vitamin c and ceruloplasmin levels and exogenous vitamin c supplementation on reproduction in sheep. *Turk J Vet Anim Sci* 24: 403-411.
- Johnson SK, Sailey RA, Inskoop EK, Lewis PE 1996. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domest Anim Endocrin* 13: 69-79.
- Karagül H, Sallmann HP, Fidancı UR, Sel T, Çelik S, Vural R, Önal A, Ünal N 1999. The effect of vitamin E and selenium deficiency on the reproductive hormones and antioxidative systems in akkaraman Sheep. *Proceedings of Deutsch-Türkische Agrarforschung-6. Symposium, 383-388 Giessen, Germany.*
- Mitchell LM, King ME, Aitken RP, Gebbie FE, Wallace JM 1999. Ovulation, fertilization and lambing rates, and peripheral progesterone concentrations, in ewes inseminated at a natural oestrus during November or February. *J Reprod Fertil* 115: 133-140.
- Özarlan B 2014. Investigation of reproduction traits in bafra sheep breeding. Ankara University, Graduate School of Health Science, PhD, Ankara, Turkey.
- Seekallu SV, Toosi BM, Duggavathi R, Barrett DMW, Davies KL, Waldner C, Rawlings NC 2010. Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: comparison among oestrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology* 73: 670-680.
- Sulu N, Özsar S, Güven B 1988. Determination of progesterone levels in blood sera in Sakız sheep by use of EIA. *Vet J Ankara Univ* 35: 209-217.
- Tekerli M, Gündoğan M, Akinci Z, Akcan A 2002. Determination of production characteristics of Akkaraman, Daglic, Chios and Awassi sheep in the conditions of Afyon Province I. Fertility and survival rate. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 42: 29-36.
- TwoRoger SS, Hankinson SE 2006. Collection, processing and storage of biological samples in epidemiologic studies: sex hormones, carotenoids, inflammatory markers and proteomics as examples. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 15: 1578-1581.
- Ünal N, Akçapınar H. Behavior in sheep 1994. *Bahri Dağdaş Hay. Araşt. Derg.* 4: 113-123.
- Ünal N, Atasoy F, Akçapınar H, Erdoğan M 2003. Fertility traits, survival rate and growth characteristics of Karayaka and Bafra (Chios x Karayaka B₁) Genotypes. *Turk J Vet Anim Sci* 27: 265-272.
- Ünal N, Akçapınar H, Atasoy F, Koçak S, Aytaç M 2004. The body weight and fleece traits of White Karaman, Chios x White Karaman F₁, B₁, Kıvırcık x White Karaman F₁, B₁, Karayaka and Bafra Sheep. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 44: 15-22.
- Ünal N, Aytaç M, Koçak S, Erol H 2006a. Some of the reproduction characteristics in various local pure and crossbred sheep genotypes. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 46: 45-57.
- Ünal N, Akçapınar H, Atasoy F, Aytaç M 2006b. Some reproductive and growth traits of crossbred genotypes produced by crossing local sheep breeds of kıvırcık x white karaman and chios x white karaman in steppe conditions. *Archiv Tierzucht* 49: 55-63.
- Yakan A, Ünal N, Dalci MT 2012. Reproductive traits, growth and survival rates of akkaraman, awassi and kıvırcık sheep breeds in Ankara conditions. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 52: 1-10.

Path Analysis of the Relationship Between Weaning Weight and Some Morphological Traits in Awassi Lamb

Sabri GÜL¹, Mahmut KESKİN¹, Yusuf Ziya GÜZEY¹, Sedat BEHREM², Zühal GÜNDÜZ¹

^{1,2,3,5}Hatay Mustafa Kemal University, Agricultural Faculty, Department of Animal Science, Antakya-Hatay, Turkey, ⁴Lalahan International Centre for Livestock Research and Training, Ankara, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-6787-8190>, ²<https://orcid.org/0000-0002-8147-2477>, ³<https://orcid.org/0000-0002-4900-6038>,

⁴<https://orcid.org/0000-0003-7351-1229>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-1427-1501>

✉: sabrigul@gmail.com

ABSTRACT

In this study, Path analysis was used to determine the direct and indirect effects of some morphological traits such as wither height, sacrum height, body length, chest depth, chest girth and chest width on the weaning weight of sheep. The data was obtained from 200 heads of Awassi lambs raised in Gaziantep province. The results of the path analysis indicated that the variants of sacrum height and body length sustained the most significant effect on the weaning weight. Consequently, chest girth and body length were the most favorable measurements to estimate weaning weight in Awassi and could be used as a reliable criteria for practical selection in Awassi lambs.

Research Article

Article History

Received : 29.04.2019

Accepted : 18.07.2019

Keywords

Path analysis
Weaning weight
Body measurements
Awassi

İvesi Kuzularında Sütten Kesim Ağırlığı ve Bazı Morfolojik Özellikler Arasındaki İlişkinin Path Analizi

ÖZET

Bu çalışmada, koyunların sütten kesim ağırlığı üzerine sağrı yüksekliği, cidago yüksekliği, vücut uzunluğu, göğüs derinliği, göğüs çevresi gibi bazı morfolojik özelliklerin doğrudan ve dolaylı etkilerini belirlemek amacıyla path analizi kullanılmıştır. Çalışmanın verileri, Gaziantep ilinde yetiştirilen 200 baş İvesi kuzulardan elde edilmiştir. Path analiz sonuçlarına göre, cidago yüksekliği ve vücut uzunluğu değişkenlerinin İvesi kuzularında sütten kesim ağırlığı üzerinde önemli etkiye sahip olduğu ve göğüs çevresi ve vücut uzunluğunun İvesi kuzularında sütten kesim ağırlığını tahmin etmede en uygun ölçümler ve pratik seçim için güvenilir bir kriter olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 29.04.2019

Kabul Tarihi : 18.07.2019

Anahtar Kelimeler

Path analizi
Sütten kesim ağırlığı
Vücut ölçüleri
İvesi

To Cite : Gül S, Keskin M, Güzey YZ, Behrem S, Gündüz Z 2019. Path Analysis of the Relationship Between Weaning Weight and Some Morphological Traits in Awassi Lamb. KSU J. Agric Nat 22(Suppl 2): 431-435. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.558957.

INTRODUCTION

The primary goal in animal breeding is to increase the yield of the concerned animal. However, several factors such as birth weight, mother age, breed, feeding regime can affect the yield. The extent of the impact on emphasized yield and the knowledge of the influential factors is a prerequisite for a precise selection. Correlation analysis is commonly used to determine this relationship. However, the correlation coefficients are not always sufficient to explain the cause and effect relation between the variables. The reason is the fact that the relation between two variables can be affected by a third variable. Therefore, the levels of direct and indirect interaction between the yield obtained and the factors that

affecting that yield need to be distinguished (Okut and Orhan, 1993; Topal and Esenbuğa, 2001; Orhan and Kaşıkçı, 2002). In addition, any variable in the multivariable data structure under revision may be dependent on some variables, but independent of others. In this case, the correlation and regression analyses will be insufficient to reveal the cause and effect relations. Therefore, path analysis was used to determine the relationship between variables more accurately (Alpar, 2011).

The theory and practice of the path analysis was first introduced to the literature by the study "Correlation and Causation" published in 1921 by geneticist Sewall Wright who developed and introduced this method to solve the problems on the importance of

inheritance and environment in breeding.

The main goal of the study was to determine the direct and indirect effects of the morphological traits such as withers height, sacrum height, body length, chest depth, chest girth and chest width of the Awassi ewes on weaning weight.

MATERIALS AND METHODS

Total of 200 Awassi lambs raised in Gaziantep province was used as an animal material of this study. The animals were managed under extensive system. The live weights of lambs at 60. days (weaning weight) determined by scale. After determining the live weight, each lamb was placed on all four legs on an even surface, and some body measurements were taken with the measuring tape according to Yakubu (2010). The data on body measurements of the animals were height at withers (HW), sacrum height (SH), body length (BL), chest depth (CD), chest girth (CG) and chest width (CW) in addition to weaning weight (WW).

Descriptive statistics including standard deviation, standard error, min-max and confidence interval (95 %) for all variables were calculated. Kolomgrov-Smirnov method was used to test normality of the variables. The relationship between the variables were determined with Pearson correlation analysis. Path analysis was used to determine the direct and indirect effects of the body measurements in the present experiment.

Wright (1921) defined that the path coefficient as the ratio of the independent variable (X) to the total standard deviation in the dependent variable (Y) and demonstrated as in equation 1.

$$P_{YX} = \frac{\sigma_{YX}}{\sigma_Y} \text{ (Equation 1)}$$

Let Y be the dependent variable or effect, and X the independent variable or cause. The expression σ_{YX} was used for the standard deviation of Y, which is found under the foregoing conditions, and may be

$$\begin{aligned} r_{X_1Y} &= p_{YX1} + r_{X1X2} * p_{YX2} + r_{X1X3} * p_{YX3} + r_{X1X4} * p_{YX4} + r_{X1X5} * p_{YX5} + r_{X1X6} * p_{YX6} \\ r_{X2Y} &= p_{YX2} + r_{X2X1} * p_{YX1} + r_{X2X3} * p_{YX3} + r_{X2X4} * p_{YX4} + r_{X2X5} * p_{YX5} + r_{X2X6} * p_{YX6} \\ r_{X3Y} &= p_{YX3} + r_{X3X1} * p_{YX1} + r_{X3X2} * p_{YX2} + r_{X3X4} * p_{YX4} + r_{X3X5} * p_{YX5} + r_{X3X6} * p_{YX6} \\ r_{X4Y} &= p_{YX4} + r_{X4X1} * p_{YX1} + r_{X4X2} * p_{YX2} + r_{X4X3} * p_{YX3} + r_{X4X5} * p_{YX5} + r_{X4X6} * p_{YX6} \\ r_{X5Y} &= p_{YX5} + r_{X5X1} * p_{YX1} + r_{X5X2} * p_{YX2} + r_{X5X3} * p_{YX3} + r_{X5X4} * p_{YX4} + r_{X5X6} * p_{YX6} \\ r_{X6Y} &= p_{YX6} + r_{X6X1} * p_{YX1} + r_{X6X2} * p_{YX2} + r_{X6X3} * p_{YX3} + r_{X6X4} * p_{YX4} + r_{X6X5} * p_{YX5} \end{aligned}$$

SPSS 21.0 was used for the statistics calculation of the study and Amos 21.0 was used for the path analysis (IBM SPSS Amos Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp., USA). The significance level was accepted as 0.05.

RESULTS

Descriptive statistics of height at withers (HW),

read as the standard deviation of Y due to X (Wright, 1921; Wright, 1923). This definition of Wright is the same as the definition of the standardized regression coefficient. Wright (1923) referred the coefficient p_{YX} as path coefficient and also used the term path regression showing as p_{regYX} .

The most important part of path analysis is creation the path diagram which determines the direction of the relationship between variables. Expert opinions can be consulted at this point (Alpar, 2011; Görgülü, 2011).

Figure 1 includes the path diagram designed in order to reveal the direct and indirect effects of the body measurements on live weight for male and female lambs.

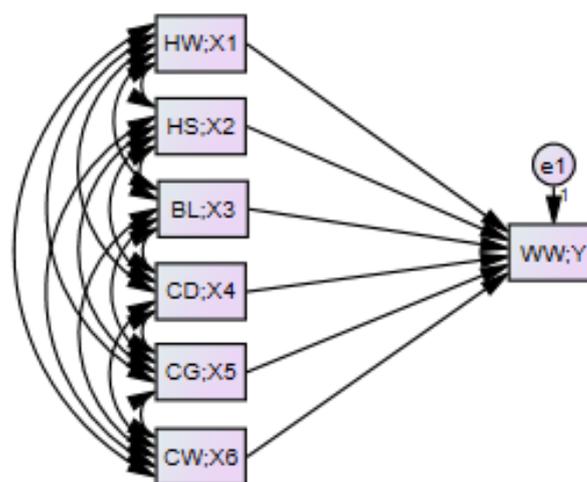


Figure 1. Path diagram of weaning weight and other body measurements

The path equations generated according to the path diagram (Figure 1) of the model showing the relationship between weaning weight and body measurements are as below.

height at sacrum (HS), body length (BL), chest depth (CD), chest girth (CG), chest width (CW) and weaning weight (WW) were shown Table 1.

The results of the pearson correlation analysis that reveal the linear relations between some body measerements and weaning weight of Awassi Sheep was shown Table 2.

Table 1. Descriptive statistics of variables

Variables	Sex	n	Mean \bar{x} Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum	95% Confidence interval
HW (cm)	M	112	48.75 \mp 3.26	0.30	42.50	57.00	48.14-49.36
	F	82	48.87 \mp 3.63	0.40	39.50	62.00	48.07-49.67
HS (cm)	M	112	51.72 \mp 4.47	0.42	44.50	66.00	50.89-52.56
	F	82	51.96 \mp 4.75	0.52	45.00	67.00	50.91-53.00
BL (cm)	M	112	45.08 \mp 5.73	0.54	34.00	63.20	44.00-46.15
	F	82	45.98 \mp 5.96	0.65	36.00	60.50	44.67-47.29
CD (cm)	M	112	20.18 \mp 3.26	0.31	15.00	35.50	19.57-20.80
	F	82	19.48 \mp 2.62	0.28	12.00	31.00	18.90-20.06
CG (cm)	M	112	58.30 \mp 6.03	0.57	48.00	80.50	57.17-59.43
	F	82	58.37 \mp 4.96	0.54	50.00	79.50	57.28-59.46
CW (cm)	M	112	11.47 \mp 2.46	0.23	5.90	19.50	11.01-11.94
	F	82	11.54 \mp 2.60	0.28	7.00	22.00	10.97-12.11
WW (kg)	M	112	18.99 \mp 4.39	0.51	9.35	27.50	18.16-19.81

Table 2. Pearson correlation coefficient among body measurements and weaning weight(Y) of female and male lambs

	Variables	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	Y
Female	Height at withers (X ₁)	0.653**	0.144 ^{ns}	0.526**	0.583**	0.422**	0.151 ^{ns}
	Height at sacrum(X ₂)		0.445**	0.553**	0.769**	0.434**	0.529**
	Body length (X ₃)			0.225*	0.364**	0.245*	0.550**
	Chest depth(X ₄)				0.512**	0.518**	0.268*
	Chest girth(X ₅)					0.289**	0.485**
	Chest width(X ₆)						1
Male	Height at withers (X ₁)	0.772**	0.197*	0.531**	0.542**	0.482**	0.309**
	Height at sacrum(X ₂)		0.408**	0.564**	0.684**	0.498**	0.569**
	Body length (X ₃)			0.369**	0.295**	0.464**	0.601**
	Chest depth(X ₄)				0.557**	0.768**	0.420**
	Chest girth(X ₅)					0.407**	0.436**
	Chest width(X ₆)						1

** significant at p<0.01; * significant at p<0.05; ^{ns} at not significant

When we examine the Table 2 which includes the correlation coefficients of male animals, a statistically significant relation was seen among all variables (P<0.05). The most linear relation of WW is with BL (r = 0.601**). The lowest linear relation of WW was with HW (r = 0.309**). Upon reviewing the correlation table of female animals (Table 2), we determined that the relation of WW with HS and CW (r = 0.151^{ns}, r = 0.201^{ns}, respectively) was not statistically significant (P>0.05). The correlation coefficients showing the linear relations of WW with HS, BL, CD and CG were statistically significant (P>0.05).

DISCUSSION

The highest correlation of WW is with BL (r = 0.500**) and the lowest correlation of it is with HW (r = 0.151^{ns}). Several previous studies on sheep reported significant relations between the live weight and body measurements (Çam et al., 2010; Yılmaz et al., 2013).

Table 3 includes the direct and indirect effects calculated by the use of path analysis. According to these results, HS had the highest direct effect in male animals (P_{YX2}=0.500**) and CW has the lowest effect (P_{YX6}=0.035^{ns}). The direct effects of HW and BL on

WW etkileri (P_{YX1}=-0.234**, P_{YX3}=0.387**, respectively) are statistically significant (P<0.05). Norris et al. (2015) and Tyasi et al. (2015) reported that the direct effect of BL in male animals was statistically significant (P<0.05). The direct effects of CD, CG and CW on WW (P_{YX4}=0.058^{ns}, P_{YX5}=0.060^{ns}, P_{YX6}=0.035^{ns}, respectively) were statistically insignificant. HS had the highest direct effect on WW (P_{YX2}=0.385**) in female animals just like the male animals. The direct effects of HW and BL on WW (P_{YX1}=-0.291**, P_{YX3}=0.333**, respectively) in female animals were statistically significant (P<0.05). Norris et al. (2015), Yakubu (2010), Dekhili and Aggoun (2013) reported that the direct effect of BL in female animals is also statistically significant (P<0.05). Dekhili and Aggoun (2013) found a negative and statistically significant direct effect of HW on WW which was similar to our study (P<0.05). The direct effects of CD, CG and CW on WW (P_{YX4}=0.016^{ns}, P_{YX5}=0.229^{ns}, P_{YX6}=0.001^{ns}, respectively) in female animals were statistically insignificant (P<0.05). The variables HW, BL, CD, CG and CW in both sexes had an indirect effect on WW mostly over HS. HS had the highest indirect effect on WW through BL.

Table 3. Direct and indirect effect of the body measurements on live weight

Path ways	Effect value male lambs	Effect value female lambs
<i>The relations of height at withers and weaning weight</i>		
Direct effect	-0.234*	-0.291*
Indirect effect over height at sacrum	0.386	0.251
Indirect effect over body length	0.076	0.048
Indirect effect over chest depth	0.030	0.008
Indirect effect over chest girth	0.035	0.134
Indirect effect over chest width	0.016	0.001
Total indirect effect	0.543	0.442
Total correlation	0.309**	0.151 ^{ns}
<i>The relations of height at sacrum and weaning weight</i>		
Direct effect	0.500**	0.385**
Indirect effect over height at withers	-0.180	-0.190
Indirect effect over body length	0.156	0.149
Indirect effect over chest depth	0.032	0.007
Indirect effect over chest girth	0.044	0.176
Indirect effect over chest width	0.017	0.002
Total indirect effect	0.069	0.144
Total correlation	0.569**	0.529**
<i>The relations of body length and weaning weight</i>		
Direct effect	0.387**	0.333**
Indirect effect over height at withers	-0.046	-0.041
Indirect effect over height at sacrum	0.204	0.171
Indirect effect over chest depth	0.022	0.004
Indirect effect over chest girth	0.018	0.082
Indirect effect over chest width	0.016	0.001
Total indirect effect	0.214	0.217
Total correlation	0.601**	0.550**
<i>The relations of chest depth and weaning weight</i>		
Direct effect	0.058 ^{ns}	0.016 ^{ns}
Indirect effect over height at withers	-0.125	-0.153
Indirect effect over height at sacrum	0.282	0.212
Indirect effect over body length	0.143	0.075
Indirect effect over chest girth	0.033	0.117
Indirect effect over chest width	0.029	0.001
Total indirect effect	0.362	0.252
Total correlation	0.420**	0.268*
<i>The relations of chest girth and weaning weight</i>		
Direct effect	0.060 ^{ns}	0.229 ^{ns}
Indirect effect over height at withers	-0.127	-0.169
Indirect effect over height at sacrum	0.342	0.296
Indirect effect over body length	0.115	0.121
Indirect effect over chest depth	0.032	0.007
Indirect effect over chest width	0.014	0.001
Total indirect effect	0.376	0.256
Total correlation	0.436**	0.485**
<i>The relations of chest width and weaning weight</i>		
Direct effect	0.035 ^{ns}	0.001 ^{ns}
Indirect effect over height at withers	-0.113	-0.122
Indirect effect over height at sacrum	0.249	0.168
Indirect effect over body length	0.180	0.082
Indirect effect over chest depth	0.045	0.006
Indirect effect over chest girth	0.025	0.066
Total indirect effect	0.386	0.200
Total correlation	0.421**	0.201 ^{ns}

** significant at $p < 0.01$; * significant at $p < 0.05$; ^{ns} at not significant

CONCLUSION

According to the results of this study which uses path analysis to examine the relations between WW and some body measurements in male and female lambs, HS was the body measurement with the highest effect on WW in lambs. In addition to the direct effect of HW on WW, there were also numerous indirect effects of other body measurements through HS. BL also sustained much direct effect on WW like HS. Therefore, researchers on breeding need to consider in their studies regarding the WW increase that HS and BL were important selection criteria. Breeders are recommended to pay attention to the HS and BL measurements in practical animal selection.

Data availability.

The data sets are available upon request from the corresponding author.

Competing interests.

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Alpar CR 2011. Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistiksel Yöntemler (3rd ed.): Detay Yayıncılık.
- Çam MA, Olfaz M, Soydan E 2010. Body Measurements Reflect Body Weights and Carcass Yields in Karayaka Sheep. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 5: 120-127.
- Dekhili M, Aggoun A 2013. Path Coefficient Analysis of Body Weight and Biometric Traits in Ouled-Djellal Breed (Algeria). *Revue Agriculture*. 6: 41-46.
- Görgülü Ö 2011. Path Analysis on Effective Factors Affecting 305-d Milk Yield in Simmental Cattle. *International Journal of Agriculture and Biology*. 13: 381-385.
- Norris D, Brown D, Moela AK, Selolo TC, Mabelebele M, Ngambi JW, Tyasi TL 2015. Path Coefficient and Path Analysis of Body Weight and Biometric Traits in Indigenous Goats. *Indian Journal of Animal Research*. 49: 573-578.
- Okut H, Orhan H. 1993. Path Analizi ve Korelasyon Katsayısı, I. Ulusal Eknometri ve İstatistik Sempozyumu, s, 209-215, 11-12 Kasım, İzmir.
- Orhan H, Kaşıkçı D. 2002. A Study on Comparison of the Correlation, Path, and Partial Regression Coefficients. *Journal of Animal Production*. 43: 68-78.
- Topal M, Esenbuğa N 2001. A Study on Direct and Indirect Effects of Some Factors on Weaning Weight of a Awassi Lambs (in Turkish). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 25: 377-382.
- Tyasi TL, Tyasi YF, Tyasi AL, Lagu S, Ngambu S 2015. A Study of Relationship Between Body Weight and morphological Traits by using Path Analysis in South African Indigenous Sheep. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 5: 1-4.
- Wright S 1921. Correlation and Causation. *Journal of Agricultural Research*. 20: 557-585.
- Wright S 1923. The Theory of Path Coefficients a Reply to Niles's Criticism. *Genetics*. 8: 239-253.
- Yakubu A 2010. Path Coefficient and Path Analysis of Body Weight and Biometric Traits in Yankasa Lambs. *Slovak Journal of Animal Science*. 43: 17-25.
- Yılmaz O, Cemal I, Karaca O 2013. Estimation of Mature Live Weight Using Some Body Measurements in Karya Sheep. *Tropical Animal Health and Production*. 45: 397-403.

Breeding Data of Collared Pratincole (*Glareola pratincola*) Population of Boğazkent/Antalya (Southwest Turkey) in 2016

Yasemin ÖZTÜRK^{1*}, Leyla ÖZKAN²

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Vocational High School of Golhisar, Department of Forestry, Burdur, ²Duzce University, Faculty of Forestry, Department of Wildlife Ecology and Management, Duzce

¹<https://orcid.org/0000-0002-9815-087X>, ²<https://orcid.org/0000-0002-2426-6714>

✉: yyaseminozturk@gmail.com

ABSTRACT

Collared Pratincoles (*Glareola pratincola*) have a large, fragmented breeding distribution throughout the Palearctic. Turkey is in migration road where it has Collared pratincole population as both breeding area and transition region. Research area was in Boğazkent/Antalya, Southwest Turkey. In this study, breeding biology of Collared pratincole were investigated in 2016. Boğazkent was transiting region for Collared pratincole, while some individuals transit, some others stay and breed there. Average of 370 birds transited during spring migration and 35 of which stayed and bred in Boğazkent at the end of the May.

Research Article

Article History

Received : 25.06.2019

Accepted : 21.08.2019

Keywords

Antalya/Boğazkent
Breeding biology
Collared pratincole
Glareola pratincola.

Bataklık Kırlangıcı (*Glareola pratincola*)'nın Boğazkent/Antalya (Güneybatı Türkiye) Populasyonunun 2016 Üreme Sezonu Verileri

ÖZET

Bataklık kırlangıcı (*Glareola pratincola*)'nın Palearktik boyunca, geniş ve parçalı bir üreme yayılımı vardır. Göç yolları üzerinde olan Türkiye, Bataklık kırlangıcının hem transit göçer hem de üreme populasyonlarına sahiptir. Araştırma alanı, Türkiye'nin Güneybatısında yer alan Boğazkent/Antalya'dır. Çalışmada 2016 sezonu Bataklık kırlangıcı'nın üreme biyolojisi araştırılmıştır. Boğazkent, Bataklık kırlangıcı için daha çok geçiş bölgesidir. Bununla birlikte geçiş yapan bireylerin yanında bazı bireyler alanda kalır ve ürer. İlkbahar göçü boyunca ortalama 370 birey geçiş yapmış, bunların 35'i ise Mayıs sonuna kadar Boğazkent'te kalmış ve üremiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 25.06.2019

Kabul Tarihi : 21.08.2019

Anahtar Kelimeler

Antalya/Boğazkent
Üreme Biyolojisi
Bataklık kırlangıcı
Glareola pratincola.

To Cite : Öztürk Y, Özkan L Ö 2019. Breeding Data of Collared Pratincole (*Glareola pratincola*) population of Boğazkent/Antalya (Southwest Turkey) in 2016. KSU J. Agric Nat. 22 (Suppl 2): 436-439. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.582227.

INTRODUCTION

Collared Pratincoles have a large, fragmented breeding distribution throughout the Palearctic (Cramp and Simmons 1983, Del Hoyo et al., 1996). Range from South Europe to Pre Asia as summer visitor and wintering in Africa (Collins, 2009). In North Africa, Collared Pratincole have breeding population in Morocco, (Cramp and Simmons 1983) and Algeria (Isenmann and Moali 2000). Especially Spain and France have large population and many studies have been undertaken on the breeding ecology of the species (Calvo and Alberto, 1990; Calvo and Furness, 1995; Tajuelo and Manez, 2003; Vincent-Martin, 2007) in Europe. Also Turkey has Collared pratincole population as both breeding area and transition region in migration road (Onmuş and Sıkı, 2011). Compared

with North Africa population arrival, departure and breeding time of Turkey population is different.

MATERIALS and METHODS

Research area is Boğazkent/Antalya where is located Southwest Turkey. Boğazkent that is between two rivers are Acısu and Koprucay is located of Mediterranean Sea (Figure 1). In this study, we investigated breeding biology of Collared pratincole in 2016 breeding season. The species have been determined by Line transect and Point counts method (Dobinson, 1976; Bibby and Burgess, 1992). Observation started at the beginning of March in three times a week to determine migration phenology. We also continued our observation all of the breeding season. We determined to arrival and departure time of Collared pratincole in Boğazkent. We counted

individuals, nests numbers, eggs number, hatchlings and determined incubation period.

Laying date was determined either by knowing the date the first egg was laid or by backdating from the known hatching date (Cramp and Simmons 1983; Feduccia 2001). The hatching and fledging success was calculated in relation to the eggs laid. The fledging success was also calculated in relation to the eggs hatched (Makrigianni et.al., 2008). Statistical analyses were performed using SPSS 17.



Figure 1. Boğazkent/Antalya from Google Earth

RESULTS AND DISCUSSION

A dispersed breeding colony of Collared Pratincole (*Glareola pratincola*) was observed on Boğazkent/Antalya in 2016 (Figure 2). Especially Boğazkent is transiting region for this species. Besides, while some individuals transit, some others stay and also breed there. Firstly, observed 60 birds that transited from Boğazkent in April 24 and last transition was June 12. Average 370 birds (Figure 3) transited during spring migration and 35 of them stayed in Boğazkent at the end of the May. Mating behaviours observed during the May, egg laying started in late May and followed by end of the August. Collared pratincole nested sand and grassland. We found 16 nest belong to them. In total 30 eggs were laid in 16 nests. Clutch size mostly was 2 (50%) also 1 (31.25%), 3 (18.75) and mean 1.88 ± 0.72 (Table 1).

Incubation period was 17 days. 26 chicks hatched, and 12 fledged successfully. According to hatchling, we calculated breeding success 86.7% and 46.2% for fledgling (Figure 4). Departure from the colonies started in end of August and continued until middle of the September.



Figure 2. Collared pratincole (*Glareola pratincola*) in Boğazkent

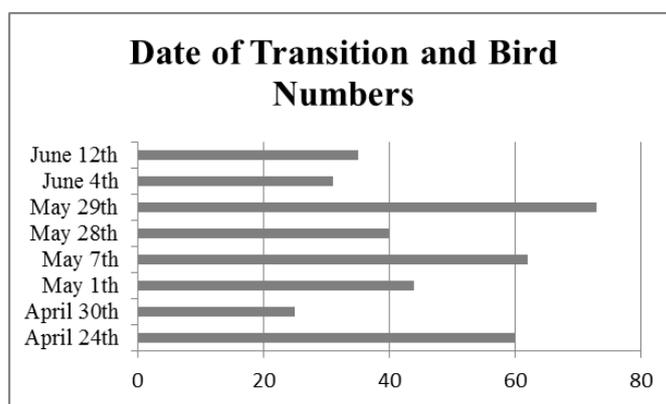


Figure 3. Transit bird numbers of Collared pratincole

Table 1. Clutch size distribution of Collared Pratincole in the Boğazkent/Antalya.

Clutch size (number of eggs per nest)	Number of nests	Percentage of nests (%)
1	5	31.25
2	8	50
3	3	18.75
Total	16	100

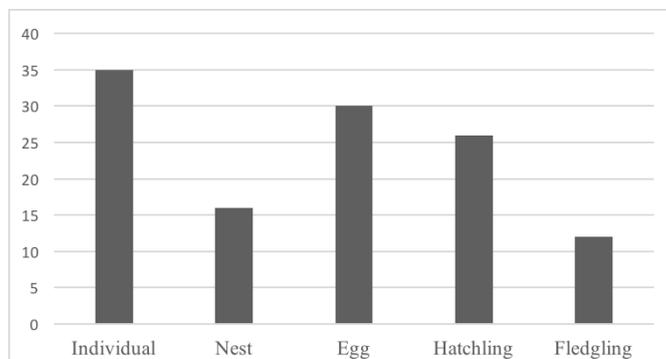


Figure 4. Parameters about Boğazkent population of Collared pratincole.

Hanane et al., (2010) state that arrival date of Collared pratincole to breeding area was March 8 in 2003 and March 10 in 2004. However, egg laying started in the first half of April (April 7 in 2003 and April 16 in 2004), Departure from the colonies started in mid-July and Average clutch size was 2.28 in 2003 and 2.14 in 2004 about population of Northwest Morocco from two different habitats. According to Bensaci et al., (2014), arrival time end of the March, first egg laying was April 28 and clutch size was 2 in Algeria. Compared with North Africa population arrival, departure and breeding time of Turkey population is different. Turkey population breeding activity start late as different from North Africa. We think that temporal differences result from weather condition. Weather getting warmer after April in Turkey as different from North Africa. On the other hand, other breeding data like similar other research.

Black-winged Stilt (*Himantopus himantopus*), Pied Avocet (*Recurvirostra avosetta*), Eurasian Thick-knee (*Burhinus oedipnemus*), Common Ringed Plover (*Charadrius hiaticula*), Little Ringed Plover (*Charadrius dubius*) and Spur-winged Lapwing (*Vanellus spinosus*) are other migratory wader birds in Boğazkent (Karaardıç et al., 2017).

Common Ringed Plover and Spur-winged Lapwing are also breeding waders in there (Özkan et al., 2017). Compared to others Spur-winged Lapwing has the most crowded breeding population in Boğazkent. It is known as summer migrant species but some individuals of Boğazkent population hasn't return to Africa in fall and winter period in recent years. According to compare Turkey and Africa, temperate increase more fast Africa than Turkey (Özkan and Koç, 2017).

CONCLUSION

While both Spur-winged lapwing and Collared pratincole globally are listed as LC (Least concern) in IUCN Red List, they are categorized as VU (Vulnerable) in Turkey (Kılıç ve Eken, 2004). They need similar habitat type and share Boğazkent that is 2170 ha to breeding. Last years they bred different part in Boğazkent from each other (Özkan, 2012; Özkan et al., 2012; Karaardıç and Özkan, 2017). But according to our data spur-winged lapwing nests surround Collared pratincole nests. Habitat destruction, lost and any other factors narrow their breeding site and close each other in Boğazkent (Figure 5).

When examining predation factor for breeding success of Collared pratincole in Boğazkent, The predation risk is very high during both breeding and post breeding period for this species. Hooded crow (*Corvus corone*), fox (*Vulpes vulpes*) and dogs are the most predators. Besides, human activities like agriculture, tourism are negative effect for breeding success in area.

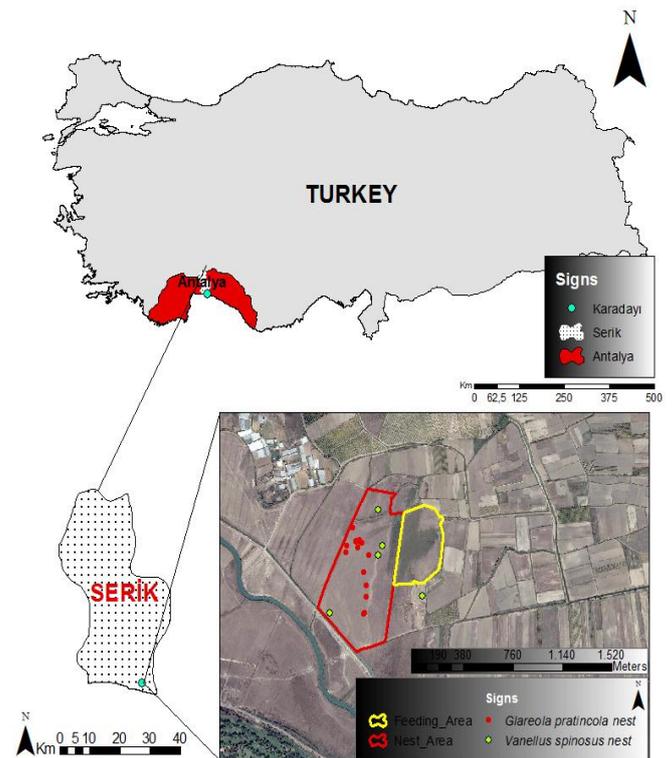


Figure 5. Comparison of Collared pratincole and Spur-winged lapwing nest site.

As a result of this study revealed the Collared Pratincole's first breeding data for turkey. It is important to determine the distribution of animals by starting to see the effects of climate change in the world and in our country. This varies depending on different factors. The data in this study are important for determining the change. In future studies, reproductive data at different times should be compared and the changes of this species should be monitored.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by Burdur Mehmet Akif Ersoy University Scientific Search Project Unit for support (307-NAP16 project number).

REFERENCES

- Benasci E, Bouter, N, Cherief A, Saheb M, Moali A, Houhamdi M 2014. Breeding ecology studies of Collared Pratincoles *Glareola pratincola* in the Central Hauts Plateaux of Algeria. Wader Study Group Bull. 121(1): 43–48.
- Bibby CJ, Burgess ND 1992. Bird Census Techniques. Academic Press Limited, London, 257p.
- Calvo B, Alberto LJ 1990. Nest site selection of the Collared Pratincole *Glareola pratincola* in the province of Sevilla, Spain. Wader Study Group Bull. 58: 13–15.

- Calvo B, Furness RW 1995. Colony and nest-site selection by Collared Pratincoles *Glareola pratincola* in southwest Spain. *Colon. Waterbirds* 18: 1–10.
- Cramp S, Simmons KEL 1983. *The Birds of the Western Palearctic*, Vol. 3. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Del Hoyo J, Elliott A, Sargatal J 1996. *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 3. Hoatzin to Auks. Lynx Edicions, Barcelona, Spain.
- Dobinson HM 1976. *Bird Count, A Practical Guide to Bird Survey*. Keztrrel Books, Published by Penguin Books Ltd. Hormondsworth, Middlesex, England, 192p.
- Feduccia A 2001. *The Origin and Evolution of Birds*. 2nd edition. New Haven: Yale University Press.
- Hanane S, Boukhriess J, Selmi S 2010. Breeding ecology of Collared Pratincoles *Glareola pratincola* in two coastal habitats in northwest Morocco. *Bird Study* 57: 236–243.
- Isenmann P, Moali A 2000. Oiseaux d'Algérie / Birds of Algéria. Paris: Société d'Etudes Ornithologiques de France. [In French]
- Karaardıç H, Özkan L, Erdoğan E 2017. Antalya/Boğazkent'in Göçmen Kuş Türleri-Migrotary Bird Species of Antalya/Boğazkent. *Tabiat ve İnsan*, 51(200): 40-48.
- Karaardıç H, Özkan L 2017. Breeding and migratory distribution of collared pratincole (*Glareola pratincola*) at Boğazkent, Southern Turkey. *Acta Biologica Turcica*. 30(3):74-78.
- Kılıç DT, Eken G 2004. Türkiye'nin Önemli Kuş Alanları 2004 Güncellemesi. Doğa Derneği, Yenişehir/Ankara, 227 s.
- Makrigianni E, Sgardelis S, Poirazidis K, Athanasiadis A 2008. Breeding Biology and Nesting Site Selection by The Spur-Winged Plover *Hoplopterus spinosus* in The Evros Delta, NE Greece. *Journal of Natural History*, 42: 333-344.
- Onmuş O, Sıkı M 2011. Shorebirds in the Gediz Delta (İzmir, Turkey): breeding and wintering abundances, distributions, and seasonal occurrences. *Turkish Journal of Zoology*, 35(5): 615-629.
- Özkan L, Karaardıç H, Erdoğan E 2017. Antalya/Boğazkent'in Üreyen Kuş Türleri-Breeding Bird Species of Antalya/Boğazkent. *Tabiat ve İnsan*. 51(198):27-33.
- Özkan L, Koç S 2017. First records of migration behaviour change of Spur-Winged Lapwing (*Vanellus spinosus*) from Boğazkent/Turkey. *Biological Diversity and Conservation*, 10(2):62-66.
- Özkan L, Karaardıç H, Erdoğan E 2012. Breeding Biology Of Spur-Winged Lapwing (*Vanellus spinosus* L.) At Boğazkent, Antalya/ Turkey 2009-2011. *Fresenius Environmental Bulletin*. Volume 21 – No 11b.
- Özkan L 2012. Antalya/Boğazkent Mahmuzlu Kızıkuşu (*Vanellus spinosus* L. 1758) Populasyonunun Göç Fenolojisi Üzerine Araştırmalar. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, pp 83.
- Tajuelo FJ, Manes M 2003. Collared Pratincole *Glareola pratincola*. In: R. Marti and J.C. del Moral (eds), *Atlas de las Aves Reproductoras de Espana*, pp. 248–249. Direccion General de Conservacion de la Naturaleza- Sociedad Espagnola de Ornitologie, Madrid, Spain.
- Vincent-Martin N 2007. Statut de conservation de la Glaréole à collier *Glareola pratincola* en Camargue: identification des facteurs limitant la reproduction. PhD Thesis, Ecole Pratique des Hautes Etudes.

Koyun Yetiştiriciliği Yapan Üreticilerin Sosyo-Ekonomik Yapısı ve Koyunculuk Faaliyetiyle İlgili Uygulamaları

Damla ÖZSAYIN¹, Bengü EVEREST²

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Gökçeada Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Organik Tarım İşletmeciliği Bölümü, Gökçeada, Çanakkale, Türkiye, ²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Gökçeada/Çanakkale, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-1127-267X>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4301-9337>

✉: dozsayin@comu.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, Çanakkale'nin Gökçeada ilçesinde koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin sosyo-ekonomik yapısının incelenmesi ve onların koyunculuk faaliyeti ile ilgili bazı uygulamalarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmanın ana materyalini, basit tesadüfi örnekleme yöntemiyle belirlenen koyunculuk faaliyeti ile uğraşan 125 işletmeden anket yoluyla elde edilen veriler oluşturmuştur. Araştırma verilerinin analizinde, tanımlayıcı istatistikler ve 5'li likert ölçeği kullanılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, üreticilerin genel yaş ortalaması 48.2, ortalama eğitim süresi 7.8 yıl, ortalama hanehalkı büyüklüğü 4.2 kişi, ortalama koyunculuk faaliyeti deneyiminin 24 yıl ve üreticilerin %10.4'ünün en yüksek gelire (≥50.001TL) sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, koyun yetiştiriciliği yapan üreticiler tarafından damızlık seçiminde dikkat edilen en önemli faktörün "hayvanın fiziksel özelliklerine bakarım" kavramına ilişkin olduğu ve süt sağımında dikkat edilen en önemli faktörün" ise sağımının hijyen kurallarına uyması" kavramına ilişkin olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmanın ilçe ekonomisine ve kırsal kalkınmaya katkı sağlaması beklenmektedir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 10.07.2019

Kabul Tarihi : 23.08.2019

Anahtar Kelimeler

Gökçeada

Koyunculuk uygulamaları

Kayıt tutma

Likert ölçeği

Socio-economic Structure of Farmers That Make Sheep Breeding and Practices Related to Their Sheep Breeding Activities

ABSTRACT

Aim of this study was to examine the socio-economic structure of farmers of sheep breeding in Gökçeada district of Çanakkale province and to determine their practices related to farmers' breeding activity. The data of the present study were obtained from surveying of 125 farms of sheep breeding by using the simple random sampling method. Descriptive statistics and 5-point likert-type scale were used to analyze the data. According to the results of study, it was found that the average age of farmers was 48.2 years, the average year of schooling of farmers was 7.8, the average household size was 4.2 persons, the average experience of farmers in sheep breeding was also 24 years and 10.4% of the farmers had the highest income (≥50.001TL). Furthermore, the most factor that is pay attention in brood stock selection and in the milking were determined as "I look at the physical characteristics of the animal" and "keeping to hygienic measures of farmer that make milking" concept for farmers that dealing with sheep breeding, respectively. As a result, this study is expected to contribute district's economy and to rural development.

Research Article

Article History

Received : 10.07.2019

Accepted : 23.08.2019

Keywords

Gokceada

Sheep practices

Keeping record

Likert scale

To Cite : Özsayın D, Everest B 2019. Koyun Yetiştiriciliği Yapan Üreticilerin Sosyo-Ekonomik Yapısı ve Koyunculuk Faaliyetiyle İlgili Uygulamaları. KSÜ Tarım ve Doğa Derg. 22(Ek Sayı 2): 440-448. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.589725

GİRİŞ

Hayvancılık faaliyetinden elde edilen hayvansal ürünler, gelişmekte olan ülkelerde tarımsal üretimin

temel unsurlarından biri olarak kabul edilmektedir. Çünkü, bu faaliyet özellikle kırsal alanda yaşayan üreticilerin beslenme ve nakit para ihtiyaçlarının karşılanmasında önemli rol oynamaktadır (İnan 2001,

Demirve ark. 2015). Hayvancılık sektöründe önemli bir alt faaliyet alanı olan koyun yetiştiriciliğinde, üreticilere düşük kalitedeki meralar ile sığırların yararlanamadığı bitki örtüsünü iyi bir şekilde değerlendirebilme, bakım ve beslemede çeşitli kolaylıklar sağlama gibi birçok yönden çeşitli avantajlar sunmaktadır (Paksoy ve Özçelik 2008, Semerci ve Çelik 2016).

Ege denizinin kuzeybatısında yer alan ve yüzölçümü bakımından da Türkiye'nin en büyük adası olan Gökçeada'nın ekonomisi, tarımsal üretim ve turizme dayanmaktadır. Ancak, Gökçeada'da turizm mevsiminin kısa olması nedeniyle, ilçede yürütülen tarımsal faaliyetlerin ana kaynağının hayvancılık olduğu söylenebilir. İlçedeki üreticilerin büyük çoğunluğu keçi ve koyun yetiştiriciliğini birlikte yürütmektedir. Onların önemli bir kısmının ise koyunculuk faaliyetinde yoğunlaştığı görülmektedir (Anonim 2017). Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin genellikle bu faaliyet alanında yoğunlaştığı dikkate alındığında; bu durum, ilçede koyun yetiştiriciliğinin bu kadar yaygın olmasına rağmen henüz bu faaliyetin niçin istenilen seviyelere ulaşamadığı sorusunu da beraberinde getirmektedir. Oysa, hayvancılık sektöründe tüketici taleplerine yönelebilen, hayvan sağlığına önem veren ve doğal kaynakların yanısıra çevreyi de koruyabilen bir üretim ortamında ancak rekabet edebilen işletmelerin faaliyetlerine devam edilebileceği düşünülebilir. Bu durumdan hareketle; koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin sosyo-ekonomik yapısının incelenmesi ve onların koyunculuk faaliyeti ile ilgili uygulamalarının belirlenmesinin gelecekte verim ve rekabet gücünü arttırmada etkili olması beklenmektedir.

Koyunculuk faaliyeti ile ilgili çok sayıda yerli ve yabancı literatür bulunmaktadır. Konu ile ilgili daha önce yapılmış bilimsel çalışmaların önemli bir kısmı, bu faaliyet alanını ya sosyo-ekonomik açıdan ya da işletme özellikleri bakımından değerlendirmiştir (Dossa ve ark. 2008, Aktaş 2009, Altınçekiç 2014, Demir ve ark. 2015). Araştırma alanı olarak seçilen Gökçeada'da yürütülen bir çalışmada ise entansif koşullarda hayvancılık (büyükbaş ve küçükbaş) yapan işletmelerin genel sosyo-ekonomik durumları ortaya konulmuştur (Aktürk ve ark. 2005). Yapılan bu araştırma ilçede daha önce yürütülmüş olan çalışmanın kapsamı ve içeriği bakımından farklılık göstermektedir. Bu nedenle, araştırmanın ilçede koyun yetiştiriciliği yapan üretici profiline belirlenmesi ve onların bu faaliyet alanındaki uygulamalarının ortaya konulması açısından önemlidir.

Bu çalışmada, koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin sosyo-ekonomik yapısının incelenmesi ve onların koyunculuk faaliyeti ile ilgili bazı uygulamalarının ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilecek bulguların ilçe ekonomisine, kırsal

kalkınmaya ve bu konuda yapılacak daha sonraki çalışmalara da katkı sağlaması beklenmektedir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada, araştırma materyali olarak birincil ve ikincil veri kaynaklarından yararlanılmıştır. Gökçeada ilçesinde koyun yetiştiriciliği yapan üreticiler ile yapılan anketler araştırmanın birincil veri kaynaklarını, araştırma konusu ile ilgili diğer araştırmacıların yaptığı bilimsel çalışmalar, bazı kamu kurum ve kuruluşların yapmış oldukları yayınlar ile resmi istatistikler ise araştırmanın ikincil veri kaynaklarını oluşturmaktadır.

Metot

Gökçeada ilçesi ve köylerindeki işletmelerin belirlenmesinde İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü'nün 2017 yılı kayıtlarından yararlanılmıştır. Buna göre, ilçede küçükbaş hayvancılık faaliyeti ile uğraşan toplam işletme sayısının 334 olduğu ve bu üreticilerin ise koyun ve keçi yetiştiriciliği faaliyetlerini birlikte yürüttüğü belirlenmiştir (Anonim 2017). Ancak, küçükbaş hayvancılık yapan üreticilerin büyük çoğunluğunun (%71,2) koyunculuk faaliyetine önem verdikleri dikkate alındığında; araştırmadan elde edilecek verilerin güvenilirliği ve sonuçların yorumlanabilirliği açısından çalışma örnekleminde anakitle olarak sadece koyun yetiştiriciliği yapan işletmelerin seçilmesine karar verilmiştir. Çalışmada, örnek popülasyondan anket yapılacak işletmelerin seçiminde, Gökçeada İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü Çiftçi Kayıt Sistemine (ÇKS)'ne kayıtlı koyunculuk işletmeleri dikkate alınmıştır. Bu üreticiler içinden anket uygulanacak işletmelerin belirlenmesinde ise basit tesadüfi örnekleme yöntemi kullanılmıştır. İşletmelerin koyun varlığı dikkate alınarak popülasyonu temsil edecek işletme sayısı da aşağıdaki formül yardımıyla bulunmuştur (Karadaş 2016, Karadaş 2017).

$$n = \frac{N * \sigma^2}{(N-1) * D^2 + \sigma^2}, \quad D = \frac{d^2}{t^2} \quad (1)$$

Bu formülde, n=popülasyonu temsil edecek işletme sayısı, N=popülasyondaki toplam işletme sayısı (334), σ =popülasyonun standart sapması, d=kabul edilebilir hata payı (popülasyon ortalamasının $(\bar{X} \times 0.05)$, \bar{X} =ortalama hayvanvarlığı (baş), t=%95 güven sınırlarında tablo değeri (1.96) olarak ifade edilmiştir. Formül kullanılarak yapılan hesaplama sonucunda %95 güven aralığı ve %5 hata payı ile anket uygulanacak işletme sayısı (n)125 olarak belirlenmiştir. Anket formlarının işletmelere uygulanması aşamasında ise yüz yüze görüşme tekniği kullanılmıştır (Baş 2013). Çalışma verilerinin

analizinde ise SPSS paket programı kullanılmıştır (SPSS, 2008). Popülasyonun tanımlayıcı istatistiklerinin belirlenmesi aşamasında, oransal değerler (%) ile ortalamalardan, kullanılan veri setlerinin yapılacak analizler açısından güvenilirliğinin tespitinde ise güvenilirlik analizinden yararlanılmıştır (Uzgören 2012). Bu analiz, örnekleme oluşturulan birimler üzerinden veri toplama amacıyla geliştirilen ve ölçme aracını oluşturan ifadelerin, kendi aralarında tutarlılık gösterip göstermediğini test etmek amacı ile kullanılmaktadır. Mevcut çalışmanın amacı ve kullanılan veri özellikleri dikkate alındığında, güvenilirlik analizi için Cronbach Alpha (α) yöntemi tercih edilmiştir. Cronbach Alpha (α) katsayı değerinin büyüklüğüne göre; ölçeğin güvenilirliği ve iç tutarlılığı $0.60 \leq \alpha < 0.70$ arasında ise ölçek yeterli güvenilirlik düzeyine sahip, $0.70 \leq \alpha < 0.90$ arasında ise yüksek güvenilirlik düzeyine sahip ve $\alpha \geq 0.90$ ise çok yüksek güvenilirlik düzeyine sahip olarak yorumlanmaktadır (Ural ve Kılıç 2006, Nakıboğlu 2007, Özdamar 2013). Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin damızlık seçimi kriterlerinin ve süt sağımında dikkat edilmesi gereken uygulamalarının belirlenmesi aşamasında ise likert ölçeğinden yararlanılmıştır. Bu ölçek, bireyin kendisi hakkında bilgi vermesi esasına dayanmakta olup bireylerin bir konudaki davranış puanlarını belirlemeyi sağlayan bir yöntemdir. Farklı sayıda belirlenen seçenekler sıralı bir biçimde ardışık olarak dizilerek, dengeli ya da sıralı sayısal değerlerle puanlandırılır (Karagöz ve Ekici 2004, Tavşancıl 2014). Ayrıca; bu çalışmada, ölçekteki unsurlar arasında karşılaştırma yapmak ve onların önem derecelerini belirlemek amacı ile mevcut unsurlara ağırlık verilmiş ve ağırlıklar ise unsurların yüzde değerleri ile çarpılarak toplanması neticesinde skor değerler elde edilmiştir (Everest ve Yercan 2016, Özsayın ve ark. 2018).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmanın araştırma bulgularında ilk olarak koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin sosyo-ekonomik yapısına değinilmiştir. Sonrasında ise onların koyunculuk faaliyetine ilişkin uygulamalarına yer verilmiştir.

Üreticilerin Sosyo-Ekonomik Yapısı

Bitkisel ve hayvansal üretim faaliyetlerinde bulunan üreticiler için yaş kriterinin, onların üretim sonuçları üzerinde farklı etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Köksal 2009). Çünkü, üreticilerin yaşlarındaki değişime bağlı olarak tercihlerinin de değişmesi beklenmektedir. Bu nedenle, üretici yaşının belirlenmesinin işletme faaliyetleri açısından önemli olduğu söylenebilir. Çalışmada, koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin %37.6'sının 33-45 yaş aralığında, %29.6'sının 46-59 yaş aralığında, %23.2'sinin 60 yaş ve üzerinde ve %9.6'sının ise 20-32 yaş aralığında olduğu

belirlenmiştir. Üreticilerin genel yaş ortalaması ise 48.2 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre; ilçede koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin büyük çoğunluğunun 33 ile 59 yaş aralığında olduğu ifade edilebilir. Koyunculuk faaliyetiyle ilgili daha önce yürütülen bazı çalışmalarda, üreticilerin büyük çoğunluğunun 35 ile 50 yaş aralığında olduğu belirlenmiştir (Dayan 2007, Boz ve ark. 2008, Karakaya ve Kızıloğlu 2014). Bu sonuçlara göre; araştırma alanından elde edilen bulgular ile daha önceki araştırma sonuçları arasında önemli bir farklılığın olmadığını ve üreticilerin önemli bir kısmının da orta yaş ve üzeri olduğunu söylemek mümkündür.

Eğitim düzeyi, üreticilerin sosyo-ekonomik durumlarının ortaya konulmasında etkili olan bir faktördür (Köksal 2009). Bu faktörün de kişilerin tercihleri üzerinde olumlu ya da olumsuz etkilerinin olduğu söylenebilir. Bu çalışmada, koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin %47.2'sinin ilkökul mezunu, %23.2'sinin ortaokul mezunu, %20.8'inin lise mezunu, %3.2'sinin yüksekokul mezunu, %5.6'sının üniversite mezunu olduğu ve onların ortalama eğitim süresinin ise 7.8 yıl olduğu belirlenmiştir. Doğu Akdeniz Bölgesi ile Ardahan ve Niğde illerinde yürütülen çalışmalarda, koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin %50'sinden fazlasının ilkökul mezunu olduğu saptanmıştır (Boz ve ark. 2008, Demir ve ark. 2015, Ceyhan ve ark. 2015). Bu sonuçlara göre; Gökçeada'da koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerden elde edilen bulgular ile daha önceki araştırma sonuçlarının benzer olduğu söylenebilir. Sosyo-ekonomik yapının iyileştirilmesi ve çiftçi eğitimlerinde bu durumun dikkate alınması gerekmektedir.

Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin, %42.4'ünün hanehalkı birey sayısının 1-3 kişi arasında olduğu, %46.4'ünün 4-6 kişi arasında olduğu, %11.2'sinin ise 7 kişi ve üzerinde olduğu ve ortalama hanehalkı büyüklüğünün ise 4.2 kişi olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre; ilçede koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin büyük çoğunluğunun küçük aile işletmelerinden oluştuğunu söylemek mümkündür. Şanlıurfa ve Bingöl illerinde yürütülen çalışmalarda, yetiştiricilerin büyük çoğunluğunun hanehalkı birey sayısının 4 kişiden fazla olduğu bildirilmiştir (Karakaya ve Kızıloğlu 2014, Karadaş 2017). Buna göre; çalışmadan elde edilen bulgular ile daha önceki araştırma sonuçlarının birbirine yakın olduğu, üreticilerin ortalama hanehalkı büyüklüğünün (4.2 kişi) Türkiye ortalamasının (3.4 kişi) biraz üzerinde olduğu ifade edilebilir (TUIK, 2018).

İlçede koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin %18.4'ünün 10 yıl ve altında koyunculuk deneyiminin olduğu, %31.2'sinin 11 ile 20 yıl arasında deneyiminin olduğu, %50.4'ünün 20 yıl ve üzerinde deneyiminin olduğu ve onların ortalama deneyim sürelerinin 24 yıl olduğu belirlenmiştir. Koyun yetiştiriciliği yapan

üreticilerin önemli bir kısmının 20 yıl ve üzerinde deneyime sahip olması, onların geçim kaynağı olarak koyunculuk faaliyetini önemsediklerinin bir göstergesi olarak ifade edilebilir. Ardahan ilinde yürütülen bir çalışmada, üreticilerin 10.8 yıldan beri koyunculuk faaliyetinde bulunduğu, Şanlıurfa ilinde yürütülen bir çalışmada ise bu sürenin 29 yıl olduğu saptanmıştır (Demir ve ark. 2015, Karadaş 2017). Buna göre; ilçedeki koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin Ardahan ilindeki üreticilerden koyunculuk faaliyeti ile ilgili daha fazla deneyime sahip olduğu, Şanlıurfa ilindeki üreticilerden ise daha az deneyime sahip olduğu söylenebilir.

Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin hayvancılık faaliyetinden elde ettikleri gelirler, en yüksek orandan en düşük orana doğru sıralandığında; bu oranlar %30.4 (20.001TL-30.000TL), %24.0 (30.001TL-40.000TL), %12.8 (10.001TL-20.000TL), %11.2 (0-10.000TL ve 40.001TL-50.000TL) ve %10.4 (\geq 50.001) olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre; koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin hayvancılık faaliyetinden elde ettikleri gelir düzeyinin oransal olarak en fazla 20.001TL-30.000TL arasında (%30.4) olduğu, en düşük ise 50.001TL ve üzerinde (%10.4) olduğu ifade edilebilir. Buna göre; ilçedeki mevcut yetiştiricilerin büyük çoğunluğunun (%50.4) orta gelir ve üzerinde olduğu söylenebilir.

Kırsal alanda yaşayan üreticilerin yapmış oldukları faaliyet alanları ile ilgili örgütlenme eğiliminde olmaları ayrı bir önem taşımaktadır. Çünkü, tarımsal faaliyetlerle uğraşanların sermaye birikimlerini ve ekonomik yetersizliklerini dengelemek için bir destek oluşturmak adına bir araya gelme mecburiyetleri ortaya çıkabilir. Kırsal alandaki bu birleşmeler, genelde kooperatifçilik şeklinde kendini göstermektedir (Akın 2008). İlçedeki üreticilerin kooperatiflere üye olma durumları incelendiğinde; %52.8'inin kooperatiflere üye olduğu ve %47.2'sinin üye olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, bazı üreticilerin tarım kredi kooperatifine (%40.8) ve damızlık koyun keçi yetiştiriciler birliğine (%11.2) üye oldukları, bazılarının ise birden fazla kooperatife (%0.8) üye oldukları saptanmıştır. Bu sonuçlara göre; üreticilerin çeşitli girdilerini değişik yerlerden temin etme eğiliminde oldukları söylenebilir. Ardahan (%74.2) ve Bingöl (%58) illerinde yürütülen çalışmalarda üreticilerin büyük çoğunluğunun kooperatiflere üye olduğu, Doğu Akdeniz Bölgesinde yürütülen bir çalışmada ise üreticilerin %25'inin kooperatiflere üye olduğu belirlenmiştir (Boz ve ark. 2008, Karakaya ve Kızıoğlu 2014, Demir ve ark. 2015). Buna göre; ilçedeki üreticilerin Ardahan ve Bingöl illerindeki üreticilere göre kooperatiflere üye olma olasılıklarının daha düşük olduğu, Doğu Akdeniz Bölgesindeki üreticilere göre ise daha fazla olduğu ifade edilebilir. Bu sonuçlar, kırsal alanda örgütlenme kavramının halen daha önemini yeterince anlayamadığımız

olmasının bir göstergesi olarak yorumlanabilir. Bu nedenle, ilçedeki kooperatiflerin üreticilere yönelik faaliyetlerinde daha etkin olmaları ve onları destekleyici uygulamalara yer vermeleri gerekmektedir. Diğer yandan koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin damızlık koyun ve keçi yetiştiricileri birliğine üye olma oranlarının neden daha düşük olduğu da irdelenmelidir.

Çalışmada, koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin %44.8'inin 25 dekardan fazla araziye sahip olduğu, %39.2'sinin 25 dekardan az araziye sahip olduğu, %16'sının arazisinin olmadığı ve sahip olunan mülk arazi miktarının ise ortalama 33.2 dekar olduğu belirlenmiştir. Doğu Akdeniz Bölgesinde yürütülen bir çalışmada, üreticilerin sahip olduğu mülk arazi miktarı ortalama 40.6 dekardır (Boz ve ark. 2008). Buna göre; ilçedeki üreticilerin Doğu Akdeniz Bölgesindeki üreticilere göre sahip olduğu mülk arazi miktarının daha düşük olduğu söylenebilir. Bu durumun, araştırma alanının ada olmasından dolayı kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir.

Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin %16.8'inin 20 baş ve altında koyuna sahip olduğu, %32.8'inin 21 baş ile 50 baş arasında koyuna sahip olduğu, %50.4'ünün 50 baş ve üzeri koyuna sahip olduğu ve sahip olunan koyun sayısının da ortalama 90.2 baş olarak belirlenmiştir. Doğu Akdeniz Bölgesinde yürütülen bir çalışmada ortalama koyun sayısının 82.4 baş olduğu, Bingöl ilinde yürütülen bir çalışmada ise koyun sayısının 51-200 baş arasında olduğu açıklanmıştır (Boz ve ark. 2008, Karakaya ve Kızıoğlu 2014). Buna göre; yetiştiricilerin koyun sayıları bakımından ilçeden elde edilen bulgular ile daha önceki araştırma sonuçlarının birbirine yakın olduğu ifade edilebilir. Verimli çalışan bir tarım işletmesinde toplam sermayenin en az %25'inin hayvan sermayesinden oluşması beklenmektedir (Akın 2008). Ayrıca, hayvan sermayesinin işletme verimini arttırmadaki rolünün yanısıra sürekli nakit akışı sağlayabilen bir faydası da bulunmaktadır. Bu durumda; ilçede koyunculuk faaliyeti ile uğraşan üreticilerin hayvancılık yapmayan üreticilere nazaran daha avantajlı olduğu söylenebilir.

Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin %64'ünün kültür ırkı hayvana sahip olduğu ve %36'sının ise kültür ırkı hayvana sahip olmadığı belirlenmiştir. Doğu Akdeniz Bölgesinde yürütülen bir çalışmada yetiştiricilerin sadece %5'inin kültür ırkı hayvana sahip olduğu, Yozgat ilinde yürütülen bir çalışmada yetiştiricilerin büyük çoğunluğunun yerli ırkı hayvana sahip olduğu saptanmıştır (Boz ve ark. 2008, Tamer ve Sarıözkan, 2017). Bu sonuçlara göre; ilçede koyunculuk yapan yetiştiricilerin kültür ırkı hayvan sayısının Doğu Akdeniz Bölgesindeki yetiştiricilere göre oldukça fazla olduğu ancak Yozgat ilindeki yetiştiricilerin ise daha çok yerli ırk hayvanlara sahip olduğu söylenebilir.

Üreticilerin Koyunculuk Faaliyetiyle İlgili Bazı Uygulamaları

Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin büyük çoğunluğu (%44.8) hayvanlarının hastalık kontrollerini veteriner hekimler yoluyla günlük olarak yaptırırken, %2.4'ü bu kontrollerini yıllık olarak, %32'si ise sadece hayvanlarının hasta olduğunu fark edince yaptırmaktadırlar (Çizelge 1). Van ilinde yürütülen bir çalışmada, yetiştiricilerin %52.6'sının hayvanlarının sağlık sorunu ile karşılaştığını fark edince veteriner hekime başvurduğu, Doğu Akdeniz Bölgesinde ise bu kontrollerin en fazla yıllık olarak yapıldığı belirlenmiştir (Boz ve ark. 2008, Karakuş ve Akkol, 2013). Buna göre; ilçedeki yetiştiricilerin hayvan hastalıkları ile ilgili kontrollere verdikleri önemin, Van ili ve Doğu Akdeniz Bölgesindeki yetiştiricilerden daha fazla olduğu söylenebilir. Ayrıca, üreticilerin hayvan hastalıklarının önemi konusunda bilgi sahibi oldukları ve hastalık kontrollerinde erken teşhisin bu hastalıkların diğer hayvanlara yayılmasının önlenmesi aşamasında önemli rol oynadığının bilincinde oldukları söylenebilir.

Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin gübre değerlendirme şekilleri incelendiğinde; %92.8'inin gübreyi kendi arazisine attığı saptanmıştır. Ardahan, Karaman ve Yozgat illerindeki yetiştiriciler ile Doğu Akdeniz Bölgesindeki yetiştiriciler gübrelerinin önemli bir kısmını kendi arazisinde kullanmakta, geriye kalan fazla kısmı da ya satmakta ya da yakacak olarak değerlendirmektedir (Boz ve ark. 2008, Şahinli 2014, Demir ve ark. 2015; Tamer ve Sarıözkan, 2017). Van ilinde yürütülen bir çalışmada ise yetiştiricilerin önemli bir kısmı (%44.6) gübrelerini yakacak olarak değerlendirmektedir (Karakuş ve Akkol, 2013). Bu sonuçlara göre; ilçedeki yetiştiriciler ile Ardahan, Karaman, Yozgat illeri ve Doğu Akdeniz Bölgesindeki yetiştiricilerin önemli bir kısmının gübrelerini kendi arazilerinde değerlendirme isteklerinin daha yüksek olmasından dolayı onların gübrelerini değerlendirme şekilleri bakımından benzerlik gösterdiği söylenebilir. Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin uyguladığı koç katımı, kuzu büyütme, koyun otlatma ve sağım yöntemleri incelendiğinde; %77.6'sının hayvanlarına serbest usulde aşım yönetimin kullandığı, %93.6'sının kuzuları için doğal büyütme yöntemini kullandığı, üreticilerin önemli bir kısmının (%61.6) ise hayvanlarını çobansız olarak otlattığı, %52.8'inin elle sağım yaptığı ve üreticilerin %54.4'ünün ise sütünü satmadığı belirlenmiştir. Van, İzmir, Artvin, Konya illerinde ve Doğu Akdeniz Bölgesinde yürütülen çalışmalarda işletmelerin nerdeyse tamamının serbest aşım yaptığı saptanmıştır (Direk ve ark. 2000; Aydın ve Dellal, 2001; Boz ve ark. 2008; Karakuş ve Akkol, 2013; Kandemir ve ark. 2015). Koç katım yöntemlerine ilişkin elde edilen sonuçlardan, yetiştiricilerin daha çok geleneksel yöntem ve uygulamaları tercih ettikleri

söylenebilir. Yozgat, İzmir illerinde ve Doğu Akdeniz Bölgesinde yürütülen çalışmalarda yetiştiricilerin büyük çoğunluğunun sağımı elle yaptığı belirlenmiştir. Buna sonuçlara göre yetiştiricilerin sağım kolaylığı ve hijyeni açısından makineli sağım tekniğine yönlendirilmelerinin gerekli ve önemli olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 1. Koyunculuk faaliyetiyle ilgili bazı uygulamalar

Hastalıklar için kontrol sıklığı	Sayı	%
Günlük	56	44.8
Haftalık	5	4.0
Aylık	17	13.6
Mevsimlik	4	3.2
Yıllık	3	2.4
Hasta olduğunu fark edince	40	32.0
Toplam	125	100.0
Gübrenin değerlendirilme şekli	Sayı	%
Gübre kullanmıyor	5	4
Kendi arazisine atıyor	116	92.8
Satıyor	1	0.8
Kendi arazisine atıyor + satıyor	3	2.4
Toplam	125	100.0
Uygulanan koç katım yöntemleri	Sayı	%
Elde aşım	11	8.8
Sınıf usulü aşım	17	13.6
Serbest aşım	97	77.6
Toplam	125	100.0
Kuzu büyütme yöntemleri	Sayı	%
Doğal büyütme	117	93.6
Erken süttten kesme	7	5.6
Kalıntı sütle besleme	1	0.8
Toplam	125	100.0
Koyun otlatma yöntemleri	Sayı	%
Çobanla otlatma	48	38.4
Çobansız otlatma	77	61.6
Toplam	125	100.0
Sağım yöntemleri	Sayı	%
Sütü sağmıyor	52	41.6
Elle sağım	66	52.8
Makine ile sağım	5	4.0
Her ikisi	2	1.6
Toplam	125	100.0
Sağılan sütün satılma sıklığı	Sayı	%
Sütü satmıyor	68	54.4
Her gün satıyor	16	12.8
İki-üç günde bir satıyor	12	9.6
Haftada bir satıyor	9	7.2
Sütü peynir yaparak satıyor	20	16.0
Toplam	125	100.0

Hayvancılık faaliyetinde, teknik ve ekonomik konularla ilgili kayıt tutulması işletme faaliyetlerinin sürdürülebilirliği açısından oldukça önemlidir. Ayrıca,

kayıt tutma işlemleri işletme planlarına gerekli verileri sağlamada çeşitli katkılar sunmaktadır (Karagölge 1996). İlçedeki üreticilerin önemli bir kısmının (%60) sürüden çıkarılan hayvanlara ilişkin kayıt tuttukları belirlenmiştir. Bunu ise sırasıyla aşım tarihi, koyun ve koçun adı ve numaralarının kaydı, koç katım zamanı kaydı, doğan hayvanların doğum tarihi, doğum şekli ve tipi, hastalıklarla ilgili, yemleme ile ilgili, koyunların süt miktarı, sütteki yağ, protein ve kuru madde miktarı izlemektedir (Çizelge 2). Buna göre; koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin büyük çoğunluğunun sürüden çıkarılan hayvanlara ilişkin kayıt tuttuğu ancak koyunculuk faaliyeti ile ilgili diğer uygulamalar konusunda kayıt tutma eğilimlerinin oldukça düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle,

ilçedeki üreticilere işletmelerde, koyunculuk için tutulması gerekli olan kayıtların öneminin anlatılarak, onların bu yöndeki eğilimlerinin arttırılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir. Karaman ilinde yürütülen bir çalışmada, üreticilerin yarısından fazlasının koyunculuk faaliyeti ile ilgili kayıtları tutmadığı belirlenmiştir (Şahinli 2014). Bu sonuçlara göre; ilçedeki üreticilerden elde edilen sonuçlar ile Karaman ilindeki üreticilerden elde edilen bulgular arasında benzerlik olduğu ifade edilebilir. Bu durumdan hareketle; koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin, bu faaliyetlerinin sürdürülebilirliği açısından kayıt tutma eğilimlerinin arttırılmasının oldukça önemli olduğu söylenebilir.

Çizelge 2. Üreticilerin koyunculuk faaliyetinde kayıt tutma durumu

Kayıt Tutma		Sayı	%
Doğan hayvanların doğum tarihi, doğum şekli ve tipi	Tutuyor	37	100.0
	Tutmuyor	88	100.0
Koç Katım tarihi, koyun ve koçun adı ve numaraları	Tutuyor	51	100.0
	Tutmuyor	74	100.0
Sürüden çıkarılan hayvanlara ait kayıtlar	Tutuyor	60	100.0
	Tutmuyor	65	100.0
Koyunların süt miktarı	Tutuyor	10	100.0
	Tutmuyor	115	100.0
Sütteki yağ, protein ve kuru madde miktarı	Tutuyor	3	100.0
	Tutmuyor	122	100.0
Aşılama zamanları	Tutuyor	42	100.0
	Tutmuyor	83	100.0
Hastalıklar ile ilgili	Tutuyor	37	100.0
	Tutmuyor	88	100.0
Yemleme ile ilgili	Tutuyor	23	100.0
	Tutmuyor	102	100.0

Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin damızlık seçiminde dikkat ettikleri faktörleri likert ölçeği yardımı ile belirlemeden önce verilerin istatistiksel analizlere uygunluğunu ölçmek için belirlenen 8 ifadenin güvenilirlik analizi yapılmıştır. Bu analiz sonuçlarına göre; Cronbach Alpha güvenilirlik katsayısı 0.838 olarak bulunmuştur. Buna göre; 8 ifadeli ölçeğin çalışmaya uygun ve "yüksek güvenilirlik düzeyine sahip" olduğunu söylemek mümkündür. Ayrıca; Hotelling T^2 testine göre, soru ortalamaları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (54.512 ; $p=0.000$) (Çizelge 3). Araştırma sonuçlarına göre; koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin %17.6'sının "hayvanın ırk özelliklerini yeterince taşıyıp taşımadığına bakarım" ifadesine kesinlikle katıldığı, %68.8'inin katıldığı, %10.4'ünün katılmadığı ve %3.2'sinin ise kararsız olduğu belirlenmiştir. Bu durum, üreticilerin koyun seçiminde ırk özellikleri bakımından bilgi sahibi olduklarının bir göstergesi olarak yorumlanabilir. "Hayvanın hastalık veya anatomik bozukluk olup olmamasına bakarım" ifadesi ile "hayvanın döl veriminin yüksek olmasına bakarım" ifadesine üreticilerin büyük çoğunluğunun katıldığı

veya kesinlikle katıldığı, az sayıda üreticinin ise bu ifadeler için kararsız olduğu ve bu ifadelere katılmadığı saptanmıştır. "Hayvanın fiziksel özelliklerine bakarım" ifadesine üreticilerin önemli bir kısmı (%78.4) kesinlikle katıldığı ifade etmiştir. "Hayvanın süt verimine bakarım" ifadesine üreticilerin %76.8'inin katıldığı veya kesinlikle katıldığı saptanmıştır. "Hayvanın büyüme hızına bakarım" ifadesine üreticilerin %66.4'ünün kesinlikle katıldığı, %15.2'sinin katıldığı, %4'ünün kararsız olduğu ve %14.4'ünün ise katılmadığı belirlenmiştir. "Hayvanın kuzu verimine bakarım" ifadesine üreticilerin %76.0'inin kesinlikle katıldığı, %18.4'ünün katıldığı, az sayıda üreticinin ise bu ifadeler için kararsız olduğu ve bu ifadeler için katılmadığı saptanmıştır. "Hayvanın hastalıklara karşı direncine bakarım" ifadesine ise üreticilerin büyük çoğunluğunun katıldığı veya kesinlikle katıldığı belirlenmiştir. Yukarıda açıklanan 8 ifadeye üreticilerin büyük çoğunluğunun katılması, onların koyun seçiminde sürü yönetimi uygulamalarına, hayvan bakımı ve sağlığı kurallarına önem verdiklerinin bir göstergesi olarak yorumlanabilir.

Çizelge 3'deki likert skor hesaplaması sonuçlarına göre; koyunculuk faaliyeti ile uğraşan üreticiler tarafından damızlık seçiminde dikkat edilen en önemli faktörün "hayvanın fiziksel özelliklerine bakarım" ifadesine ilişkin olduğu belirlenmiştir. Boz ve ark. (2008) tarafından Doğu Akdeniz Bölgesinde yürütülen

bir çalışmada koyunculukta damızlık seçerken dikkate alınan en önemli faktörün hayvanın fiziksel özelliklerine ilişkin olduğu belirlenmiştir. Buna göre; ilçedeki ve Doğu Akdeniz Bölgesindeki yetiştiricilerin damızlık seçiminde en fazla hayvanın fiziksel özelliklerine önem verdiği ifade edilebilir.

Çizelge 3. Koyunculukta damızlık seçimi

Damızlık seçiminde dikkat edilen faktörler	Kesinlikle katılmıyorum	Katılmıyorum	Kararsızım	Katılıyorum	Kesinlikle katılıyorum	Skor	Sıralama
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)		
Hayvanın ırk özelliklerini yeterince taşıyıp taşımadığına bakarım	0	10.4	3.2	68.8	17.6	393.6	(8)
Hayvanın hastalık veya anatomik bozukluk olup olmamasına bakarım	0	4.0	1.6	32.0	62.4	420.8	(5)
Hayvanın döl veriminin yüksek olmasına bakarım	0	8.0	5.6	70.4	16.0	394.4	(7)
Hayvanın fiziksel özelliklerine bakarım	0	4.8	2.4	14.4	78.4	466.4	(1)
Hayvanın süt verimine bakarım	0	20.0	3.2	16.0	60.8	417.6	(6)
Hayvanın büyüme hızına bakarım	0	14.4	4.0	15.2	66.4	433.6	(4)
Hayvanın kuzu verimine bakarım	0	4.8	0.8	18.4	76.0	465.6	(2)
Hayvanın hastalıklara karşı direncine bakarım	0	7.2	1.6	19.2	72.0	456.0	(3)

Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin süt sağımı ile ilgili uygulamalarını likert ölçeği ile belirlemeden önce verilerin istatistiksel analizlere uygunluğunu ölçmek için ortaya konulan 4 ifadenin güvenilirlik analizi yapılmıştır. Bu analiz sonuçlarına göre; Cronbach Alpha güvenilirlik katsayısı 0.935 olarak

bulunmuştur. Buna göre; 4 ifadeli ölçeğin çalışmaya uygun ve "yüksek güvenilirlik düzeyine sahip" olduğunu söylemek mümkündür. Ayrıca; Hotelling T^2 testine göre, soru ortalamaları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (52.970 ; $p=0.000$) (Çizelge 4).

Çizelge 4. Süt sağımında dikkat edilen uygulamalar

Uygulamalar	Kesinlikle uygulamıyorum	Uygulamıyorum	Kararsızım	Uyguluyorum	Kesinlikle uyguluyorum	Skor	Sıralama
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)		
Sağım öncesi meme temizliğinin ve dezenfeksiyonunun yapılması	44.8	8.8	0.8	6.4	39.2	286.4	(2)
Sağımının hijyen kurallarına uyması	44.8	5.6	3.2	4.0	42.4	293.6	(1)
Sağım makinesinin temizliğinin ve bakımının yapılması	45.6	36.8	4.0	3.2	10.4	196.0	(4)
Sağım sonrası meme temizliği ve dezenfeksiyonunun yapılması	44.0	24.8	2.4	2.4	26.4	242.4	(3)

Araştırma sonuçlarına göre; koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin %44.8'inin "sağım öncesi meme temizliği ve dezenfeksiyon uygulaması" ile "sağımının hijyen kurallarına uyması" kurallarını kesinlikle uygulamadığı saptanmıştır. "Sağım makinesinin temizliğinin ve bakımının yapılması" kuralını %45.6'sının kesinlikle uygulamadığı ve %10.4'ünün ise kesinlikle uyguladığı belirlenmiştir. "Sağım sonrası

meme temizliği ve dezenfeksiyonunun yapılması" kuralını üreticilerin %44'ünün kesinlikle uygulamadığı ve %26.4'ünün ise kesinlikle uyguladığı belirlenmiştir. Çizelge 4'deki likert skor hesaplaması sonuçlarına göre; koyunculuk faaliyeti ile uğraşan üreticiler tarafından süt sağımında dikkat edilen en önemli uygulamanın "sağımının hijyen kurallarına uyması" kuralına ilişkin olduğu belirlenmiştir.

İşletmeler açısından süt sağımında hijyen kurallarına uyum oldukça önemlidir. Ancak, koyunculuk yapan üreticilerin süt sağımında dikkat etmeleri gereken bazı kurallara yeterince önem vermedikleri, bu kuralların uygulanmasının önemi konusunda ise yeterince bilgi sahibi olmadıkları ve bu konularda üreticilere çeşitli bilgilendirme toplantılarının yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Gökçeada ilçesinde koyunculuk faaliyeti ile uğraşan üreticilerin önemli bir kısmı 20 yıl ve üzerinde deneyime sahiptir. Bu durum, onların geçim kaynağı olarak koyunculuk faaliyetini önemstediklerini göstermektedir. İlçede bu faaliyetin geliştirilmesine yönelik yapılacak uygulamaların ise ilçe ekonomisine katkısı açısından önemli olduğu düşünülmektedir. İlçedeki üreticilerin yarısından fazlasının (%52.8) kooperatiflere üye olması, onların bu yöndeki eğilimlerinin yüksek olduğunu ancak yeteri kadar kooperatifçilik bilincine sahip olmadıklarını göstermektedir. Bu nedenle, üreticilerin kooperatifleşme konusunda bilgilendirilmesinin ve desteklenmesinin gerekli olduğu düşünülmektedir. İlçedeki üreticilerin önemli bir kısmı elle sağım yöntemini tercih etmektedir. Elle sağım yapan üreticilerin sağım kolaylığı ve hijyeni açısından süt sağım makinesi ile sağım uygulamalarına yönelik bilgilendirme ve uygulama faaliyetlerinin yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir. İlçedeki üreticilerin kayıt tutma eğilimleri oldukça düşüktür. Bu nedenle, onlara işletmelerde kayıt tutmanın önemi anlatılarak, bu yöndeki eğilimlerinin arttırılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir. İşletmeler açısından süt sağımında hijyen kurallarına uyum oldukça önemlidir. Ancak, ilçedeki üreticilerin süt sağımında dikkat edilmesi gereken kurallara yeterince önem vermedikleri görülmektedir. Bu nedenle, üreticilerin süt sağımı sırasında uygulanması gereken kuralların önemi konusunda bilgilendirilmeleri ve onların bu kuralları benimsemeleri yönünde desteklenmelerinin oldukça önemli olduğu düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FHD-2018-2752

KAYNAKLAR

Aktaş A 2009. Konya İli Karapınar İlçesi Koyunculuk İşletmelerinin Ekonomik Analizi. SÜ. Fen Bil. Ens., Tarım Ekonomisi ABD, Yüksek Lisans Tezi, 93s.
Akın A 2008. Akşehir İlçesinde Organik Çilek Yetiştiriciliğinin Benimsenmesi ve Yayılması Üzerine Bir Araştırma. AÜ. Fen Bil. Ens., Tarım Ekonomisi ABD, Doktora Tezi, 223s.

Aktürk D, Savran F, Hakyemez H, Daş G, Savaş T 2005. Gökçeada'da Ekstansif Koşullarda Hayvancılık Yapan İşletmelerin Sosyo-Ekonomik Durumu, Tarım Bilimleri Dergisi, 11(3):229-235.
Altınçekiç ŞÖ 2014. Bursa İli Koyunculuk İşletmelerinin Yapısal Özellikleri ve Refah Ölçütleri Açısından Değerlendirilmesi. UÜ. Fen Bil. Ens., Zootehni ABD, Doktora Tezi, 158s.
Anonim 2017. Gökçeada İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü Kayıtları. Gökçeada.
Aydın S, Dellal G 2001. Artvin İlinin Koyun Yetiştiriciliğinin Yapısal Özellikleri. AÜ. Fen Bil. Ens., Zootehni ABD, Yüksek Lisans Tezi, 55s.
Baş T 2013. Anket Nasıl Hazırlanır. Seçkin Yayıncılık, Ankara, 263s.
Boz İ, Akbay C, Budak DB, Baş S 2008. Doğu Akdeniz Bölgesinde Hayvancılık Yapan Tarım İşletmelerinde Yeniliklerin Benimsenmesi ve Yayılması. Proje No:1060352, Kahramanmaraş.
Ceyhan A, Şekeroğlu A, Ünal A, Çınar M, Serbester U, Akyol E, Yılmaz E 2015. Niğde İli Koyunculuk İşletmelerinin Yapısal Özellikleri ve Sorunları Üzerine Bir Araştırma, KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi, 18(2):60-68.
Dayan YA 2007. Norduz Koyunu Yetiştiriciliği Yapılan Kimi İşletmelerin Yapısal Özellikleri. YÜ. Fen Bil. Ens., Zootehni ABD, Yüksek Lisans Tezi, 49s.
Demir PA, Işık SA, Aydın E, Yazıcı K, Ayvazoğlu C 2015. Ardahan İlinde Koyun Yetiştiriciliğinin Sosyo-Ekonomik Önemi, Van Veterinary Journal, 26(3):141-146.
Direk M, Öztürk A, Boztepe S 2000. Konya İlindeki Koyunculuk İşletmelerin Yapısal Özellikleri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 14(21): 49-58.
Dossa LH, Rischkowsky B, Birner R, Wollny C 2008. Socio-Economic Determinants of Keeping Goats and Sheep by Rural People in Southern Benin Agriculture and Human Values, 25(4):581-592.
Everest B, Yercan M 2016. Kooperatif Ortaklarının Kooperatifçilik İlkelerini Algılamaları Üzerine Bir Araştırma Tarım Kredi Kooperatifleri Örneği. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 53(1):67-73.
İnan İH 2001. Tarım Ekonomisi ve İşletmeciliği. Avca Ofset, İstanbul, 404s.
Kandemir Ç, Alkan İ, Yılmaz Hİ, Ünal HB, Taşkın T, Koşum N, Alçiçek A 2015. İzmir Yöresinde Küçükbaş Hayvancılık İşletmelerinin Coğrafik Konumlarına Göre Genel Durumu ve Geliştirilme Olanakları. Hayvansal Üretim, 56(1): 1-17.
Karadaş K 2016. Ağrı İli Tarım İşletmelerinde Buğday Üretim Maliyetlerinin Hesaplanması. Alinteri Ziraat Bilimler Dergisi, 31(B):33-41. Karadaş K. 2017. Şanlıurfa İlinde Koyunculuk İşletmelerinin Sosyo-Ekonomik Durumu: Siverek İlçesi Örneği. Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7(2):268-279.

- Karagölge C 1996. Tarımsal İşletmecilik. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayın No: 827, Erzurum.
- Karagöz Y, Ekici S 2004. Sosyal Bilimlerde Yapılan Uygulamalı Araştırmalarda Kullanılan İstatistiksel Teknikler ve Ölçekler. Çukurova Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi, 5(1): 25-43.
- Karakaya E, Kızıloğlu S 2014. Küçükbaş Hayvancılık İşletmelerinin Örgütlenme Yapısı Bingöl İli Örneği. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 1(4):552-560.
- Karakuş F, Akkol S 2013. Van İli Küçükbaş Hayvancılık İşletmelerinin Mevcut Durumu ve Verimliliği Etkileyen Sorunların Tespiti Üzerine Bir Araştırma. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 18(1-2):9-16.
- Köksal, Ö. 2009. Organik Zeytin Yetiştiriciliğine Karar Verme Davranışı Üzerinde Etkili Olan Faktörlerin Analizi. AÜ. Fen Bil. Ens., Tarım Ekonomisi ABD, Doktora Tezi, Ankara, 199s.
- Nakıboğlu B 2007. Tüketicinin Çevreci Boyutu: Çevreci Tutum ve Davranışlara Göre Pazar Bölümlemesi. Çukurova Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi, 16(2): 423-438.
- Özdamar K 2013. Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi. Nisan Kitabevi, Eskişehir, 603s.
- Özsayın D, Tan S, Everest B 2018. Organik Zeytin Üreticilerinin Sosyo-Ekonomik Yapısı ve Organik Tarım Konusundaki Bilgi Düzeyi ve Yaklaşımları. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknolojisi Dergisi, 6(11):1622-1629.
- Paksoy M, Özçelik A 2008. Kahramanmaraş İlinde Süt Üretimine Yönelik Keçi Yetiştiriciliğine Yer Veren Tarım İşletmelerinin Ekonomik Analizi. Ankara Tarım Bilimleri Dergisi, 14(4):420-427.
- Semerci A, Çelik AD 2016. Türkiye’de Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliğinin Genel Durumu. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(2):182-196.
- SPSS 2008. SPSS Statistics Base 17.0 for Windows User's Guide. Chicago. SPSS Inc. ISBN: 978-1-56827-400-3
- Şahinli MA 2014. Koyunculuk Sürü Yönetimi: Karaman İli Örneği. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 29(2):113-120.
- Tamer B, Sarıözkan S 2017. Yozgat Merkez İlçede Koyunculuk Yapan İşletmelerin Sosyo-Ekonomik Yapısı ve Üretim Maliyetleri. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 14(1): 39-47.
- Tavşancıl E 2014. Tutumların Ölçülmesi ve SPSS ile Veri Analizi. Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 230s.
- TUİK 2018. Tarım İstatistikleri (İstatistiklerle Aile). Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=24646> (Erişim Tarihi: 22 Nisan 2019)
- Ural A, Kılıç İ 2006. Bilimsel Araştırma Süreci ve SPSS ile Veri Analizi. Detay Yayıncılık, Ankara, 320s.
- Uzgoören N 2012. Bilimsel Araştırmalarda Kullanılan Temel İstatistiksel Yöntemler ve SPSS Uygulamaları. Ekin Yayınevi, Bursa, 415s.



Consumers Behavior Towards Bee Products Consumption in The Centre District of Kahramanmaraş Province

Yeşim AYTOP^{1*}, Cuma AKBAY², Huseyin MERAL³

^{1,2}Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Economics, Kahramanmaraş, ³Black Sea Agricultural Research Institute, Department of Agricultural Economics, Samsun, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-8464-2427>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7673-7584>, ³<https://orcid.org/0000-0002-9003-1518>

✉: yesimneral@ksu.edu.tr

ABSTRACT

The objective of this study is to determine the consumption behaviour and factors affecting the consumption of bee products of consumers in Kahramanmaraş. The main material of the study is the data obtained from surveys conducted with 270 consumers living in Kahramanmaraş city centre in 2018. Descriptive statistics, One-way ANOVA and t-test were used to analyse the data. According to the results, while 84.4% of the consumers consume honey, the percentage of the consumers consuming pollen and royal jelly are 7.8% and 1.5% respectively. Moreover, 28.5% of the consumers stated that they consume honey every day, whereas the share of the consumers consuming comb honey every day is 25.6%. In addition, most of the consumers prefer to buy honey from producers and markets. According to the results, factors affecting the amount of honey consumption are gender, income, the number of individuals in the family and the condition of having diabetes. On the other hand, marital status, age, and education level of consumers were not found to be important factors on the amount of honey consumption.

Research Article

Article History

Received : 08.05.2019

Accepted : 11.09.2019

Keywords

Bee products
Consumer behaviour
Consumption
Honey
Turkey

Kahramanmaraş İli Merkez İlçede Yaşayan Tüketicilerin Arı Ürünleri Tüketim Davranışları

ÖZET

Bu çalışmanın amacı Kahramanmaraş ili Merkez ilçede yaşayan tüketicilerin arı ürünleri tüketim durumlarını ve tüketimlerinde etkili olan faktörleri belirlemektir. Araştırmanın ana materyalini 2018 yılında Kahramanmaraş kent merkezinde 270 tüketici ile görüşülen anketlerden elde edilen veriler oluşturmaktadır. Verilerin analizinde tanımlayıcı istatistikler, One-way ANOVA ve t testinden yararlanılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre tüketicilerin %84.4'ünün bal, %7,78'inin polen, %1.5'inin arı sütü ve polen tükettikleri tespit edilmiştir. Üreticilerin %28.5'i süzme balı, %25.6'sı petek balı her gün tükettiklerini, arı ürünlerini satın alırken de öncelikli olarak direkt üretici ve marketleri tercih ettiklerini belirtmişlerdir. Sonuçlara göre, bal tüketim miktarını etkileyen faktörler, cinsiyet, gelir, ailedeki birey sayısı ve şeker hastası olma durumudur. Diğer yandan, medeni durum, yaş, eğitim ve çocuk sayılarının bal tüketim miktarında etkili olmadığı tespit edilmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 08.05.2019

Kabul Tarihi : 11.09.2019

Anahtar Kelimeler

Arı ürünleri
Tüketici davranışları
Tüketim
Bal
Türkiye

To Cite : Aytöp Y, Akbay C, Meral H 2019. Consumers Behavior Towards Bee Products Consumption in The Centre District of Kahramanmaraş Province. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22(Ek Sayı 2): 449-455. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.561320.

INTRODUCTION

The beekeeping activity can be called the most dependent livestock activity due to the habits of honey bees and their collecting raw materials from nature (Kekeçoğlu et al., 2007). Although honey is the most well-known product of the beekeeping activity, there are also several bee products such as beeswax, pollen, royal jelly, and propolis. In Turkey, there are around

83210 beekeepers, and they produce 144471 tonnes of honey from 7991072 hives (TUIK, 2017a). Although the name of honey products, which are very beneficial regarding human health, are well known, the benefits of honey products are not known well by consumers. It is determined that pollen strengthens the immune system, shows as an antibiotic effect against microorganisms causing severe diseases and has

antibacterial and antiviral properties. Beeswax is mostly used to make honeycomb. It is also used in the cosmetic and pharmaceutical industry, dye and varnish production. Bees consume an average of 10-25 kg of honey to produce 1 kg of beeswax. When it comes to Propolis, it is a sticky organic substance that has a significant anti-viral, the anti-bacterial and anti-fungal effect that bees collect from plant buds and sprouts (Central Beekeeping Association, 2017). Honey products, especially honey, are used in various areas from food to cosmetics industry, and in recent years they have been widely used in apitherapy in called "treatment with honey bee products" (Baki et al., 2017).

Though there are many studies concerning honey consumption in Turkey (Boluktepe and Yılmaz, 2006; Boluktepe and Yılmaz, 2008; Tunca et al., 2015; Baki et al., 2017; Niyaz and Demirbaş, 2017), and in other countries (Arvanitoniannis and Krystallis, 2006; Pocol, 2011; Schifani et al., 2016), the number of studies that examine the honey consumption behaviour is limited. Boluktepe and Yılmaz (2006) found that 49.6% of Turkish consumers prefer only branded honey, while 42.9% consume prefer buying both branded and local unbranded honey. Moreover, it is determined that branded honey is purchased from general stores or supermarkets while unbranded honey is purchased from sellers in local bazaars or directly from producers. Tunca et al. (2015) carried out research in 11 provinces in Turkey. They found that the percentage of consumers consuming 0-500 grams of honey per month is around 40%. In addition, 51.2% of consumers buy honey from beekeepers whom they generally know, and 41% of consumers buy honey from market and bazaar. The rate of the consumers who found the advertisements on television as convincing was determined as 5.9%. Consumers' levels of knowledge about propolis, pollen, bee venom and royal jelly were 28.2%, 22.9%, 56.8% and 23.3%, respectively. Niyaz and Demirbaş (2017) found that consumers consumed an average of 315.35 gr liquid honey and an average of 44.45 gr comb honey. Moreover, the least known bee product by consumers was bee venom, and consumers generally prefer to purchase honey from beekeepers and Beekeepers Association.

Schifani et al. (2016) and Nabwire et al. (2016) stated that consumers prefer buying local honey and are willing to pay more to local honey products. In addition, according to Batt and Liu (2012), brand reputation, the origin and the price of honey products are the most important factors affecting consumers' attitudes towards buying honey. Zavodna and Pospisi (2016) found that the main reason why Czechoslovakian consumers tend to buy bee products is the benefit of honey products for human health. Consumers generally prefer to buy bee products from directly beekeepers because they have high quality.

Kos Skubic et al. (2018) found that the price of products is the most important factor affecting a consumer's willingness to buy honey. Gyau et al. (2014) determined that education and age are significant factors affecting consumer decisions when purchasing honey in terms of consumer characteristics.

The objective of the research is to analyse consumers' honey bee products (beeswax, pollen, royal jelly and propolis) consumption behaviours in Kahramanmaraş province of Turkey.

MATERIAL and METHODS

The main material of the study is the data obtained from face to face interviews with the consumers living in the central district of Kahramanmaraş province in January-March 2018. In the survey, the consumers were questioned open-ended questions, close-ended questions, and five-point Likert questions. The proportional sampling method was used to determine the sample size (n) (Newbold, 1995):

$$n = \frac{Np(1-p)}{\sigma_{p_x}^2 + p(1-p)}$$

where σ_{p_x} is Variance of Ratio, N is population, p is the ratio (in order to reach the maximum sample volume, p = 0.5).

According to the Turkey Statistical Institution, the population of the central district of Kahramanmaraş province is 63.2487 people (TUIK, 2017b). In this context, the sample size was found to be 270 with a 90% confidence interval and a 5% error margin.

Descriptive statistics, One Way ANOVA and Independent Sample t-test were used to analyse the data.

RESULTS and DISCUSSION

Results show that 58.5% of consumers are male, the average age of consumers is 41.3 years, and average education of consumers is 8.7 years (Table 1). While 32.96% of consumers work in the private sector, 22.22% of them were self-employed.

Moreover, the majority of the consumers (84.07%) were born in Kahramanmaraş, an average number of individuals living in the household is 4.11 people, and the average number of children living in the household is 2.44.

However, the average number of people working from household is 1.43. The household average monthly income is 700.11 \$, and the monthly expenditure on food is 160.54\$. The share of honey expenditure on total food expenditure is around 3.3%.

Table 2 gives information about the preferences of consumers in honey consumption and the amount of honey consumed. The majority of respondents (84%) consume honey. While the percentage of the consumers consuming liquid honey was found 61.11%, the ratio of responders consuming comb honey was 53.33%.

Table 1. Socio-demographic characteristics of consumers

Demographic Characteristics	Number of people	Percentage (%)	Demographic Characteristics	Number of people	Percentage (%)
Age (year)			Income (\$)		
≤30	71	26.30	≤512	104	38.52
31-50	128	47.41	513-1026	125	46.30
≥51	71	26.30	≥1027	41	15.19
Total	270	100.00	Total	270	100.00
Gender			Marital status		
Female	112	41.48	Single	61	22.59
Male	158	58.52	Married	209	77.41
Total	270	100.00	Total	270	100.00
Number of people working in the household			Occupation		
≤1	171	63.33	Civil servant	23	8.52
2	76	28.15	Private sector	89	32.96
≥3	23	8.52	Retired	23	8.52
Total	270	100.00	Self-employment	60	22.22
Education level (year)			Housewife + non-working		
≤5	108	40.00	Farmers	18	6.67
6-8	43	15.93	Others	13	4.81
9-12	66	24.44	Total	270	100.00
≥13	53	19.63	Hometown		
Total	270	100.00	Kahramanmaras	227	84.07
Number of members in the household			Other		
≤3	97	35.93	Total	43	3.33
4-5	131	48.52		270	100.00
≥6	42	15.56			
Total	270	100.00			

Moreover, the rate of those consuming both liquid and comb honey was 30.40%. Similar to the results of the study, Sayılı (2013) found that 86.76% of the consumers consume liquid honey, and 74.63% of consumers consume comb honey in Tokat province.

It is found that the average amount of liquid honey consumed per year by responders is 499.19 gr year⁻¹, whereas the average amount of comb honey consumption is 432.99 gr year⁻¹.

The amount of the annual consumption of honey per person is 923.18 gr. In another study, Baki et al. (2017) found that annual per capita honey consumption is 1.55 kg, and approximately half of this honey consumption is composed of pine honey. On the other hand, Niyaz and Demirbaş (2017) found that consumers living in Canakkale province consume comb honey around 44.35 gr month⁻¹ and liquid honey about 315.35 gr month⁻¹. Schifani et al. (2016) found that the percentage of responders consuming honey rarely is around 29%, whereas the proportion of responders consuming honey every day is about 18%. In another study, Arvanitoyannis and Krystallis (2006) stated that although Romania is the third biggest honey suppliers in the world, the annual per capita honey consumption is between 100–150 gr. Furthermore, a similar result found in Bulgaria, the yearly per capita honey consumption is between 400-500 gr (Nikolov,

2005).

Consumers spend an average 42.08 \$ per year on liquid honey, while they spend an average 22.34 \$ on comb honey. The share of liquid and comb honey in annual food expenditure are 3.15% and 1.67%, respectively. The consumption of royal jelly and propolis, which are the other honey products of the consumers, is quite low. The average annual consumption of pollen, royal jelly, and the propolis are 34.74 gr year⁻¹, 12.37 gr year⁻¹ and 12.96 gr year⁻¹, respectively. In another study, Niyaz and Demirbaş (2017) found that the responders consume 14.87 gr pollen, 3.52 gr propolis, 0.98 gr royal jelly per month. In addition, the most commonly consumed bee product is honey, whereas the consumption frequency of other bee products was quite low.

The percentage of responders consuming liquid honey several times a week is around 29, while whereas 22.22% of the consumers stated that they did not consume liquid honey in Table 3. Moreover, while the percentage of responders consuming comb honey every day is 25.56%, the percentage of those who consume comb honey a few times in a week is 20%, and the rate of those who do not consume comb honey is 46.67%. In addition, the proportion of responders consuming pollen every day is only 0.74%. Niyaz and Demirbaş (2017) found that 34% of consumers always consumed

honey, while the majority of the consumers never consumed other bee products. Klickovic et al. (2017) found that 47% of consumers consume honey several times a week. On the other hand, the percentage of respondents who consume honey very rarely is 12%. In

another study, the frequency of honey consumption was asked to young people, the percentage of respondents who consume honey every day is around 11%, while the percentage of responders who consume honey occasionally is about 55% (Zak, 2017).

Table 2. Consumers honey consumption decision and amount of consumption

	Consumption (%)		Amount of consumption			Expenditure (\$ year ⁻¹)
	Consume	Not consume	Household gr year ⁻¹	Std Dev.	Per person gr year ⁻¹	
Liquid honey	61.11	38.89	2051.67	2761.991	499.19	42.08
Combhoney	53.33	46.67	1742.59	2520.725	423.99	22.34
Total honeyconsumption	84.44	15.56	3794.26	3706.52	923.18	64.43
Pollen	7.78	92.22	34.74	194.699	8.45	0.71
Royaljelly	1.48	98.52	12.37	183.417	3.01	19.03
Propolis	1.48	98.52	12.96	183.366	3.15	2.49

Table 3. The frequency of consumption of bee products

	Liquid honey		Comb honey		Pollen		Royal jelly		Propolis	
	Number of people	Ratio (%)	Number of people	Ratio (%)	Number of people	Ratio (%)	Number of people	Ratio (%)	Number of people	Ratio (%)
Don't consume	105	38.89	126	46.67	249	92.22	266	98.52	266	98.52
Every day	77	28.52	69	25.56	2	0.74	0	0.00	0	0.00
Several times a week	60	22.22	54	20.00	5	1.85	1	0.37	1	0.37
Once a week	9	3.33	9	3.33	2	0.74	1	0.37	1	0.37
Several times a month	10	3.70	5	1.85	5	1.85	1	0.37	1	0.37
Rarely	9	3.33	7	2.59	7	2.59	1	0.37	1	0.37
Total	270	100.00	270	100.00	270	100.00	270	100.00	270	100.00

Consumers generally prefer to buy honey products from the beekeepers (Table 4). While the majority of consumer (50.91%) buy the honey directly from the producer, the percentage of the consumers who buy honey from the supermarket is 46.67%. The rest of responders (2.42%) buy honey from the specialised honey shops.

As for comb honey, the percentage of responders buying comb honey from the producer is 61.81%, while the percentage of responders buying comb honey from the supermarket is 5.55%. Niyaz and Demirbaş (2017) found that producer and the Bee Growers Association are the most common channel preferred by consumers to buy honey. Bölüktepe and Yılmaz (2006) found that branded honey is mostly bought from markets and supermarkets, while unbranded honey is mostly bought from local suppliers and producers.

According to the survey conducted in the province of Tokat, 63.98% of responders consuming liquid honey and 71.92% of responders consuming comb honey prefer to buy honey from beekeepers. The proportion of consumers buying pollen, royal jelly and propolis from the sales centre is 9.52%, 25%, and 50%, respectively.

Schifani et al. (2016) stated that consumers tend to buy local honey instead of buying honey produced in another country. The main reason for this is that consumers believe that purchasing honey of local origin have a positive effect on the economy of rural, which means it helps to increase sustainable entrepreneurship.

When it comes to preferred package type by consumers, 79.4% of respondents buying liquid honey prefer a glass jar, and 81.97% of responders buying comb honey prefer the wooden box. Moreover, the majority of responders (76.22%) buying pollen prefers a glass jar and all consumers buying royal jelly prefer a glass jar (Table 5).

Gürer and Akyol (2018) found that glass jars (64.3%) are the most preferred by consumers, while plastic packages are the least preferred (2.4%) by consumers in the purchase of honey in Niğde province.

The socio-demographic characteristics of the consumers were analysed by using One Way ANOVA and Independent Samples T-test (Table 6). According to the results of the T-test, it is found that there is a statistically significant difference between the gender

($p < 0,10$), the condition of having diabetes ($p < 0,05$) and the amount of honey consumption. It is found that male consume honey more than female. On the other hand, Bianca (2011) found that the frequency of honey consumption among woman living in Romania is

higher than that of man. When it comes to diabetes, consumers having diabetes consume less honey than consumers not having diabetes. On the other hand, Arani et al. (2018) stated that probiotic honey has a beneficial effect on people who have diabetes.

Table 4. Bee products purchased places (%)

	Liquid honey	Comb honey	Pollen
Direct producer	50.91	61.81	61.90
Specialised honey shops	2.42	5.55	9.52
Market-supermarket	46.67	33.33	38.10
Grocer, bazaar and others	5.02	0,76	0.00

Table 5. A preferred package type of bee products (%)

	Liquid honey	Comb honey	Pollen
Plastic box	15.15	17.36	14.27
Glass jar	79.40	0.00	76.22
Tin box	5.45	2.78	4.76
Wooden box	2.42	81.97	0.00
Bag / Paper	0.61	0.71	4.76

According to the result of F test, it is found that there are two statistically significant variables ($p \leq 0,10$) which are the number of individuals in the family ($p < 0,05$) and income ($p \leq 0,10$). In this context, it was determined that the amount of honey consumption increase when income and the number of individuals in the family increase. Erdogan (2013) found that there is a statistically significant difference between income and honey consumption among staff working at Afyon Kocatepe University. There is a positive relationship between income and the amount of honey consumption, which means the amount of honey consumption increased when the income of consumers increased. Tunca et al. (2015) carried out research in various provinces of Turkey and found that there is a statistically significant difference between income and the consumption of honey. According to Schifani et al. (2016), income is a significant factor affecting consumer consumption behaviour in local honey, and it is supported by Bianca (2011). He stated that people having low income consume less honey than people having a high income. Furthermore, Roman et al. (2013) found that there is a positive correlation between the level of income and the amount of honey consumption among consumers living in Poland. As for household size, Ismaiel et al., (2014) found that there is a negative correlation between household size and the amount of honey consumption, which means per capita honey consumption decreases when the household size increases. On the other hand, marital status, age, education and the number of children in the household do not have an impact on honey consumption.

CONCLUSION

The objective of this study is to analyse the consumers' honey bee products consumption decision in Kahramanmaraş province of Turkey. According to the results, the most commonly consumed honey bee products is honey. The other honey bee products such as propolis, pollen and royal jelly are not consumed very much because of insufficient knowledge about these products. In particular, the consumption of propolis and royal jelly, which have a significant contribution to the immune system, can be increased through public and consumer awareness.

The honey that people consume to heal is unfortunately produced under the counter, and it has been sold on the market. Fake honey is produced in various ways, such as by feeding honey bees with sugar syrups instead of nectar or secretion then producing honey from these syrups or directly adding sugar syrups to honey. (Mutlu et al., 2017). This kind of fake honey affects people health adversely. It is difficult to figure out the difference between fake and real honey for the consumers. Therefore, consumers should be raised awareness about between fake and real honey by the Ministry of Agriculture and Forestry and the Turkish Association of Beekeepers. In addition, a public service announcement should publish to enable consumers to distinguish fake honey and to consume real honey.

Consumers do not prefer purchasing honey bee products over the internet as fake honey is sold to consumers especially via internet and telephone. The rate of consumers buying from the bee products sales centre is also very low. Research results show that honey producers and sellers can further increase their income from honey sales if they benefit from market segmentation according to consumer preferences.

Table 6. Socio-demographic characteristics of consumers affecting honey consumption

	N	Mean	Std. Error	Test- value (p-value)
Gender				
Female	112	3335.27	301.263	-1.787 (0.075)
Male	158	4119.62	319.168	
Marital status				
Single	61	3367.21	500.397	-0.985 (0.327)
Married	209	3918.90	252.188	
Age				
0-30	71	3470.42	447.296	0.455 (0.635)
31-50	128	3826.95	335.279	
51 and above	71	4059.15	416.291	
Education (year)				
0-5	108	3461.11	356.920	0.623 (0.601)
6-8	43	3779.07	526.239	
9-12	66	3971.97	432.438	
≥13	53	4264.15	569.960	
Household income				
≤512 \$	104	2995.19	276.802	7.796 (0.010)
513-1026 \$	125	3859.60	334.373	
≥1027 \$	41	5621.95	756.263	
Household size				
1-3	97	3006.19	301.684	3.866 (0.022)
4-5	131	4100.00	349.824	
≥6	42	4660.71	619.082	
The number of children				
0-1	79	3236.71	356.619	1.575 (0.209)
2-3	131	3883.21	326.513	
≥4	60	4334.17	545.465	
Total	270	3794.26	225.571	
The condition of having diabetes				
No	243	3980.86	242.709	6.280 (0.013)
Yes	27	2114.81	457.370	
Total	270	3794.26	225.571	

REFERENCES

- Arani NM, Emam-Djomeh Z, Tavakolipour H, Sharafati-Chaleshtori R, Soleimani A, Asemi Z 2018. The Effects of Probiotic Honey Consumption on Metabolic Status in Patients with Diabetic Nephropathy: A Randomized, Double-Blind, Controlled Trial. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-7.
- Arvanitoniannis I, Krystallis A 2006. An Empirical Examination of the Determinants of Honey Consumption In Romania. *International Journal of Food Science and Technology*, 41: 1164-1176.
- Baki F, Saner G, Adanacıoğlu H, Güler D 2017. Türkiye’de Süzme Çam Balına Yönelik Tüketici Tercihlerinin Konjoint Analizi: İzmir İli Örneği, *Balkan ve Yakın Doğu Sosyal Bilimler Dergisi*, 3(2): 50-57.
- Batt PJ, Liu A 2012. Consumer Behaviour Towards Honey Products in Western Australia. *British Food Journal*, 114(2): 285-297.
- Bianca PC 2011. Modelling Honey Consumption Behaviour in Romania by Using Socio-Demographic

- Determinants. African Journal of Agricultural Research, 6(17): 4069-4080.
- Bölüktepe FE, Yılmaz S 2006. Tüketicilerin Bal Satın Alma Davranış ve Alışkanlıklarını Etkileme Sürecinde Markanın Önemi Belirlemeye Yönelik Bir Araştırma. Uludağ Arıcılık Dergisi, 6(4), 135-142.
- Bölüktepe FE, Yılmaz S 2008. Arı Ürünleri Bilinirliğine Satın Alma Sıklığı. Uludağ Arıcılık Dergisi 8(2): 53-62
- Central Beekeeping Association 2017. Türkiye Bal Üreticileri Merkez Birliği Genel Başkanlığı, <http://www.tbub.org/page/show/90-ari-sutu.html> (Accessed date: 03/04/2019)
- Gürer B, Akyol E 2018 Tüketicilerin Bal Tüketiminde Gıda Güvenilirliği Bilincinin İncelenmesi: Niğde İli Örneği, Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 6(10): 1303-1310.
- Gyau A, Akalakou C, Degrande A, Biloso A 2014. Determinants of Consumer Preferences for Honey in the Democratic Republic Of Congo. Journal of Food Products Marketing, 20(5): 476-490.
- Ismail S, Al-Kahtani S, Adgaba N, Al-Ghamdi AA, Zulail A 2014. Factors That Affect Consumption Pattern and Market Demands for Honey in The Kingdom of Saudi Arabia. Food and Nutrition Sciences, 5: 1725-1737.
- Kekecoglu M, Gurcan EK, Soysal Mİ 2007. Türkiye Arı Yetiştiriciliğinin Bal Üretimi Bakımından Durumu. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 4(2): 227-236.
- Klickovic D, Ostojic A, Vasko Ž, Bosancic B 2017 Analysis of Attitudes of Honey Consumers in The Municipality of Novi Grad (Bosnia and Herzegovina). Agriculture and Forestry, 63 (2): 69-81.
- Kos Skubic M, Erjavec K, Klopčič M. 2018. Consumer Preferences Regarding National And EU Quality Labels For Cheese, Ham And Honey: The Case of Slovenia. British Food Journal, 120(3): 650-664.
- Mutlu C, Erbaş M., Arslan Tontul S 2017. Bal ve Diğer Arı Ürünlerinin Bazı Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, Akademik Gıda 15(1): 75-83.
- Nabwire EJC 2016. Economic Analysis of Consumers' Awareness and Willingness to Pay For Geographical Indicators and Other Quality Attributes Of Honey In Kenya PhD Thesis, The University of Nairobi, Nairobi, Kenya, 121 pg.
- Newbold P 1995. Statistics for Business and Economics. Prentice-Hall International, New Jersey, 867pp.
- Nikolov D 2005. Honey Market InBulgaria–Structure and Market Power, IAMO–Forum 2005, How Effective is The Invisible Hand. Agricultural and Food Markets in Central and Eastern Europe, 16-18.
- Niyaz ÖC, Demirbaş N 2017. Arı Ürünleri Tüketicilerinin Genel Özellikleri ve Tüketim Tercihleri: Çanakkale İli Örneği. Tarım Ekonomisi Dergisi, 23(2): 255-262
- Pocol CB 2011. Modelling The Honey Consumption Behaviour in Romania by Using Socio-Demographic Determinants. African Journal of Agricultural Research, 6(17): 4069-4080.
- Roman A, Popiela-Pleban E, Kozak M 2013. Factors Influencing Consumer Behavior Relating to The Purchasing of Honey Part 1. The Buying Process and The Level of Consumption. Journal of Apicultural Science, 57(2): 159-172.
- Schifani G, Romeo P, Guccione GD, Schimmenti E, Columba P, Migliore G 2016. Conventions Of Quality In Consumer Preference Towards Local Honey In Southern Italy. Calitatea: Acces la Succes, 17(153): 92-97.
- TÜİK 2017a. Arıcılık İstatistikleri, <https://biruni.tuik.gov.tr/hayvancilikapp/hayvancilik.zul> (Erişimtarihi: 28/10/2018).
- TÜİK 2017b. Adrese Dayalı Nüfus Kayıt Sistemi, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=95&locale=tr>(Erişimtarihi: 28/10/2018).
- Tunca Rİ, Taşkın A, Karadavut U 2015. Türkiye'de Arı Ürünlerinin Bazı İllerdeki Tüketim Alışkanlıklarının ve Farkındalık Düzeylerinin Belirlenmesi, Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(7): 556-561.
- Zak N 2017. Honey Market In The Opinion Of Young Consumers. Journal of Human Sciences. 366(1): 424-438.
- Zavodna LS, Pospisil JZ 2016. Honey Bee: A Consumer's Point of View. Environmental & Socio economic Studies, 4(3): 26-32.

Backyard Orchard Ownership: Implications For Rural Poverty Alleviation And Food Security Management in Nigeria

Felix Odemero ACHOJA^{1*}, Ogheneseroma OBODAYA²

Department of Agricultural Economics and Extension, Faculty of Agriculture, Delta State University, Asaba Campus, Nigeria.

¹<https://orcid.org/0000-0002-9705-4923>, ²<https://orcid.org/0000-0002-4123-6015>

✉: achojafelix@gmail.com

ABSTRACT

Orchards can generate financial benefits and are thus capable of alleviating poverty and food insecurity. It is important to broaden and clarify the existing body of knowledge on the dual impact of orchards ownership among indigenous farmers. This study empirically investigated the direct and indirect impact of orchards on household food security, poverty status and ownership decision of orchards. Cross sectional data were collected with structure questionnaire from randomly drawn sample of 150 farmers. Primary data collected were analyzed using relevant descriptive and inferential statistical tools (mean, percentage, standard deviation, logistic regression and chi-square). The test of hypothesis indicated significant difference in the income (poverty) level of owners and non-owners of orchards. Marketing of tree fruits generated 13% and 24% of household food security and income respectively. Multiplier index of 28% was generated by orchards ownership. Income derivable via tree diversity and food security are the most significant factors that influenced tree crop ownership decision among rural farmers. It was recommended that international organizations such as World Bank, United Nations with poverty alleviation and food security policies targeted at developing countries should consider the dual potentials of backyard orchards in this regard.

Research Article

Article History

Received : 29.03.2019

Accepted : 21.08.2019

Keywords

Orchard ownership
Backyard orchards
Financial benefits
Poverty alleviation
Food insecurity

To Cite : Achoja FO, Obadaya O 2019. Backyard Orchard Ownership: Implications For Rural Poverty Alleviation And Food Security Management In Nigeria. KSU J. Agric Nat 22(Suppl 2): 456-464. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.546913

INTRODUCTION

Orchards are permanent crops whose benefits can be exploited for many years. They are common sights in rural communities in Nigeria ranging from a few stands to plantation sizes. Economically valuable ones in this region include; Avocado pear (*Persea americana*), mango (*Mangifera indica*), coconut (*Cocos nucifera*), orange (*Citrus sinensis*), ogbono (*Irvingia gabonensis*), cocoa (*Theobroma cacao*) and pepper fruit (*Dennettia tripetala*). Economically valuable in this context is defined as having power to generate income owing to steady demand for that commodity. Studies have shown that some of these orchards not only improve nutrition and boost food supply, they also enhance economic conditions of farmers especially in rural areas and bring in needed cash for sustainable development. Marketing and processing of orchard fruits could provide employment and source of income for a good number of rural people and very relevant in poverty reduction (Achoja, 2013; Oladipo, 2008). There are indications from related literatures that orchards are important components of rural economic system

and environment. The volume of the tree fruits sold by fruits marketers in market places, the bulk of which comes from the rural environment is an indication that these tree crops have income generating potentials and deserve a documented study (Chukwuji, et al 2001).

However, the continued increase of poverty and food insecurity levels in the rural economic system have not been linked to the potentials of orchards ownership especially in the emerging economic reality conditions that envelop agricultural production. In spite of being common features in Nigerian environment, orchards have received less attention in poverty studies. A need therefore arises for this gap to be filled.

It is argued that in order to reduce poverty or increase household income, it is fundamental that economic policies be directed at strategies that promote rapid rural economic growth (Bigsten *et al*, 2003; Amalu 2005). It becomes pertinent to find out if orchards through its direct and indirect effects have the potential to influence poverty alleviation in Nigeria.

There are arguments that job creation through orchards plantation are irregular and therefore cannot

sustain livelihood development (Mayers, 2006). The need to dispute, accept or modify this assertion is of relevance to this study. Deepening our understanding on poverty alleviating potential of orchards could unfold some variables that correlate with orchards ownership. There is need to identify factors that motivate farmers to consider orchards as alternative source of income and employment. A clear understanding of such factors is important in formulating policies to develop the tree crop sector of economy.

Inadequate information has also been published about the multiplier effects (chain reaction) of orchards in rural economy through the owners of plantation (producers) and marketers of orchards products.

With food security being an important indicator of welfare of every rural household, it becomes necessary to bring to the limelight the positive relationship between orchards ownership and food security.

Orchards have a lot of untapped potentials with regards to poverty alleviation. Households in the study area are faced with the problem of making ends meet. The study wishes to postulate a concept first of its kind where rural households can make substantial ends meet from owning orchards thereby checkmating rural poverty. According to Chukwuji, et al.(2001) the fact that some of these trees do not exist by deliberate act of propagation by rural dwellers but by accident and unintended human activities relegate them to the background of unfocused economic attention. Hence, the information gap with regards to multiplier effects of orchards products on rural economy as well as the usefulness of orchards in addressing food security and poverty alleviation among households and climate change mitigation will be filled. The various opportunities in local and foreign markets for orchards products can be harnessed through policy advocacy, thus enabling rural dwellers especially youths to see orchards ownership as alternative source of income and employment.

In view of the above, the study was aimed at stimulating the formulation of policies by relevant authorities capable of attracting fruit-based cottage industries to the rural areas. This can further encourage more households in rural communities to participate in backyard orchard ownership. It is also aimed at attracting the attention of stakeholders and international organizations such as United Nations, World Bank etc. to support this concept which will revolutionize orchards sub-sector in the future

The broad objective of this study was to examine the dual impact assessment of selected orchards ownership among rural households in Delta State, Nigeria. However, the specific objectives of the study were to:

- i. determine the direct impact of orchards ownership on household income level;
- ii. determine the indirect impact of orchards ownership on orchards fruit marketer's income level;
- iii. determine the multiplier index of orchards ownership on rural economy;
- iv. identify the factors that determine the ownership decision of orchards and
- v. determine the impact of orchards on food security level of rural households

The following hypotheses were tested to guide the study:

H₀₁: The poverty status of orchards owners is not significantly different from those without orchards.

H₀₂: The selected socioeconomic factors do not significantly determine orchards ownership decision in the study area.

H₀₃: The food security level of orchards owners is not significantly different from the food security level of those without orchards.

MATERIALS and METHODS

Area of Study, Sampling Procedure and Data Collection Techniques

The research was carried out in Delta State, Nigeria. This area was chosen because of the presence of Orchards of interest to this study. The major economic activities of people include, trading, farming, menial jobs and civil service. Major crops cultivated include, cassava, maize, plantain, banana, vegetables and fruit trees. Livestock reared include poultry, piggery, sheep, goat and fishery.

A two staged sampling procedure was adopted to compile the sample for the study. The sampling frame was gotten from the respective clan chairmen as informant.

Stage 1: Of the seven (7) clans, six (6) clans were randomly selected these are; Agbarha, Ogor, Ewreni, Owheru Agbarho and Orogun clans.

Stage 2: Ten (10) orchards owners with at least each owning one of the seven (7) orchards being studied, ten (10) non-owners of orchards and five (5) sellers of orchards fruits were randomly and respectively selected from each of the 6 clans. This gave a total of (150) one hundred and fifty respondents that were selected and studied.

Data for the study were obtained from primary and secondary sources. Primary data was gathered using structured questionnaires which were personally administered to and retrieved from the respondents in the study area. The questionnaire was sectioned according to the specific objectives of the study such that it could effectively capture the required and relevant information needed for this study. Secondary data was gathered from published articles, journals and books.

Method of Data Analysis

Base on the specific objectives and hypothesis of the study both descriptive and inferential statistics were employed in the analysis of data collected. In addition to income level of orchards owners was assumed to respond to number of trees possessed (tree diversity) as derived from Simpsons Diversity Index.

Model specification for Simpson Diversity Index Determination.

$$\text{Simpson Index (D)} = \frac{\sum n(n-1)}{N(N-1)} \dots \dots \dots \text{Equation 1}$$

Where;

n = Number of tree of a particular specie

N = Total number of all tree species in the population

Decision rule: The closer the **SDI value** to **1** the higher the impact it creates on orchards owner’s income and vice versa.

Poverty status determination proxy

Poverty status of orchards owners and non-owners of orchards were determined using annual income as a proxy (Achoja and Oguh. 2017).

- High income level = low poverty level
- Low income level = high poverty level

Determination of direct impact of orchards ownership on household income level.

The impact of orchards ownership on household income level as stated in objective 1 was analyzed using counterfactual information obtained from t-test of income differential between orchards owners and non-owners of orchards. Following Achoja and Oguh (2017), the model is specified and modified as:

$$t = \frac{x - y}{\sqrt{\frac{SDx^2}{Nx-1} + \frac{SDy^2}{Ny-1}}}$$

Where;

x = Mean income of orchards owners

y = Mean income of non-owners of orchards

SDx² = Variance of income of orchards owners

SDy² = Variance of income of non-owners of orchards

Nx = Number of orchards owners

Ny = Number of non-owners of orchards

Determination of indirect impact of orchards ownership on household income level.

The proportion of income of orchards crop fruit marketers attributed to the sales of fruit was used as a measure of the indirect impact of orchards ownership on rural economy in objective 2. This is shown in the following model;

Model specification of proportion of income of orchards fruit marketers

$$= \frac{\text{income from economic tree fruit sale}}{\text{Total household income}} * \times \frac{100}{1} \text{Equation 5}$$

Determination of multiplier index of orchards ownership on rural economy

Multiplier index of orchards on rural economy as stated in objective 3 was analyzed using the percentage difference in income of orchards crop owners and non-owners of orchards. This is shown in the following model;

Model specification on multiplier index

$$= \frac{\text{Income differential}}{\text{Bench mark income}} \times \frac{100}{1} \dots \dots \dots \text{Equation 6}$$

Where;

Income differential = Difference in income between orchards owners and non-owners of orchards

Bench mark income = income of non-orchards owners

Factors that determine the ownership decision of orchards

The factors underpinning ownership decision of orchards as captured in objective 4 were analyzed with the aid of logistic regression model. This is shown in the following model and description of symbols of variable in model is shown in Table 1;

Model specification for ownership decision

$$\ln (P_{ij}/C-P_{ij}) = \beta_0 + \beta_1\text{ELO} + \beta_2\text{AVMKT} + \beta_3\text{EINC} + \beta_4\text{FOL} + \beta_5\text{ENSHT} + \beta_6\text{PFSC} + \beta_7\text{POP} + \beta_8\text{LGP} + \beta_9\text{AIGN} + \beta_{10}\text{AES} + \beta_{11}\text{TDI} + \beta_{12}\text{AST} + \beta_{13}\text{BDE} + e_i \dots \dots \dots \text{Equation 7}$$

Determination of the impact of orchards on food security level of households.

Effect of orchards on food security level of rural household as stated in objective 5 was analyzed with the aid of annual household food consumption expenditure (food security index) as used by Achoja and Oguh (2017). This is given as;

Model specification on effects of orchards on food security level of household

Food security status determination proxy

Using the United Nations US\$1 a day expected food security bench mark

- <US\$1 = Food Insecure
- >US\$1 = Food Secure

% difference in food security level

$$= \frac{\text{HFCEe} - \text{HFCEn}}{\text{HFCEn}} \dots \dots \dots \text{Equation 8}$$

Where;

HFCEe =Household food consumption expenditure of orchards owners

HFCEn= Household food consumption expenditure of non-owners of orchards

Table 1. Description of symbols of variable in model

Symbol	Description	Measurement	Expected signs
P _{ij}	Probability of owning orchards	1, if yes, 0, otherwise	
ELO	Evidence of land ownership	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	+ve
AVMKT	Availability market	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	+ve
EINC	Expected income	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	+ve
FOL	Fertility of land	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	+ve
ENSHT	Enterprise shift	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	+ve
PFSC	Perception of orchards as food security crop	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	+ve
POP	Price of products	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	+ve
LGP	Long gestation period	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	-ve
AIGN	Actual Income generated	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	-ve
AES	Access to extension information on trees	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	+ve
TDI	Tree diversity index	$0 \leq TDI \leq 1$	+ve
AST	As a lifelong asset	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	+ve
BDE	Boundary demarcation	Strongly Agree = 5, Agree = 4, Undecided = 3, Disagree = 2, Strongly Disagree = 1	+ve
$\beta_1 - \beta_{13}$	Co-efficient of parameter estimate		
β_0	Intercept		
e _i	Stochastic error term		

RESULTS and DISCUSSION

Socio-demographic Characteristics of Respondents

Table 2 shows results of socio-demographic characteristics of the surveyed backyard orchard owners in the study area.

Sex: The result showed that majority of the tree owners are males (70%) while females were (30%) (Table 2). The implication is that backyard orchards owners are male owing to the fact that they are family heads. This is similar to Ajayi and Solomon (2010) who studied: Influence of extension contact on farmers socio-economic characteristics on adoption of oil palm technologies in Aniocha North LGA of Delta State and discovered that 74% and 26% were male and female respectively.

Age: From the study it is seen that respondents aged between 51-60 years ranked highest (36.7%) (Table 2). This is a clear indication that backyard orchard owners are advanced individuals and this is due to the long gestation period of the trees. In studying small scale palm oil processing business in Nigeria, Elijah, et al (2014) discovered that 50 years and above ranked

second highest with 30% after 31-40 age bracket representing 31%.

Marital Status: The study showed that majority (81.7%) of the respondents is married while (18.3%) are single (Table 2). This is related to having a large household size for the purpose of having companionship and family labor.

Household Size: The study showed that (53.3%) of backyard orchards owners have a household size of 6-8 persons, 43.4% have a household size of 1-5 persons and 3.3% a household size of 11-15 persons (Table 2). This result is similar to that of Ekine and Onu (2008) who reported that 58.3% of households had a population of 6-10 members. This high number of household size derives from the polygamous nature of rural households in Africa and high birth rate which constitute family labor.

Level of Education: The study shows that majority of backyard orchard owners are literate. That is 38.3% of them have primary education background others had secondary and tertiary education (26.7%) and (1.7%) respectively (Table 2).

Table 2. Distribution of Socio- demographic Characteristics of Respondents

S/N/ Variables	Features	Frequency (Percentage) /N=60	Mean/Mode
1.Sex			
	Male	42(70.0)	male
	Female	18(30.0)	
2.Age			
	<20	-	
	21-30	2(3.3)	
	31-40	7(11.7)	
	41-50	11(18.3)	
	51-60	22(36.7)	55.5
	≥61	18(30.0)	
3.Marital status			
	Single	3(5.0)	
	Married	49(81.7)	married
	Widowed	8(13.3)	
	Divorced	-	
4.Household size			
	1-5	26(43.4)	
	6-10	32(53.3)	8 persons
	11-15	2(3.3)	
	16 and above		
5.Level of education			
	No formal education (illiterate)	20(33.3)	
	Primary education (literate)	23(38.3)	literate
	Secondary education (literate)	16(26.7)	
	Tertiary education (literate)	1(1.7)	
6. Years of experience			
	1-5 years	18(30.0)	
	6-10years	22(36.7)	6-10 years
	11-15years	06(10.0)	
	16-20years	04(6.7)	
	Above 20 years	10(16.7)	
7.Major Occupation			
	Farming	37(61.6)	
	Civil service	12(20.0)	
	Trading	07(11.6)	
	Others	04(6.6)	
8.Farm size			
	< 0.50hectares	57(95.0)	< 0.5hectares
	0.50-1.00hectares	03(5.0)	
	>1.00hectare	00(00.0)	
9.Orchard ownership pattern			
	personal	30(50.0)	Personal ownership
	on lease contract	10(16.6)	
	purchased	6(10.0)	
	inherited	14(23.3)	
10.Annual income(₺)			
	<40000	1 (1.7)	
	41000-80000	3(5)	
	81000-120000	9(15)	
	121000-160000	1(1.7)	
	161000-200000	45 (75)	₺169.937.29
	201000-240000	0 (0)	
	241000-300000	1 (1.7)	

Source: 2018 field data

*Figures in parenthesis are the corresponding percentage values.

About 33.3% of them did not receive formal education. In Ekine and Onu (2008) studied tree crops and revealed that 32% of the tree crop farmers had primary education while 7% and 9% had diploma and tertiary education respectively. The most likely reason for this trend in low tertiary and high primary education level could be poor family economic background during childhood and teenage years.

Years of Experience: The finding of the study in Table 2 indicates that the average backyard orchard owner's farming experience falls within a modal group that ranges from 6-10 years. The result further shows that backyard orchard owners have 1-5years experience (30%), 11-15years experience (10%), 16-20years experience and above 20years experience

Major Occupation: The result shows that the major occupation of backyard orchard owners is farming (61.6%) (Table 2). The finding further shows that 20% of them were civil servants; 11.6% were traders and the others (6.6%) were into other means of livelihood.

Farm Size: The result in Table 2 indicates that the farm size of backyard orchard owners was below 0.5ha (95%). Very few (3%) had a farm size of 0.5-1.0ha.

Backyard Orchards Ownership Pattern: Majority of backyard orchards (50%) were personally established by the owners in their personal compounds (Table 2). Further finding indicates that 16.67% of them was on lease contract; 10% was purchased together with buildings as landed properties, while 23.3% was inherited from late parents. This finding could be attributed to the fact that the backyard orchards were established on private lands or within family owned

compounds. However, a backyard orchard could be leased out to fruit marketers for an agreed period of time.

Annual Income from Orchards Fruits: The study showed that 75% of the respondent had an annual income of between ₦ 161000 - ₦ 200000, 15% had ₦81000 - ₦120000, 5% had between ₦41000 - ₦80000, 1.7% had less than ₦40000, another 1.7% had between ₦121000-₦160000 while another 1.7% had between ₦241000 - ₦300000 (Table 2). This study agrees with Unaeze, et al. (2013) study on; Collecting and marketing bitter kola (*Garcinia kola*) in Nkwere Local Government Area of Imo State Nigeria. The study revealed high profit margins in the sale of bitter kola by producers and intermediaries. The reason for this variation gap in income is as a result of seasonal price fluctuation, tree diversity index and high returns from some orchards such as "pepper fruit" and "ogbono".

Distribution of orchards ownership among respondents

Table 3 shows the distribution of the 7 orchards investigated by this study. The result shows that in order of frequency, coconut was highest with (84 stands) followed by mango (80 stands), ogbono (79 stands), orange (57 stands), pear (31 stands), pepper fruit (27 stands) and cocoa (11 stands) respectively. This result expresses the diversity in the ownership of orchards among the respondents thus justifying the use of Simpson Diversity Index as a determinant of orchards ownership owing to the income derivable from the diversity.

Table 3. Distribution of orchards ownership among respondents

S/N	Orchards	Frequency	Mean Income (₦)
1	Pear trees	31	43200
2	Mango trees	80	57600
3	Coconut trees	84	48400
4	Orange trees	57	82050
5	Ogbono trees	79	91500
6	Cocoa trees	11	28100
7	Pepper fruit trees	27	31200

*Note: Multiple responses were recorded

Direct impact of orchards on household income level

Table 4 shows the t- test result at 1% level between the annual income of orchards owners and non-owners of orchards shows that there is a significant difference between the income of orchards owners and non-owners of orchards. This is so because orchards owners have a higher mean annual income level than non-

owners of orchards resulting from the extra income of ₦37,394.92 gotten from owning orchards. According to Chukwuji et al (2001) the annual cash income from compound tree crops though small in magnitude was appreciated when viewed in the light of being the major supplemental income of rural dwellers annual income.

Table 4. T- test result of annual income of orchards and non-owners of orchards

Variables	Mean	SD	Df	t. cal	T critic
Orchards owners	₦169,937.29	61812.93	58	46.04**	1.67
Non owners of orchards	₦132,542.37	53450.37			

Hypothesis testing

Ho1: The poverty status of orchards owners is not significantly different from those without orchards. From the result in Table 4 since the T-cal. is greater than T- tab, the null hypothesis is rejected. Thus the alternate is accepted that there is a significant difference in the poverty status of orchards owners and non-owners of orchards.

Indirect impact of orchards ownership on household income level

Contribution of orchards fruit marketing to households' income in rural areas is shown Table 5.

Table 5 shows the result shows that 24.2% of the

income of fruit marketers is attributable to the sale of tree fruits. Further result (Table 5) shows that backyard orchard owners realized 75.8% (N184,600) of total household income from other sources. This finding implies that backyard orchard owners derive additional income from the orchards to support household income as a strategy to alleviate poverty. This agrees with Rana and Islam (2010) earlier study on the role of tree husbandry in the rural economy of the south-eastern region of Bangladesh and reported that palm trees contributed 26% of total annual income of the households. This proportion can be seen as the indirect contribution of orchards ownership on household income in the rural economy.

Table 5. Contribution of orchards fruit marketing to households' income in rural areas

S/N	Variable	Mean income	Proportion of Household Income
1	Income from the sale of Tree fruit	₦59000	24.2%
2	Income from other sources	N184600	75.8%
3	Total income of fruit marketers	N243600	100%

Multiplier index of orchards ownership on rural economy

From Table 6 the result shows that general income level in the rural economy will increase by 28.2% as a result of mean income of orchards owners injected into the rural economy. This finding implies that backyard orchard owners are more empowered by the income derived from orchards to address rural poverty.

Similarly, Hiralal (2015) study emphasized the importance of backyard coconut farming in Indian agriculture by exerting profound influence on the rural economy of many states in India; providing economic sustenance to more than 10 million people. It also showed that processing and related activities centered in backyard coconut farming generate employment opportunities for over two million people in India'

Table 6. Result of multiplier index of orchards ownership on rural economy

S/N	Variable	Mean income	Income differential	Multiplier index
1	Tree crop owners	₦ 169937.29	₦37394.92	28.2%
2	Non owners	₦132542.37		

Table 7 shows the result of the Logistic regression of factors that determine orchards ownership decision. The R² of this analysis implies that 67.7% of the variation in tree ownership decision is as a result of the changes in the identified factors while the other 32.3%

is attributed to other variables not captured in the study one of which is transplanting shocks (TM). The result shows that of the 13 identified variables 7 were significant and their test of significance help to indicate their importance in explaining the orchards ownership decision.

Table 7. Regression Result showing the Factors that determine the ownership decision of orchards

Variables	coefficient	Standard error	P. value	t.value
ELO	1.620	0.881	0.067	1.83
AVMKT	0.629	0.434	0.148	1.45
EINC	0.590	1.137	0.604	0.52
FOL	1.387	0.655	0.034*	2.12
ENSHT	- 1.007	0.485	0.041*	-2.47
PFSC	3.098	0.971	0.016*	3.19
.907	.907	.907	.907	.907
LGP	-0.073	1.128	0.948	-0.07
AIGN	0.907	1.013	0.371	0.90
AES	0.911	0.431	0.034*	2.11
TDI	3.089	0.971	0.001**	3.18
AST	-0.888	1.349	0.510	-0.66
BDE	2.663	1.336	0.046*	1.96

** = 1% significant level, * = 5% significant level, R² = 67.7%

Fertility of land (FOL):The study revealed that Fertility of land was positive and significant at 1%. It therefore means that the more fertile the land the more the tendency to grow or own orchards and vice versa.

Enterprise shift (ENSHT):Enterprise shift was identified to be significant at 1% and negative implying an opposite direction in movement that is the higher the tendency to shift to other on farm agricultural enterprises the lesser the tendency to own orchards and vice versa. This shift could be attributable to the long gestation period of orchards in terms of growth and returns.

Access to extension information on trees (AES): Access to extension information on trees was also significant at 1% and positive implying that the more information farmers receive with regards to orchards the more the desire to own them and vice versa.

Factors that determine the ownership decision of orchards

Tree diversity index (TDI): Tree diversity index was discovered to be positive and significant at 1%. TDI is a measure of how the ownership of more than one kind of orchards influences income and thus ownership decision. The study revealed that the higher the TDI the higher the tendency to own orchards and vice versa.

Boundary demarcation (BDE): Boundary demarcation was discovered to be significant at 5% and positive that is the more people view or see orchards as a cheaper and long-term form of securing landed property while making returns from sales the higher the tendency to own orchards and vice versa.

Perceived as a food security crop (PFSC): Perceived as a food security crop was identified as significant at 1% and positive that is the higher the perception as a food security the higher the tendency to own orchards and vice versa.

Price of product (POP): Price of product from the study was discovered to be positive and significant at 1%. POP is an income indicator it therefore means that the higher the price of the product the higher the income the higher the decision to own orchards and vice versa. This is particularly true for trees like “ogbono” and

“pepper fruit” with high product prices.

Hypothesis testing

H₀₂: The selected socioeconomic factors do not significantly determine orchards ownership decision in the study area. The result in Table 6 shows that the selected factors significantly determine orchards ownership decision thus the null hypothesis is rejected and the alternate accepted that the selected factors significantly determine orchards ownership decision among rural people.

Effect of orchards ownership on food security level of households

From Table 8 the result of the analysis shows that monthly household food consumption expenditure (HFCE) of orchards owners was ₦12,250 while that of non-owners is ₦10,620. The percentage difference of 13% implies that the household food consumption expenditure of tree owners is higher than that of non-owner of orchards by 13%. This means that the significant difference in the income level of these two groups as seen in Table 1 is relating to the food security level in favour of orchards owners. The table also shows the food security status of the two groups. Using the United Nations 1 dollar a day (₦360.50) expected food security bench mark, the daily actual food security level of orchards owners was discovered to be ₦395 per day weigh above the bench mark thus making them food secure while that of non-owners of orchards was ₦342 per day weigh below the bench mark thus making them food insecure. This also signifies that the significant difference in the income level of these two groups reveals their food security status. This agrees with Jill (1993) study on: Household food security, farm tree, and agro-forestry. A comparative study in Indonesia and Philippines; which revealed that ownership of orchards enhances household food security directly by providing food and indirectly through provision of input to other food producing parts of the farm system. Implying therefore that trees provide cash enabling many rural households to purchase food while for farming household with limited resources, trees provide products to eat or sell.

Table 8. Effect of orchards ownership on food security level of households

S/N	Variable	Monthly HFCE	% Difference	Daily expected HFCE	Daily actual HFCE	Remark
1	Orchards owners	₦12250	13%	\$1USD (₦360.50)	₦395	Food secured
2	Non owners of orchards	₦10620		\$1USD (₦360.50)	₦342	Food insecure

Hypothesis testing

H₀₃: The food security level of orchards owners is not significantly different from the food security level of non owners of orchards. The result in Table 8 shows that there is significant difference in the food security

level of orchards owners and non-owners of orchards. Thus, the null hypothesis is rejected and the alternate accepted that the food security level of orchards owners is significantly different from the food security level of non-owners of orchards.

CONCLUSION

This study empirically investigated the direct and indirect impact of orchards on household food security, poverty status and ownership decision of orchards. We got sufficient evidence to conclude that the incomes of orchards owners were found to be significantly higher than that of non-owners of orchards. Orchards were also found to have significant indirect impact on the rural economy in through increase in the annual income of fruit marketers. Orchards ownership has extensive (multiplier) effect on rural economy. We found sufficient evidence to conclude that income expectancy is the most significant driving variable that influenced backyard orchard ownership by rural people. In addition, orchards ownership decision was perceived by respondents as strategic food security option. Orchards ownership was found to create significant impact on the food security level of owners.

On the basis of the findings we recommended that tree planting campaigns of the Government and Non-governmental organizations should be anchored on backyard orchard ownership as a means of addressing rural household poverty and food security in developing countries such as Nigeria. Further research should be carried out to examine the attitude of rural people towards orchards planting for environmental sustainability in Nigeria.

REFERENCES

- Achoja FO, Oguh VO 2017. Income effect of climate change Adaption technologies among crop farmers in Delta State, Nigeria. *International Journal of Agric and Rural Dev.* 20(2): 3242-3247.
- Achoja FO 2013. Enterprise shift decision among natural rubber plantation owners in the rainforest zone of Delta State, Nigeria. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 3(2): 39-44.
- Ajayi MT, Solomon O 2010. Influence of extension contact and farmers socio-economic characteristics on adoption of oil palm technologies in Aniocha North Local Government Delta State, *JAGST* 12(2): 35-46.
- Amalu UC 2005. Poverty alleviation and agriculture in sub-Saharan Africa, the Nigeria Experience, *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 3(2): 230-236.
- Bigsten A, Kebede B, Shimeles A, Taddess M 2003. Growth and Poverty Reduction in Ethiopia guidance from household panel surveys, *World Development* 31(1): 87-106.
- Chukwuji CO, Osagwu CN, Inoni OE 2001. Potential benefits of rural compound food tree crops in Delta State. *International Journal of Environment and Development.* 5(2)
- Ohimain EI, Emeti CI, Izah SC, Eretinghe DA 2014. Small-Scale Palm Oil Processing Business in Nigeria: A Feasibility Study. *Greener Journal of Business and Management Studies*, 4(3): 070-082.
- Ekine DT, Onu ME 2008. Economics of small scale palm oil processing in Ikwere and Etche Local Government Area of River State, Nigeria. *Journal of Agriculture and Social Research* 8(2): 1-9.
- Hiralal J 2015. Importance of coconut farming in Indian agriculture. *Rahtriya Krishi* 10(2): 94-96.
- Jill MB 1993. Household food security, farm trees and Agro forestry: A comparative study in Indonesia and the Philippines. *Human Organization* 52(2): 130-141
- Ladipo DO 2000. Harvesting of *Irvingia gabonensis* and *Irvingia wombulu* in Nigeria forest. Potentials for the development of sustainable systems. Paper presented at the seminar harvesting of non weed forest products held at Menemen – Izmir Turkey. <http://www.fao.org/documents/shewcdr.asp?Ur/file/DOCREP/005/Y4496t/Y4496t 32.htm>.
- Mayer J 2006. Poverty Reduction through commercial forestry. What evidence? What prospect? The forest Dialogue, Research paper No, 2 ATFD publication Number 2.
- NPC (National Population Commission) 2006. Population census of Federal Republic of Nigeria, analytical report at the national level. National Population Commission, Abuja.
- Oladipo, JA 2008. Agro Industry as strategy for rural developmnt. An Impact assessment of Nigeria oil palm industry. *European Journal of social science*, 7 (1): 75-87.
- Rana MP, Islam MS 2010. The role of palm husbandry in rural economy of the south-eastern region of Bangladesh. *iForest-Biogeosciences and Forestry*, 3(2): 39.
- Unaenze HC, Oladele AI, Agu LO 2013. Collecting and Marketing of Bitter Kola (*Garcinia Kola*) in Nkwere Local Government Area, Imo State, Nigeria. *Egyptian Journal of Biology* 15: 37-43.

Anticancer Uses of Medicinal Plants in Turkish Traditional Medicine

Mustafa Eray BOZYEL^{1*}, Elif MERDAMERT BOZYEL², Kerem CANLI³, Ergin Murat ALTUNER⁴

^{1,2}Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Arts and Science, Department of Biology, Çanakkale, Turkey, ³Dokuz Eylül University, Faculty of Science, Department of Biology, İzmir, Turkey, ⁴Kastamonu University, Faculty of Science and Arts, Department of Biology, Kastamonu, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-5556-4880>, ²<https://orcid.org/0000-0001-5470-2372>, ³<https://orcid.org/0000-0001-6061-6948>

⁴<https://orcid.org/0000-0001-5351-8071>

✉: m.eraybozyel@gmail.com

ABSTRACT

The use of plants as therapeutic agents have been known since the ancient times. In developing countries, traditional medicinal plants are critical for disease treatment. Various herbal drugs are obtained from these plants for therapeutic use. These herbal drugs are used in the treatment of many diseases from diabetes to cancer. Today, cancer is one of the most important life-threatening diseases for human. Some of the methods used in the treatment of cancer include herbal sources. The scientific world is not oblivious to many herbal drugs used for cancer in traditional treatment methods. Due to the limited effectiveness of drugs, an increasing number of studies have been conducted in the last decade to increase the success of cancer treatments. In recent years, the importance given to the herbal drugs used for medicinal purposes and the studies on the medicinal uses of plants have increased in our country. In this review, researches about the herbal drugs traditionally used against cancer by the local people were investigated. As a result of the study, 160 plant taxa and 17 multi-herbal formulas were reported for cancer treatment in Turkish traditional medicine.

Review Article

Article History

Received : 06.04.2019

Accepted : 22.08.2019

Keywords

Anticancer

Medicinal plants

Herbal drugs

Multi-herbal formulas

Turkish traditional medicine

Türk Geleneksel Tıbbında Tıbbi Bitkilerin Antikanser Kullanımları

ÖZET

Bitkilerin terapötik ajanlar olarak kullanımı, antik çağlardan beri bilinmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde, geleneksel şifalı bitkiler hastalık tedavisi için kritik öneme sahiptir. Bu bitkilerden terapötik kullanım için çeşitli bitkisel ilaçlar elde edilmiştir. Bu bitkisel ilaçlar diyabetten kansere kadar birçok hastalığın tedavisinde kullanılır. Günümüzde kanser, insan yaşamını tehdit eden en önemli hastalıklardan biridir. Kanser tedavisinde kullanılan bazı yöntemlerin de bitkisel kaynakları vardır. Bilim dünyası, geleneksel tedavi yöntemlerinde kansere karşı kullanılan pek çok bitkisel ilaca kayıtsız kalmamıştır. Kanser tedavisinde ilaçların sınırlı etkinliği nedeniyle, tedavi başarısını arttırmak için bitkisel ilaçların kullanımında son on yılda artan sayıda araştırma yapılmıştır. Son yıllarda ülkemizde tıbbi amaçla kullanılan bitkisel ilaçlara verilen önem artmış ve bitkilerin tıbbi kullanımınlarına ilişkin çalışmalar çoğalmıştır. Bu derlemede, yerel halk tarafından kansere karşı geleneksel olarak kullanılan bitkisel ilaçlar hakkındaki araştırmalar incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda, Türk geleneksel tıbbında kanser tedavisinde kullanılan 160 bitki taksonu ve 17 çoklu-bitkisel formül bildirilmiştir.

Derleme Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 06.04.2019

Kabul Tarihi : 22.08.2019

Anahtar Kelimeler

Antikanser

Tıbbi bitkiler

Bitkisel ilaçlar

Çoklu-bitkisel formüller

Türk geleneksel tıbbı

To Cite : Bozyel ME, Merdamert Bozyel E, Canlı K, Altuner EM 2019. Anticancer Uses of Medicinal Plants in Turkish Traditional Medicine. KSU J. Agric Nat. 22(Suppl. 2): 465-484. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.550334.

INTRODUCTION

In the first ages, it was thought that people benefit from medicinal plants began with the observation

that the injured animals were trying to heal themselves with the plants around them (Altan et al., 1999).

Starting from the prehistoric period, the civilizations more advanced than other civilizations such as Mesopotamia, Ancient Egypt, Hittite, Greek, Roman, Seljuk and Ottoman, gave importance to the use of plants as natural therapeutics and transferred this information to later generations. They used the plants for medicinal purposes and made the nomenclature in a way to draw attention to their medicinal properties. It is known that the civilizations living in Anatolia have been using medicinal plants since the first ages. In the Republican Period, traditional medicinal researches were conducted to collect and transfer information to future generations (Özbek, 2005).

Producing and using synthetic drugs was one of the most important developments occurred with the industrial revolution (Van Overwalle, 2006). After the industrial revolution, synthetic drugs were found to have side effects. Because consumers were provided more information about health, their tendency has shifted towards medicinal plants instead of synthetic drugs (Başer, 1998). Drugs containing the composition of medicinal substances, which are synthesized by one or more plants belonging to the group of medicinal plants are called herbal drugs (Van Overwalle, 2006).

According to the report prepared by the WHO and studies from 91 countries, the total amount of medicinal plants used for treatment purposes were around 20,000 (WHO, 1979; Penso, 1983). It is believed that this number is far from the actual amount. Because, although up to only 140 medicinal plants were recorded for Turkey, which were registered in the Turkish codex of 1948 and 1974 (Penso, 1983), the number of medicinal plants currently used in the treatment purposes are known to be at least about 500. It is emphasized that the actual amount of medicinal plants used in the world should be around 100.000 (Baytop, 1999).

Because of its important geographical location, Turkey is one of the leading countries in aromatic and medicinal plant trade. The superiority provided by its geographical location has brought wealth to Turkey in terms of aromatic and medicinal plants compared to other countries and this has enabled the creation of many industrial inputs (Bayram et al., 2010).

Instead of ignoring the benefits that can be obtained from plants used for centuries, it has been thought that it would be more appropriate to investigate local formulas or recipes with the studies (Faydaoğlu and Sürücüoğlu, 2011). In recent years, the importance given to the plants used for medicinal purposes and the number of related studies have increased in our country (Başer et al., 1986; Malyer et al., 2004; Çömlekçioğlu and Karaman, 2008; Monteiro et al., 2010; Polat et al., 2011; Tulukçu and Sağdıç, 2011; Selvi et al., 2012; Canli et al., 2016; Canli et al., 2017a; Canli et al., 2017b; Canli et al., 2017c; Canli et

al., 2017d; Bozyel and Merdamert, 2018; Canli et al. 2019; Bozyel et al., 2019).

This study examines the recent ethnobotanical studies to form a compilation on medicinal plants used as anticancer in Turkish Traditional Medicine with their local names, parts and usage forms.

The Importance of Medicinal Plants in Cancer Treatment

Cancer can result from abnormal proliferation of any of the different kinds of cells in the body, so there are more than a hundred distinct types of cancer, which can vary substantially in their behavior and response to treatment. The most important issue in cancer pathology is the distinction between benign and malignant tumors. A tumor is any abnormal proliferation of cells, which may be either benign or malignant. A benign tumor, such as a common skin wart, remains confined to its original location, neither invading surrounding normal tissue nor spreading to distant body sites. A malignant tumor, however, is capable of both invading surrounding normal tissue and spreading throughout the body via the circulatory or lymphatic systems (metastasis). Only malignant tumors are properly referred to as cancers, and it is their ability to invade and metastasize that makes cancer so dangerous. Whereas benign tumors can usually be removed surgically, the spread of malignant tumors to distant body sites frequently makes them resistant to such localized treatment (Cooper and Hausman, 2007).

Studies have shown that DNA sequence changes or mutations caused by various chemical, physical or toxic agents are responsible for cancer (Herceg and Hainaut, 2007). Overall, 80% of all cancers are thought to be due to environmental factors (Higginson and Muir, 1977).

Both benign and malignant tumors are classified according to the type of cell from which they arise (Cooper and Hausman, 2007). Cancers are usually divided into four groups based on the cell type. Leukemia and lymphomas are composed due to the excessive proliferation of leukocytes and lymphocytes. Sarcomas are recognized as tumors of tissues that develop from embryological mesoderm, such as muscle, bone and cartilage. Carcinomas constitute 85% of cancers and they originate from glands, breast, skin and urogenital tissues (such as prostate, cervix) (Dilsiz, 2009).

Tumors are further classified according to tissue of origin (e.g., lung or breast carcinomas) and the type of cell involved. For example, fibrosarcomas arise from fibroblasts, and erythroid leukemias from precursors of erythrocytes (red blood cells) (Cooper and Hausman, 2007).

One of the main reasons for the difficulties associated

with cancer treatment is the metastatic nature of cancer. The asymptomatic nature of certain cancers and the lack of diagnosis allow the cancer to spread to different parts of the body from its site of origin without any medical intervention. The first site where the cancer is starts is called the “primary cancer site” whereas the sites in which cancer has spread is known as the “secondary or metastatic site”. In order to spread the cancer cells, primary sites have acquired the ability to invade and colonize a distant site and eventually spread into different parts. There are three major methods of cancer metastasis: local spread, through blood circulation and via the lymphatic system. So, when cancer metastasizes the treatment should not only be directed towards the primary cancer but also needs to eliminate the secondary ones. This poses a great problem. Moreover, there are certain metastatic events in cancer which are too small to be detected. These are called micro metastases events. For a few cancers, blood tests can detect the marker proteins released by the cancer cells. These markers can indicate the presence of cancer spread which is difficult to identify by normal scanning. But unfortunately, most of the cancer specific markers have not yet been identified (Chakraborty and Rahman, 2012).

Cancer is a disease, which has a rapid increase in incidence and mortality rate. Although it took place in 7th-8th places in the list of diseases causing death at the beginning of the century, today it is the second place in many countries after cardiovascular diseases (Haydaroglu, 2007). The most common types of cancer are lung, colorectal and prostate cancer in men; breast, colorectal and cervical cancer in women (Tuncer, 2009).

Today, the active substance of many drugs, such as paclitaxel, used in the treatment of cancer is derived from natural sources. Most of these natural sources are plants that can synthesize a wide variety of chemicals. Plant chemicals show their anticancer effects by mechanisms such as carcinogen inactivation, antiproliferation, cell cycle suspension, induction of apoptosis and differentiation, suppression of angiogenesis, antioxidation and reduction of multiple drug resistance (Vauzour et al., 2010).

In recent years, studies of cancer treatment with herbal drugs has increased in Turkey (Ceylan et al., 2002; Inanç et al., 2006; Tarhan et al., 2009; Tuna et al., 2011; Arslan et al., 2013; Koçuşlı and Demircan, 2017; Yalcin et al., 2017).

According to the World Health Organization (WHO) data (WHO, 2001), 80% of the world's population is treated with herbal drugs (Sarı et al., 2010; Chikezie and Ojiako, 2015; Msomi and Simelane, 2018). In this case, ethnobotanical knowledge transferred from the first ages to the present day comes to the fore and the use of medicinal plants is gaining importance (Bozyel and Merdamert, 2018).

Since there are many plants with this feature, only the most used 160 taxa from 53 families are listed (Table 1). However, most studies have addressed unspecified cancer as mentioned in Figure 1.

In addition, 17 different multi-herbal formulas are also listed (Table 2). However, most studies have addressed unspecified cancer as mentioned in Figure 2.

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
Adoxaceae					
<i>Sambucus ebulus</i> L.	Mürver otu	Fruits	raw eaten (mature)	Unspecified cancer	Koçyiğit and Özhatay, 2006, Tuzlacı, 2016
<i>Viburnum opulus</i> L.	Gilaburu	Whole plant	-	Unspecified cancer	Tarakçı, 2006
Amaranthaceae					
<i>Spinacia oleracea</i> L.	Ispanak	Leaves	-	Unspecified cancer	Deniz et al., 2010
Amaryllidaceae					
<i>Allium ampeloprasum</i> L.	Pirasa	Whole plant	raw eaten, cooked	Unspecified cancer	Güzel et al., 2015
<i>Allium cepa</i> L.	Soğan	Bulbs	infusion	Unspecified cancer	Hayta et al., 2014
<i>Allium sativum</i> L.	Sarmısak	Bulbs Leaves	crushed and mixed with lemon juice raw eaten (fresh)	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
** <i>Allium tuncelianum</i> (Kollmann) Özhatay, B.Mathew and Şiraneci	Tunceli sarmısağı	Bulbils Bulbs	raw eaten -	Unspecified cancer	Tuzlacı and Doğan, 2010; Altundag and Ozturk, 2011, Tuzlacı, 2016
<i>Narcissus tazetta</i> L.	Nergis	Stems Flowers	decoction	Blood cancer	Çömlekçioğlu and Karaman, 2008
Anacardiaceae					
<i>Cotinus coggygria</i> Scop.	Boyacı sumacı	Leaves Wood	decoction	Unspecified cancer Colon cancer Skin cancer	Kültür, 2007, Tuzlacı, 2016, Güzel et al., 2015
<i>Pistacia terebinthus</i> L.	Menengiç	Branches Leaves	raw eaten	Unspecified cancer	Tetik et al., 2013
<i>Pistacia terebinthus</i> ssp. <i>terebinthus</i> L.	Menengiç	Leaves	fresh or boiled mixed with olive oil	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Pistacia palaestina</i> Boiss.	Çöğre	Branches Leaves	decoction	Unspecified cancer	Polat et al., 2013
Apiaceae					
<i>Eryngium campestre</i> L. var. <i>virens</i> Link	Yer kestanesi, Kengel	Roots Whole plant	decoction	Prostate cancer Breast cancer	Tuzlacı and Şenkardeş, 2011; Tuzlacı, 2016
<i>Heracleum trachyloma</i> Fisch. and C.A.Mey.	Poğluk	Leaves Stems	decoction raw eaten	Unspecified cancer	Polat et al., 2013, Tuzlacı, 2016; Altundag and Ozturk, 2011
Apocynaceae					
<i>Nerium oleander</i> L.	Zakkum	Flowers Leaves Flo. branches Buds Pedicel Scape Latex Roots Whole plant	decoction infusion - decoction (grind) -	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016; Akaydin et al., 2013, Karcı et al., 2017, Sargin et al., 2015, Tuzlacı, 2016
Araceae					
<i>Arum elongatum</i> Steven	Yılancücüğü	Tubers	raw eaten	Unspecified cancer	Diker, 2008
<i>Arum italicum</i> Mill.	Domuz lahanası	Fruits Tubers	raw eaten (fresh) decoction grated and mixed with honey	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
<i>Dracunculus vulgaris</i> Schott	Yılanbıçağı	Fruits Tubers Leaves	raw eaten - -	Unspecified cancer	Bulut, 2008, Tuzlacı, 2016
Asparagaceae					
<i>Asparagus acutifolius</i> L.	Tilkisen	Fruits	raw eaten (fresh)	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Aspleniaceae					
<i>Asplenium ceterach</i> L.	Dalakotu	Leaves	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Asteraceae					
<i>Achillea arabica</i> Kotschy	Hazanbel	Leaves Flowers Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Tekin, 2011 Tuzlacı, 2016
<i>Achillea pannonica</i> Scheele	Kurpotu	Aerial parts Leaves	decoction infusion	Lung cancer Unspecified cancer	Kültür, 2007; Tuzlacı, 2016
<i>Anthemis kotschyana</i> var. <i>kotschyana</i> H.Duman	Koç papatyası	Capitula	infusion	Prostate cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Artemisia absinthium</i> L.	Acı pelin	Leaves Flowers	infusion	Unspecified cancer	Çömlekçiöğlü and Karaman, 2008
<i>Calendula arvensis</i> M.Bieb.	Portakal nergisi	Aerial parts Capitula	infusion crushed	Skin cancer	Sargin et al., 2015, Tuzlacı, 2016
<i>Calendula officinalis</i> L.	Aynısafa	Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Ugulu et al., 2009; Tuzlacı, 2016
<i>Carduus nutans</i> L.	Eşekdikeni	Fruits	decoction (crushed)	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Carduus nutans</i> ssp. <i>nutans</i> L.	Eşekdikeni	Flowers	mixed with honey or sugar	Throat cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Carduus nutans</i> ssp. <i>leiophyllus</i> (Petrovič) Stoj. and Stef.	Kerbeş	Aerial parts	decoction	Unspecified cancer	Yeşilyurt et al., 2017
<i>Centaurea depressa</i> Bieb.	Peygamber çiçeği	Capitula	infusion	Intestinal cancer Colorectal cancer	Tuzlacı and Şenkardeş, 2011, Tuzlacı, 2016
<i>Cichorium intybus</i> L.	Hindiba	Roots Aerial parts Flo. branches Stems	- raw eaten - infusion	Unspecified cancer Blood cancer	Tuzlacı, 2016, Sezik et al., 2001, Tuzlacı, 2016, Sargin et al., 2015
<i>Cirsium</i> sp.	Deve dikeni	Roots	decoction	Unspecified cancer	Simsek et al., 2004; Tuzlacı, 2016
<i>Cirsium haussknechtii</i> Boiss.	İncekangal	Aerial parts	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
<i>Cirsium rhizocephalum</i> C.A.Mey.	Bargana	Capitula	raw eaten	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Cota tinctoria</i> (L.) J.Gay ex Guss. var. <i>tinctoria</i>	Boyacı papatyası	Flowers Leaves Aerial parts	decoction infusion decoction	Unspecified cancer Lung cancer	Cakilcioglu et al., 2011, Tetik et al., 2013 Tuzlacı, 2016
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench	Ölmezçiçek	Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Helichrysum arenarium</i> ssp. <i>rubicundum</i> (K.Koch) P.H.Davis and Kupicha	Yaylagülü	Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Helichrysum plicatum</i> DC. ssp. <i>plicatum</i>	Mantuvar	Flowers Aerial parts	infusion	Unspecified cancer Laryngeal cancer	Güneş et al., 2017, Tuzlacı, 2016
<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Alman papatyası	Aerial parts Flo. branches Flowers	infusion	Throat cancer	Sargin et al., 2015
<i>Onopordum acanthium</i> L.	Galagan	Seeds Fruits	powder mixed with honey mixed with honey	Unspecified cancer	Özgen et al., 2012, Tuzlacı, 2016
<i>Onopordum tauricum</i> Willd.	Atdiken	Stems	raw eaten (peeled-fresh)	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Onopordum turcicum</i> Danin	Bozkangal	Flowers	mixed with honey or sugar	Throat cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Picnomon acarna</i> (L.)Cass.	Kılçıkdiğer	Leaves	infusion	Unspecified cancer	Sargin et al., 2015
<i>Sonchus asper</i> ssp. <i>glaucescens</i> (Jord.) Ball	Gevirtlek	Leaves Aerial parts	decoction salad with vinegar and garlic raw eaten	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Tussilago farfara</i> L.	Öksürükotu	Root barks	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Boraginaceae					
<i>Heliotropium circinatum</i> Griseb.	Deli bambulotu	Flo. branches	infusion	Unspecified cancer Liver cancer	Tuzlacı and Doğan, 2010; Altundag and Ozturk, 2011, Tuzlacı, 2016
<i>Trachystemon orientalis</i> (L.) G.Don	Kaldirik	Leaves	decoction	Breast cancer	Karcı et al., 2017
Brassicaceae					
<i>Brassica cretica</i> Lam.	Adalahanası	Flo. parts	raw eaten decoction	Prostate cancer	Tuzlacı, 2016

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	Çobançantası	Leaves Shoots Seeds	-	Unspecified cancer	Doğanoğlu et al., 2006
<i>Nasturtium officinale</i> R.Br.	Suteresi	Aerial parts	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Raphanus sativus</i> L.	Turp	Tuber	inside of tuber scooped out and filled with honey; after one night, water that spilled over from the pit is drunk.	Unspecified cancer	Günbatan et al., 2016
<i>Sinapis arvensis</i> L.	Hardal	Leaves	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Capparaceae					
<i>Capparis sicula</i> ssp. <i>sicula</i> Veill.	Delikarpuzu	Fruits Roots	mixed with honey decoction	Unspecified cancer	Akaydin et al., 2013; Tuzlacı, 2016
Caprifoliaceae					
** <i>Cephalaria speciosa</i> Boiss. and Kotschy	Yıldız pelemiri	Flo. branches Aerial parts	decoction	Unspecified cancer Lung cancer	Tuzlacı and Doğan, 2010; Altundag and Ozturk, 2011, Tuzlacı, 2016
<i>Dipsacus laciniatus</i> L.	Feşçitarağı	Aerial parts Stems	decoction poultice decoction poultice	Unspecified cancer	Tuzlacı and Doğan, 2010, Tuzlacı, 2016, Altundag and Ozturk, 2011
Cistaceae					
<i>Cistus laurifolius</i> L.	Karağan	Flower buds Leaves	decoction	Unspecified cancer	Günbatan et al., 2016, Tuzlacı, 2016
Colchicaceae					
<i>Colchicum</i> sp.	Acıçiğdem	Seeds	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Convolvulaceae					
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	Tarla sarmaşığı	Aerial parts	raw eaten (fresh) infusion	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Cucurbitaceae					
<i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. and Nakai	Karpuz	Exocarp	dried, burnt, and made into ash/applied/ext.	Mouth cancer	Güneş, 2017
<i>Cucurbita maxima</i> Lam.	Helvacı kabağı	Fruits Seeds	raw eaten	Prostate cancer	Güzel, et al., 2015
<i>Cucurbita pepo</i> L.	Sakız kabağı	Seeds	decoction (crushed)	Prostate cancer	Tuzlacı, 2016
Cupressaceae					
<i>Cupressus sempervirens</i> L.	Servi	Cones	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
<i>Juniperus oxycedrus</i> ssp. <i>oxycedrus</i>	Katran ardıcı	Cones	decoction with sugar decoction	Prostate cancer Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Equisetaceae					
<i>Equisetum giganteum</i> L.	Kırk kilitotu	Leaves Shoots	-	Unspecified cancer	Doğanoğlu et al., 2006
Ericaceae					
<i>Rhododendron caucasicum</i> Pall.	Kafkas ormangülü	Leaves	-	Unspecified cancer	Saraç et al., 2013; Tuzlacı, 2016
Fabaceae					
<i>Astragalus amblelepis</i> Fisch.	Kütgeven	Aerial parts	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Astragalus brachycalyx</i> Fisch. ex Boiss.	Yağlı geven	Gum	mixed with honey	Unspecified cancer	Tuzlacı and Doğan, 2010; Tuzlacı, 2016, Altundag and Ozturk, 2011, Polat et al., 2013
		Roots	- decoction		
<i>Astragalus microcephalus</i> Willd.	Anadolu kitresi	Stems Leaves	oil	Unspecified cancer	Korkmaz and Karakurt, 2014
<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Keçiboynuzu	Fruits	grind and boiled	Unspecified cancer	Kültür, 2007; Tuzlacı, 2016, Güzel et al., 2015
<i>Genista albida</i> Willd.	Akborcak	Whole plant	mixed with honey	Throat cancer	Elçi and Erik, 2006, Tuzlacı, 2016
		Shoots Aerial parts	boiled powdered and mixed with honey decoction		
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Meyan	Roots	decoction	Unspecified cancer	Altundag and Ozturk, 2011
<i>Glycyrrhiza glabra</i> var. <i>glabra</i> L.	Meyan	Roots	syrup	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Lotus corniculatus</i> var. <i>corniculatus</i> L.	Gazal boynuzu	Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Hypericaceae					
<i>Hypericum perforatum</i> L.	Kantaron	Aerial parts	with olive oil infusion	Skin cancer Unspecified cancer	Yeşilada et al., 1995, Tuzlacı, 2016; Sargin et al., 2015, Karcı et al., 2017, Tuzlacı, 2016, Sargin et al., 2015
		Flowers		Lung cancer	
		Flo. branches			
<i>Hypericum tetrapterum</i> Fr.	Çizgili kantaron	Flowers	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Iridaceae					
<i>Crocus biflorus</i> Mill. ssp. <i>tauri</i> (Maw.) B.Mathew	Berfan	Roots	infusion	Unspecified cancer	Korkmaz and Karakurt, 2014

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
Juglandaceae					
<i>Juglans regia</i> L.	Ceviz	Leaves	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016, Karcı et al., 2017
Lamiaceae					
<i>Melissa officinalis</i> L.	Oğulotu	Leaves	decoction infusion	Unspecified cancer Stomach cancer Lung cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Melissa officinalis</i> L. ssp. <i>officinalis</i>	Oğulotu	Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Kültür, 2007; Tuzlacı, 2016
<i>Mentha longifolia</i> (L.) L.	Pünk	Flowers	infusion	Unspecified cancer	Tekin, 2011
<i>Mentha x piperita</i> L.	Nane	Leaves	decoction	Unspecified cancer	Yeşilyurt et al., 2017
<i>Lamium garganicum</i> ssp. <i>striatum</i> (Sm.) Hayek	Tek balıçak	Aerial parts, Flowers	infusion	Unspecified cancer	Sargin et al., 2015
<i>Lavandula stoechas</i> L.	Karabaş	Leaves	infusion	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Lavandula stoechas</i> ssp. <i>stoechas</i> L.	Karabaş	Flo. branches Leaves Whole plant Aerial parts	decoction infusion	Unspecified cancer Breast cancer	Tuzlacı, 2016, Tuzlacı and Bulut, 2007, Ugulu et al., 2009, Sezik et al., 1997, Tuzlacı, 2016
** <i>Origanum hypericifolium</i> O.Schwarz and P.H.Davis	Delikmercan	Leaves+ flo. parts	infusion	Breast cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Phlomis armeniaca</i> Willd.	Boz şavlak	Aerial parts	decoction	Unspecified cancer	Günbatan et al., 2016; Tuzlacı, 2016
** <i>Phlomis nissolii</i> L.	Öbek çalba	Aerial parts Flo. branches	infusion	Unspecified cancer	Sargin et al., 2015
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Biberiye	Leaves Flo.+ leaves	Decoction infusion powdered	Unspecified cancer	Güzel et al., 2015, Tuzlacı, 2016
<i>Salvia tomentosa</i> Mill.	Şalba	Aerial parts	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Salvia virgata</i> Jacq.	Fatmanaotu	Leaves	decoction	Uterus cancer	Tuzlacı and Aymaz, 2001; Tuzlacı, 2016
<i>Teucrium chamaedrys</i> ssp. <i>sinuatum</i> (Celak.) Rech.f.	Kısamahmut	Whole plant Aerial parts	- decoction	Unspecified cancer	Uce and Tunçtürk, 2014; Tuzlacı, 2016
<i>Teucrium polium</i> L.	Acıyavşan	Aerial parts	decoction	Unspecified cancer	Karcı et al., 2017; Tuzlacı, 2016
<i>Thymus fallax</i> Fisch. and C.A.Mey.	Catri	Aerial parts	infusion decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016, Altundag and Ozturk, 2011

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
<i>Thymus kotschyanus</i> Boiss. and Hohen.	Kekik	Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Polat et al., 2015
<i>Thymus kotschyanus</i> Boiss. and Hohen. ssp. <i>kotschyanus</i>	Kekik	Aerial parts	infusion decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016, Altundag and Ozturk, 2011
** <i>Thymus leucostomus</i> Hausskn. and Velen.	Anakekik	Leaves	infusion	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Thymus longicaulis</i> ssp. <i>longicaulis</i> C.Presl	Aş kekiği	Leaves Whole plant	- infusion	Unspecified cancer	Günbatan et al., 2016; Tuzlacı, 2016
<i>Thymus migricus</i> Klokov and Des.-Shost.	Peynir kekiği	Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Altundag and Ozturk, 2011
<i>Thymus praecox</i> ssp. <i>grossheimii</i> (Ronniger) Jalas	Yayla kekiği	Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Altundag and Ozturk, 2011
<i>Thymus transcaucasicus</i> Ronniger	Kır kekiği	Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Altundag and Ozturk, 2011; Tuzlacı, 2016
<i>Vitex agnus-castus</i> L.	Hayıt	- Fruits	- crushed and mixed with honey	Unspecified cancer	Tarakçı, 2006, Tuzlacı, 2016
Linaceae					
<i>Linum usitatissimum</i> L.	Keten	Seeds	infusion	Colon cancer	Ugulu et al., 2009; Tuzlacı, 2016
Lythraceae					
<i>Punica granatum</i> L.	Nar	Fruit peels	decoction	Unspecified cancer	Güzel et al., 2015
Malvaceae					
<i>Malva</i> sp.	Ebegümece	Whole plant Aerial parts	decoction	Unspecified cancer	Elçi and Erik, 2006, Tuzlacı, 2016
<i>Malva neglecta</i> Wallr.	Çobançöreği	Roots Whole plant Leaves Roots	- - - decoction raw eaten boiled, eaten with yoghurt	External cancer Stomach cancer Unspecified cancer Stomach cancer	Yeşilada et al., 1995, Yeşilyurt et al., 2017, Günbatan et al., 2016, Yeşilyurt et al., 2017, Karcı et al., 2017
<i>Malva sylvestris</i> L.	Ebegümece	Aerial parts Flo.+Leaves Leaves Flowers	decoction infusion	Breast cancer Unspecified cancer Breast cancer	Tuzlacı, 2016, Güneş, 2017, Tuzlacı, 2016, Kültür, 2007, Akbulut and Ozkan, 2014

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
Moraceae					
<i>Ficus carica</i> L.	İncir	Latex Fruits Leaves Pedicels Branches	- raw eaten - - -	Unspecified cancer	Karcı et al., 2017, Sargin et al., 2015
<i>Morus alba</i> L.	Akdut	Leaves	- decoction	Unspecified cancer	Günbatan et al., 2016, Akaydin et al., 2013; Tuzlacı, 2016
<i>Morus nigra</i> L.	Karadut	Leaves Fruits	- raw eaten molasses	Unspecified cancer	Saraç et al., 2013, Tuzlacı, 2016
Myrtaceae					
<i>Myrtus communis</i> ssp. <i>communis</i> L.	Mersin	Leaves	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Oleaceae					
<i>Olea europaea</i> L. ssp. <i>europaea</i>	Zeytin	Oil	-	Gastrointestinal cancers	Karcı et al., 2017; Tuzlacı, 2016
Orobanchaceae					
<i>Orobanche minor</i> Sm.	Göveotu	Aerial parts	infusion	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Papaveraceae					
<i>Papaver rhoeas</i> L.	Gelincik	Flowers	decoction	Lung cancer	Tuzlacı, 2016
Pinaceae					
<i>Pinus brutia</i> Ten.	Kızılçam	Branc. Bark Cones Leaves Resin Bark Pine tar	oil, infusion decoction	Unspecified cancer	Güneş et al., 2017, Sargin et al., 2015
<i>Pinus nigra</i> J. F. Arnold ssp. <i>pallasiana</i> (Lamb.) Holmboe	Karaçam	Cones	decoction	Intestinal cancer	Günbatan et al., 2016
<i>Pinus nigra</i> J. F. Arnold ssp. <i>pallasiana</i> (Lamb.) Holmboe var. <i>pallasiana</i>	Karaçam	Bark	decoction	Unspecified cancer	Bağcı et al., 2016
Plantaginaceae					
<i>Plantago major</i> L. ssp. <i>major</i>	Sinirotu	Leaves Seeds Aerial parts	raw eaten decoction - raw eaten mixed with honey decoction	Unspecified cancer Laryngeal cancer	Tuzlacı, 2016, Tuzlacı and Tolon, 2000; Karcı et al., 2017; Elçi and Erik, 2006; Tuzlacı, 2016, Günbatan et al., 2016, Kültür, 2007, Tuzlacı, 2016
<i>Plantago major</i> L. ssp. <i>intermedia</i> (Gilib.) Pilg.	Yedidamarotu	Leaves Seeds	- raw eaten	Unspecified cancer	Günbatan et al., 2016; Karcı et al., 2017, Kültür, 2007

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
<i>Plantago maritima</i> L.	Yilandili	Leaves	decoction	Uterus cancer	Altundag and Ozturk, 2011
<i>Plantago lanceolata</i> L.	Damarlıca	Leaves	decoction -	Uterus cancer Prostate cancer Unspecified cancer Lung cancer	Tabata et al., 1994, Tuzlacı, 2016 Tarakçı, 2006
Poaceae					
<i>Zea mays</i> L.	Mısır	Corn silks	decoction infusion	Breast cancer Prostate cancer	Tuzlacı, 2016, Tetik et al., 2013
Polygonaceae					
<i>Rheum ribes</i> L.	Işgın	Aerial parts	-	Breast cancer	Uce and Tunçtürk, 2014
Portulacaceae					
<i>Portulaca oleracea</i> L. ssp. <i>oleracea</i>	Semizotu	Aerial parts	raw eaten cooked	Unspecified cancer	Sargin et al., 2015, Günbatan et al., 2016
<i>Portulaca rausii</i> Danin		Aerial parts	plant crushed/applied on warts/ext.; eaten	Unspecified cancer	Güneş, 2017
Primulaceae					
<i>Primula auriculata</i> Lam., Tabl.	Çuha çiçeği	Whole plant	-	Unspecified cancer	Uce and Tunçtürk, 2014
Ranunculaceae					
<i>Clematis vitalba</i> L.	Akasma	Bark	resin applied on/ext.	Mouth cancer	Güneş, 2017
<i>Nigella segetalis</i> Bieb.	Kara çörekotu	Seeds	infusion oil	Unspecified cancer	Korkmaz and Karakurt, 2014
Rhamnaceae					
<i>Rhamnus lycioides</i> ssp. <i>oleoides</i> (L.) Jahandiez and Maire	Topcehri	Leaves+ Shoots	decoction	Lung cancer	Tuzlacı, 2016
Rosaceae					
<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	Kayısı	Fruits	raw eaten	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	Alıç	Fruits	infusion	Unspecified cancer	Paksoy et al., 2016
<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	Ayva	Fruit shell	decoction	Unspecified cancer	Karcı et al., 2017
<i>Fragaria vesca</i> L.	Çilek	Fruits	raw eaten	Unspecified cancer	Sargin et al., 2015
<i>Prunus spinosa</i> L.	Çakaleriği	Fruits	decoction	Unspecified cancer	Yeşilyurt et al., 2017
<i>Pyrus elaeagnifolia</i> ssp. <i>bulgarica</i> (Kuth. and Sachokia) Vulev	Bulgar ahlatı	Fruits	juice	Stomach cancer	Tuzlacı, 2016

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
<i>Rosa canina</i> L.	Kuşburnu	Fruits Roots Leaves Seeds Galls	juice marmalade decoction cook./inf./dec. decoction mixed with honey	Unspecified cancer Stomach cancer Prostate cancer Unspecied Cancer	Tuzlacı and Erol, 1999, Tuzlacı, 2016, Karcı et al., 2017, Sezik et al., 2001, Akbulut and Ozkan, 2014, Sargin et al., 2015, Elçi and Erik, 2006; Tuzlacı, 2016
<i>Rubus</i> sp.	Böğürtlen	Roots	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Rubus caesius</i> L.	Büküzümü	Leaves Roots	decoction	Unspecified cancer	Paksoy et al., 2016
<i>Rubus canescens</i> DC.	Çobankösteği	Roots	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Rubus canescens</i> var. <i>canescens</i> DC.	Çobankösteği	Fruits	infusion	Unspecified cancer	Tuzlacı and Şenkardeş, 2011; Tuzlacı, 2016
<i>Rubus idaeus</i> L.	Ahududu	Aerial parts Und.gr. parts Whole plant	-	Unspecified cancer	Saraç et al., 2013, Tuzlacı, 2016
<i>Rubus sanctus</i> Schreb.	Böğürtlen	Fruits Leaves Roots	raw eaten (mature) jam decoction infusion infusion decoction decoction	Unspecified cancer	Koçyiğit and Özhatay, 2006, Tuzlacı, 2016 Yeşilyurt et al., 2017, Tuzlacı and Şenkardeş, 2011, Yeşilada et al., 1999; Tuzlacı, 2016
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	Kuş üvezi	Leaves	decoction	Unspecified cancer	Kültür, 2007; Tuzlacı, 2016
Rubiaceae					
<i>Galium odoratum</i> (L.) Scop.	Orman iplikçiği	Whole plant	infusion	Unspecified cancer	Korkmaz and Karakurt, 2014
<i>Galium verum</i> ssp. <i>glabrescens</i> Ehrend.	Sarı yoğurtotu	Flowers	powdered	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Galium verum</i> L. ssp. <i>verum</i>	Boyalık	Flowers Leaves	- powdered -	Unspecified cancer	Ozturk et al., 2013, Altundag and Ozturk, 2011, Ozturk et al., 2013
Salicaceae					
<i>Populus nigra</i> L. ssp. <i>nigra</i>	Karakavak	Sap (obtained from cut stems)	-	Stomach cancer Intestinal cancer	Tuzlacı and Şenkardeş, 2011; Tuzlacı, 2016

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
Santalaceae					
<i>Viscum album</i> L.	Ökseotu	Whole plant Leaves Stems Fruits Leaves+brances Fruits+leaves	Decoction infusion raw eaten decoction	Unspecified cancer	Günbatan et al., 2016, Elçi and Erik, 2006, Korkmaz and Karakurt, 2014, Tuzlacı, 2016
<i>Viscum album</i> ssp. <i>album</i> L.	Ökseotu	Leaves+brances	keept in water for 8 hours	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Smilacaceae					
<i>Smilax excelsa</i> L.	Dikenucu	Shoots	decoction (fresh)	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Solanaceae					
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Domates	Fruits	raw eaten	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Solanum tuberosum</i> L.	Patates	Tubers	juice	Stomach cancer	Tuzlacı, 2016
Theaceae					
<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	Çay	Leaves	-	Unspecified cancer	Saraç et al., 2013; Tuzlacı, 2016
Urticaceae					
<i>Urtica dioica</i> L.	Isırgan	Leaves Aerial parts Seeds Whole plant Fruits Shoots Leaves+seeds	infusion decoction decoction (fresh) infusion (dried) raw eaten infusion pounded with honey with honey with honey, butter decoction with honey raw eaten decoction	Unspecified cancer Lung cancer Unspecified cancer	Tuzlacı and Bulut, 2007, Akaydin et al., 2013, Güneş, 2017; Tuzlacı and Erol, 1999, Güneş, 2017, Kültür, 2007, Simsek et al., 2004, Tuzlacı and Tolon, 2000, Tuzlacı and Şenkardeş, 2011, Yeşilada et al., 1999, Kültür, 2007
<i>Urtica membranacea</i> Poiret ex Savi	Çinçar	Fruits	crushed and mixed with honey	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Urtica pilulifera</i> L.	Dalağan	Fruits - Whole plant Aerial parts	- - - decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı and Bulut, 2007, Türkan et al., 2006, Ozturk et al., 2013, Akaydin et al., 2013

Table 1. Anticancer Plants in Turkish Traditional Medicine (contunied)

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Disease type	References
<i>Urtica urens</i> L.	Cılağan	Leaves Aerial parts	decoction decoction decoction (fresh) infusion (dried)	Unspecified cancer	Tuzlacı and Bulut, 2007, Akaydin et al., 2013, Güneş, 2017; Tuzlacı and Erol, 1999, Güneş, 2017
Verbenaceae					
<i>Verbena officinalis</i> L.	Mineçiçeği	Aerial parts	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
Vitaceae					
<i>Vitis vinifera</i> L.	Asma	Fruits Seeds Leaves Fruits Branches Seeds Latex	juice raw eaten (fresh and dried) (make wine) boiled (make wine) decoction crushed, eaten with honey infusion raw eaten -	Unspecified cancer Lung cancer Unspecified cancer Lung cancer	Tuzlacı, 2016, Günbatan et al., 2016, Güneş, 2017, Sargin et al., 2015, Deniz et al., 2010, Sargin et al., 2015
Xanthorrhoeaceae					
<i>Aloe vera</i> L.	Sarısabır	Gel Leaves	Infusion sap	Unspecified cancer	Çömlekçioğlu and Karaman, 2008, Güzel et al., 2015
<i>Asphodelus aestivus</i> Brot.	Kirgiçkökü	Leaves Whole plant	raw eaten (fresh)	Unspecified cancer	Güzel et al., 2015, Sargin et al., 2013

* Güner et al., 2012; ** Endemic taxon; “-”: No information

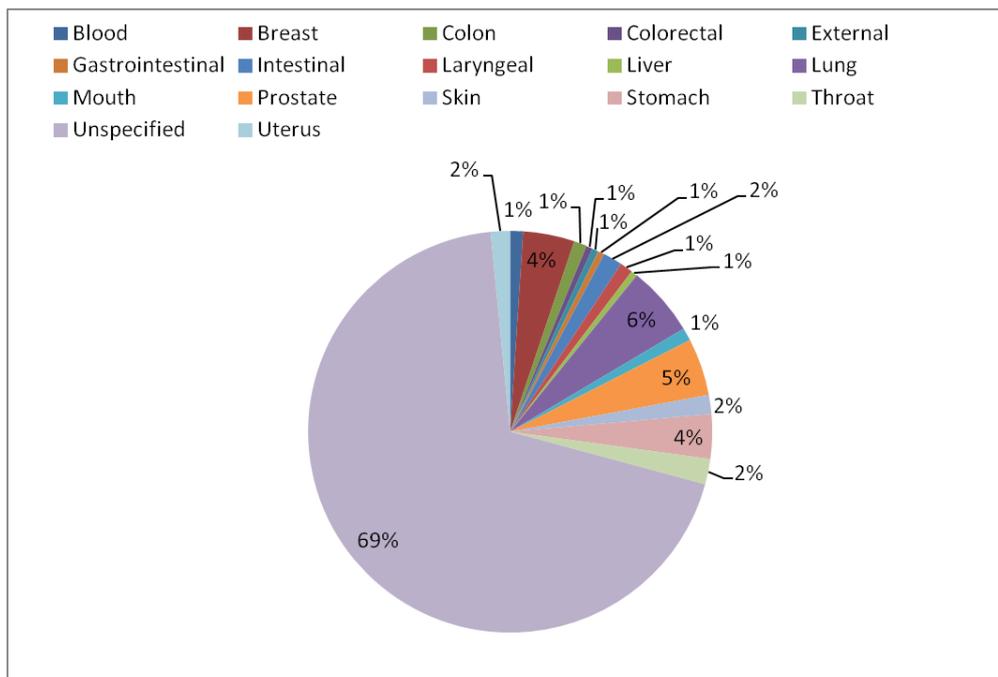


Figure 1. Distribution of Turkish medicinal plants according to different cancer types

Table 2. Multi-herbal Formulas Used As Anticancer in Turkish Traditional Medicine

Plant species	Local name*	Parts	Usage form	Cancer type	References
<i>Juglans regia+</i> <i>Quercus coccifera+</i> <i>Rubus sanctus+</i> <i>Sorghum halepense</i> var. <i>halepense</i>	Ceviz+ Kermes meşesi+ Böğürtlen+ Ekin süpürgesi	Branches, leaves+ Leaves+ Leaves, fruits+ Rhizome	infusion	Unspecified cancer	Tuzlacı and Erol, 1999
<i>Rosa canina+</i> <i>Urtica dioica/Urtica urens</i>	Kuşburnu+ Isırgan/Cılağan	Fruits+ Seeds	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı and Erol, 1999
<i>Hypericum perforatum+</i> <i>Malva neglecta+</i> <i>Sugar</i>	Kantaron+ Çobançöresi+ Şeker	Aerial parts	decoction	Leukemia	Yeşilada et al., 1995
<i>Trachystemon orientalis+</i> <i>Urtica dioica+</i> <i>Rubus sanctus+</i> <i>Smilax excelsa</i>	Kaldirik+ Isırgan+ Böğürtlen+ Dikenucu	Roots	decoction	Breast cancer	Yeşilada et al., 1999; Tuzlacı, 2016
<i>Urtica dioica+</i> <i>Rubus sanctus</i>	Isırgan+ Böğürtlen	Leaves	decoction	Unspecified cancer	Yeşilada et al., 1999; Tuzlacı, 2016
<i>Camellia sinensis+</i> <i>Urtica dioica+</i> <i>Plantago major</i>	Çay+ Isırgan+ Sinirotu	Leaves	decoction	Unspecified cancer	Saraç et al., 2013
<i>Rhododendron caucasicum+</i> <i>Robinia pseudoacacia+</i> <i>Castanea sativa+</i> <i>Bellis perennis+</i> <i>Plantago major+</i> <i>Asplenium trichomanes+</i> <i>Quercus sp.</i>	Kafkas ormangülü+ Yalancı akasya+ Kestane+ Koyungözü+ Sinirotu+ Saçakotu+ Meşe	Leaves	decoction	Unspecified cancer	Saraç et al., 2013
<i>Asphodelus aestivus+</i> <i>Plantago lanceolata</i>	Kirgıçkökü+ Sinirotu	Tubers+ Leaves	decoction	Lung cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Capparis spinosa+</i> <i>Citrus limon</i>	Kebere+ Limon	Roots+ Peel	decoction	Breast cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Ficus carica+</i> <i>Cicer arietinum</i>	İncir+ Nohut	Latex+ Seed powder	Added 2-3 drops of latex in chickpea powder	Skin cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Inula montbretiana+</i> <i>Potentilla speciosa</i>	Kökçayı+ Kaya parmakotu	Aerial parts+ Whole part	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Juglans regia+</i> <i>Quercus coccifera+</i> <i>Rubus sanctus+</i> <i>Sorghum halepense</i> var. <i>halepense</i>	Ceviz+ Kermes meşesi+ Böğürtlen+ Ekin süpürgesi	Branches+leaves+ Leaves+ Leaves+fruits+ Rhizome	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Malva nicaeensis+</i> <i>Rumex sp.</i>	İlmikotu+ Labada	Leaves+ Leaves	cooked with oil	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Olea europaea</i> ssp. <i>europaea+</i> <i>Linum usitatissimum</i>	Zeytin+ Keten	Oil+ Seeds	mixed	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Origanum onites+</i> <i>Vitis vinifera</i>	Bilyalı kekik+ Asma	Aerial parts+ Fruits	infusion mixed with grape vinegar	Blood cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Populus alba+</i> <i>Pinus sp.+</i> <i>Urtica dioica+</i> <i>Thymus sp.+</i> <i>Tagetes minuta</i>	Akkavak+ Çam+ Isırgan+ Kekik+ Kokarot	Flo. branches+ Cones+ Whole plant+ Whole plant+ Whole plant	decoction	Throat cancer	Tuzlacı, 2016
<i>Rosa canina+</i> <i>Urtica dioica+</i> <i>Urtica urens</i>	Kuşburnu+ Isırgan+ Cılağan	Fruits+ Fruits+ Fruits	decoction	Unspecified cancer	Tuzlacı, 2016

* Güner et al., 2012

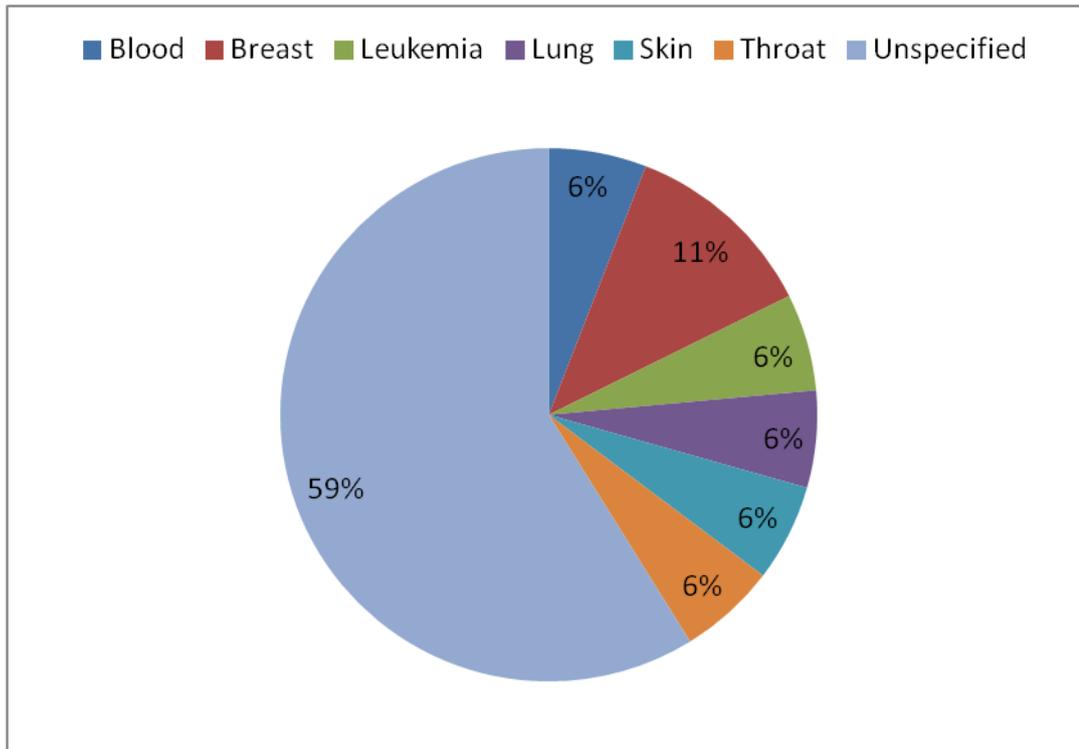


Figure 2. Distribution of multi-herbal formulas according to different cancer types

CONCLUSION

This review includes 160 medicinal plant taxa representing 53 families and also 17 different multi-herbal formulas. The highest number of medicinal plants were observed in the Lamiaceae family. Herbal drugs used by the local people are prepared as decoction, infusion, raw eaten, poultice, powder, etc. The most commonly used plant parts are leaves, flowers and fruits. In addition, other aerial and underground plant parts such as seeds, branches, stems, buds and roots can also be used in the treatment of cancer. Most of these studies have addressed unspecified cancer type.

Cancer, an abnormal malignant growth of body tissue or cell, is main health problem in both developed and developing countries. Today, the active substances of many drugs used in cancer treatment are obtained from medicinal plants. Medicinal plants have to be screened for anticancer activity for more of use. Herbal drugs show their anticancer effects by mechanisms such as carcinogen inactivation, antiproliferation, cell cycle suspension, induction of apoptosis and differentiation, suppression of angiogenesis, antioxidation and reduction of multiple drug resistance.

This review presents some of the medicinal plants possessing anticancer activity for various types of cancer. It is believed that results of this study will help others to explore herbs to further extent and its use in various other disease and toxicity studies along with clinical trials.

REFERENCES

- Akaydin G, Şimşek I, Arituluk ZC, Yeşilada E 2013. An Ethnobotanical Survey in Selected Towns of the Mediterranean Subregion (Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 37(2): 230-247.
- Akbulut S, Ozkan ZC 2014. Traditional Usage of Some Wild Plants in Trabzon Region (Turkey). *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 4(1): 135-145.
- Altan Y, Uğurlu E, Gücel S 1999. Şenkaya (Erzurum) ve Çevresinin Etnobotanik Özellikleri. 1st International Symposium on Protection of Natural Environment and Ehlami Karaçam, 23-25 September, Kütahya-Türkiye, 132-139.
- Altundag E, Ozturk M 2011. Ethnomedicinal Studies on the Plant Resources of East Anatolia, Turkey. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 19: 756-777.
- Arslan D, Tural D, Akar E 2013. Herbal Administration and Interaction of Cancer Treatment. *Journal of Palliative Medicine*, 16(11): 1466-1476.
- Bağcı Y, Erdoğan R, Doğu S 2016. Sarıveliler (Karaman) ve Çevresinde Yetişen Bitkilerin Etnobotanik Özellikleri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 42(1): 84-107.
- Başer KHC 1998. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Endüstriyel Kullanımı. *TAB Bülteni*, 13(14): 19-43.
- Başer KHC, Honda G, Miki W 1986. Herb Drugs and Herbalists in Turkey. Institute for the Study of Languages and Cultures of Asia and Africa, *Studia Culturae Islamicae*, 27, Tokyo.

- Bayram E, Kırıcı S, Tansı S, Yılmaz G, Arabacı O, Kızıl S, Telci İ 2010. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-I, 11-15 Ocak, Ankara, 437-456.
- Baytop T 1999. Türkiyede Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitabevi İstanbul.
- Bozyel ME, Merdamert E 2018. Antiuro lithiatic Activity of Medicinal Plants in Turkey. Science, Ecology and Engineering Research in the Globalizing World. St. Kliment Ohridski University Press, Sofia, 152-167.
- Bozyel ME, Şenturan M, Benek A, Merdamert Bozyel E, Canli K, Altuner EM 2019. In Vitro Antimicrobial Activity Screening of *Heliotropium europaeum* Against Wide Range of Microorganisms and Multi Drug Resistant (Mdr) Bacteria. European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, 6(3): 113-117.
- Bulut G.E 2008. Bayramiç (Çanakkale) Yöresinde Etnobotanik Araştırmalar. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.
- Cakilcioglu U, Khatun S, Turkoglu I, Hayta S 2011. Ethnopharmacological Survey of Medicinal Plants in Maden (Elazığ-Turkey). Journal of Ethnopharmacology, 137: 469-486.
- Canli K, Bozyel ME, Altuner EM 2017c. In Vitro Antimicrobial Activity Screening of *Maclura pomifera* Fruits Against Wide Range of Microorganisms. International Journal of Pharmaceutical Science Invention, 6(8): 19-22.
- Canli K, Simsek O, Yetgin A, Altuner EM 2017d. Determination of the chemical composition and antimicrobial activity of *Frankenia hirsuta*. Bangladesh J Pharmacol, 12: 463-469.
- Canli K, Yetgin A, Akata I, Altuner EM 2016. In Vitro Antimicrobial Screening of *Aquilaria agallocha* Roots. Afr J Tradit Complement Altern Med, 13(5): 178-181.
- Canli K, Yetgin A, Akata I, Altuner EM 2017a. Antimicrobial Activity and Chemical Composition Screening of *Epilobium montanum* Root. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 51(3s): 239-243.
- Canli K, Yetgin A, Akata I, Altuner EM 2017b. Antimicrobial Activity and Chemical Composition Screening of *Anacyclus pyrethrum* Root. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 51(3s): 244-248.
- Canli K, Yetgin A, Benek A, Bozyel ME, Altuner EM 2019. In Vitro Antimicrobial Activity Screening of Ethanol Extract of *Lavandula stoechas* and Investigation of Its Biochemical Composition. Advances in Pharmacological Sciences, 2019, Article ID 3201458, 6 pages. doi.org/10.1155/2019/3201458.
- Ceylan S, Hamzaoglu O, Kömürcü S, Beyan C, Yalcin A 2002. Survey of the use of Complementary and Alternative Medicine among Turkish Cancer Patients. Complementary Therapies in Medicine, 10(2): 94-99.
- Chakraborty S, Rahman T 2012. The Difficulties in Cancer Treatment. Ecancermedicallscience, 6(16): 1-5.
- Chikezie PC, Ojiako OA 2015. Herbal medicine: Yesterday, Today and Tomorrow. Alternative and Integrative Medicine, 4(3): 1-5.
- Cooper GM, Hausman RE 2007. The Cell: A Molecular Approach 4th edition. ASM press, Washington, DC, 720-721.
- Çömlekçioglu N, Karaman Ş 2008. The Medicinal Plants Found in the local Herbal Markets in The City of Kahramanmaraş in Turkey. KSU Journal of Science and Engineering, 11(1): 23-32.
- Deniz L, Serteser A, Kargioğlu M 2010. Uşak Üniversitesi ve Yakın Çevresindeki Bazı Bitkilerin Mahalli Adları ve Etnobotanik Özellikleri. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 10(1): 57-72.
- Diker NY 2008. Yalvaç (Isparta) İlçesinin Halk İlacı Yönünden Araştırılması. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Dilsiz N 2009. Moleküler Biyoloji 2. Baskı, Palme yayıncılık, Ankara, 197-198.
- Doğanoğlu Ö, Gezer A, Yücedağ C 2006. Göller Bölgesi-Yenişarbademli Yöresi'nin Önemli Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitki Taksonları Üzerine Araştırmalar. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 10(1): 66-73.
- Elçi B, Erik S 2006. Gündül (Ankara) ve Çevresinin Etnobotanik Özellikleri. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 26(2): 57-64.
- Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 11(1): 52-67.
- Günbatan T, Gürbüz İ, Özkan AMG 2016. The Current Status of Ethnopharmacobotanical Knowledge in Çamlıdere (Ankara, Turkey). Turkish Journal of Botany, 40(3): 241-249.
- Güneş F 2017. Medicinal Plants Used in the Uzunköprü District of Edirne, Turkey. Acta Soc Bot Pol, 86(4): 1-21.
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Güneş S, Savran A, Paksoy MY, Koşar M, Çakılcioglu U 2017. Ethnopharmacological Survey of Medicinal Plants in Karaisalı and Its Surrounding (Adana-Turkey). Journal of Herbal Medicine, 8: 68-75.
- Güzel Y, Güzelşemme M, Miski M 2015. Ethnobotany

- of Medicinal Plants Used in Antakya: A Multicultural District in Hatay Province of Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 174: 118-152.
- Haydaroğlu A 2007. Ege Üniversitesi'nde Kanser Kayıt Analizleri: 34134 Olgunun Değerlendirmesi. *Türk Onkoloji Dergisi*, 22(1): 22-28.
- Hayta S, Polat R, Selvi S 2014. Traditional Uses of Medicinal Plants in Elazığ (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 154(3): 613-623.
- Herceg Z, Hainaut P 2007. Genetic and Epigenetic Alterations As Biomarkers for Cancer Detection, Diagnosis and Prognosis. *Molecular Oncology*, 1(1): 26-41.
- Higginson J, Muir CS 1977. Determination of the Importance of Environmental Factors in Human Cancer: the Role of Epidemiology. *Bulletin du Cancer*, 64(3): 365-384.
- Inanç N, Sahin H, Çiçek B, Tascı S 2006. Use of Herbs or Vitamin/Mineral Supplements by Patients with Cancer in Kayseri, Turkey. *Cancer Nursing*, 29(1): 17-20.
- Karcı E, Gürbüz İ, Akaydın G, Günbatan T 2017. Folk Medicines of Bafra (Samsun-Turkey). *Turkish Journal of Biochemistry*, 42(4): 381-399.
- Koçaşlı S, Demircan Z 2017. Herbal Product Use by the Cancer Patients in Both the Pre and Post Surgery Periods and During Chemotherapy. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(2): 325-333.
- Koçyiğit M, Özhatay N 2006. Wild Plants Used as Medicinal Purpose in Yalova (Northwest Turkey). *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(2): 91-103.
- Korkmaz M, Karakurt E 2014. Medicinal Plants Sold in the Herbal Markets in Kelkit (Gümüşhane). *Süleyman Demirel University J. of Natural and Applied Sci*, 18(3): 60-80.
- Kültür Ş 2007. Medicinal Plants Used in Kırklareli Province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2): 341-364.
- Malyer H, Aydın ÖA, Tümen G, Er S 2004. Tekirdağ ve Çevresindeki Aktarlarda Satılan Bazı Bitkiler ve Tıbbi Kullanım Özellikleri. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, (7): 103-112.
- Monteiro JM, Araujo EL, Amorim ELC, Albuquerque UP 2010. Local Markets and Medicinal Plant Commerce: A Review with Emphasis on Brazil. *Economic Botany*, 64(4): 352-366.
- Msomi NZ, Simelane MB 2018. Herbal Medicine. In *Herbal Medicine*. IntechOpen, 215-227.
- Ozturk M, Uysal I, Gucl S, Altundag E, Dogan Y, Baslar S 2013. Medicinal Uses of Natural Dye-yielding Plants in Turkey. *Research Journal of Textile and Apparel*, 17(2): 69-80.
- Özbek H 2005. Cinsel ve Jinekolojik Sorunların Tedavisinde Bitkilerin Kullanımı. *Van Tıp Dergisi*, 12(2): 170-174.
- Özgen U, Kaya Y, Houghton P 2012. Folk Medicines in the Villages of Ilıca District (Erzurum, Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 36(1): 93-106.
- Paksoy MY, Selvi S, Savran A 2016. Ethnopharmacological Survey of Medicinal Plants in Ulukışla (Niğde-Turkey). *Journal of Herbal Medicine*, 6(1): 42-48.
- Penso G 1983. *Index Plantarum Medicinalium Totius Mundi Eorumque Synonymorum*, Milano.
- Polat R, Cakilcioglu U, Kaltalioglu K, Ulsan MD, Türkmen Z 2015. An Ethnobotanical Study on Medicinal Plants in Espiye and Its Surrounding (Giresun-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 163: 1-11.
- Polat R, Cakilcioglu U, Satıl F 2013. Traditional Uses of Medicinal Plants in Solhan (Bingöl-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 148(3): 951-963.
- Polat R, Satıl F, Çakılcıoğlu U 2011. Medicinal Plants and Their Use Properties of Sold in Herbal Market in Bingöl (Turkey) District. *Biological Diversity and Conservation*, 4(3): 25-35.
- Saraç DU, Özkan ZC, Akbulut S 2013. Ethnobotanic Features of Rize/Turkey Province. *Biological Diversity and Conservation*, 6(3): 57-66.
- Sargin SA, Selvi S, López V 2015. Ethnomedicinal Plants of Sarigöl District (Manisa), Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 171: 64-84.
- Sarı AO, Oğuz B, Bilgiç A, Tort N, Güvensen A, Şenol SG 2010. The Plants Used as Folk Remedies in Aegean and South Marmara Regions. *Anadolu*, 20(2): 1-21.
- Selvi S, Satıl F, Polat R, Çakılcıoğlu U 2012. Kazdağlarından (Balıkesir-Edremit) Toplanan ve Bölgedeki Aktarlarda Satılan Tıbbi Bitkiler Üzerine Bir Araştırma, Kazdağları III. Ulusal Sempozyumu, 24-26 Mayıs, Edremit-Balıkesir, 505-513.
- Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T 2001. Traditional Medicine in Turkey X. Folk Medicine in Central Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3): 95-115.
- Sezik E, Yeşilada E, Tabata M, Honda G, Takaishi Y, Fujita T, Tanaka T, Takeda Y 1997. Traditional Medicine in Turkey VIII. Folk Medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Kars, Iğdir Provinces. *Economic Botany*, 51(3): 195-211.
- Simsek I, Aytakin F, Yeşilada E, Yildirimli Ş 2004. An Ethnobotanical Survey of the Beypazari, Ayas, and Gündül District Towns of Ankara Province (Turkey). *Economic Botany*, 58(4): 705-720.
- Tabata M, Sezik E, Honda G, Yeşilada E, Fukui H, Goto K, Ikeshiro Y 1994. Traditional Medicine in Turkey III. Folk Medicine in East Anatolia, Van and Bitlis Provinces. *International Journal of Pharmacognosy*, 32(1): 3-12.
- Tarakçı S 2006. Beykoz Civarındaki Tıbbi Özellik Taşıyan Bitkiler Üzerine Araştırmalar. *Marmara*

- Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, İstanbul.
- Tarhan O, Muslu U, Somali I, Erten C, Alacacioglu A, Varol S, Aslan L 2009. An Analysis of the Use of Complementary and Alternative Therapies in Patients with Breast Cancer. *Breast Care*, 4(5): 301-307.
- Tekin S 2011. Üzümlü (Erzincan) İlçesinin Etnobotanik Özellikleri. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzincan.
- Tetik F, Civelek S, Cakilcioglu, U 2013. Traditional Uses of Some Medicinal Plants in Malatya (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1): 331-346.
- Tulukçu E, Sağdıç O 2011. Konya'da Aktarlarda Satılan Tıbbi Bitkiler ve Kullanılan Kısımları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 27(4): 304-308.
- Tuna S, Dizdar O, Calis M 2011. The Prevalence of Usage of Herbal Medicines Among Cancer Patients. *Journal of the Balkan Union of Oncology*, 18(4): 1048-1051.
- Tuncer AM 2009. Türkiye'de Kanser Kontrolü. T.C. Sağlık Bakanlığı Kansere Savaş Derneği Başkanlığı, Ankara.
- Tuzlacı E 2016. Türkiye Bitkileri Geleneksel İlaç Rehberi. İstanbul Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Tuzlacı E, Aymaz PE 2001. Turkish Folk Medicinal Plants, Part IV: Gönen (Balıkesir). *Fitoterapia*, 72(4): 323-343.
- Tuzlacı E, Bulut GE 2007. Turkish Folk Medicinal Plants, Part VII: Ezine (Çanakkale). *Journal of Faculty Pharmacy of Istanbul University*, 39: 39-51.
- Tuzlacı E, Doğan A 2010. Turkish Folk Medicinal Plants, IX: Ovacık (Tunceli). *Marmara Pharmaceutical Journal*, 14(3): 136-143.
- Tuzlacı E, Erol MK 1999. Turkish Folk Medicinal Plants. Part II: Eğirdir (Isparta). *Fitoterapia*, 70(6): 593-610.
- Tuzlacı E, Şenkardeş İ 2011. Turkish Folk Medicinal Plants, X-Ürgüp (Nevşehir). *Marmara Pharmaceutical Journal*, 15: 58-68.
- Tuzlacı E, Tolon E 2000. Turkish Folk Medicinal Plants, Part III: Şile (İstanbul). *Fitoterapia*, 71(6): 673-685.
- Türkan Ş, Malyer H, Özaydın S, Tümen G 2006. Ordu İli ve Çevresinde Yetişen Bazı Bitkilerin Etnobotanik Özellikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 10(02): 162-166.
- Uce İ, Tunçtürk M 2014. Hakkâri'de Doğal Olarak Yetişen ve Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Yabani Bitkiler. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 7(2): 21-25.
- Ugulu I, Baslar S, Yorek N, Dogan Y 2009. The Investigation and Quantitative Ethnobotanical Evaluation of Medicinal Plants Used Around Izmir Province, Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(5): 345-367.
- Van Overwalle G 2006. Intellectual Property Protection for Medicinal and Aromatic Plants. *Medicinal and Aromatic Plants: Agricultural, Commercial, Ecological, Legal, Pharmacological and Social Aspects*, 121-128, Chapter 9.
- Vauzour D, Rodriguez-Mateos A, Corona G, Oruna-Concha MJ, Spencer JPE 2010. Polyphenols and Human Health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action. *Nutrients*, 2(11): 1106-1131.
- WHO 1979. Inventory of Medicinal Plants: Selection and Characterization. *WHO Chronicle*, 33(2): 56-57.
- WHO 2001. Legal status of traditional medicines and complimentary/alternative medicine: worldwide review. WHO Publications No. WHO/EDM/TRM/2001.2, 10-14
- Yalcin S, Hurmuz P, McQuinn L, Naing A 2017. Prevalence of Complementary Medicine Use in Patients With Cancer: A Turkish Comprehensive Cancer Center Experience. *Journal of Global Oncology*, 4: 1-6.
- Yeşilada E, Honda G, Sezik E, Tabata M, Fujita T, Tanaka T, Takeda Y, Takaishi Y 1995. Traditional Medicine in Turkey. V. Folk Medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology*, 46(3): 133-152.
- Yeşilada E, Sezik E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T 1999. Traditional Medicine in Turkey IX: Folk Medicine in North-west Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 64(3): 195-210.
- Yeşilyurt EB, Şimşek I, Tuncel T, Akaydın G, Yeşilada E 2017. Marmara Bölgesi'nin Bazı Yerleşim Merkezlerinde Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkiler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21: 132-148.