

**Zeytincilik Araştırma
Enstitüsü Müdürlüğü Adına**

Sahibi

Dr. Ünal KAYA
(Müdür)

Yazı İşleri Müdürü

Özgür DURSUN

Yayın Kurulu

Didar SEVİM
Mehmet HAKAN
Mehmet ULAŞ
M. Kerem SAVRAN
Özgür DURSUN
Öznur ÇETİN
Serkan KAPTAN

*Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Yayıdır.*

Türkçe Olarak Altı Ayda Bir Yayınlanır.

Yazışma Adresi

Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Üniversite cad. no:43 35100 Bornova /İZMİR

Telefon

0 232 462 70 73
0 232 462 70 74

Web Adresi

<http://arastirma.tarim.gov.tr/izmirzae>

Elektronik Posta

zeytinbilimi@gmail.com

Baskı

Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri
87 Sk. No.4/B Bornova-İzmir
0 232 343 64 54
metabasim@gmail.com
Basım Tarihi: 30.03.2016

*Derginin tüm yayın hakları Zeytincilik Araştırma
Enstitüsü Müdürlüğüne aittir. Kaynak gösterilmesi
koşuluyla alıntı yapılabilir.*

Zeytin Bilimi Dergisi Yayın İlkeleri

Zeytin Bilimi dergisi Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından yılda 2 defa çıkarılacak olan tarımsal içerikli makalelerin yayınlanacağı bir dergidir. Bu dergide Zeytin Tarımı ve Zeytin Ürünleri Teknolojilerini içeren *tarımsal konularda* araştırma ve derleme makaleler yayınlanacaktır.

1. Yayınlanacak olan makaleler başka hiçbir yerde yayınlanmamış olacaktır.
2. Yayınlanan her makalenin sorumluluğu yazar(lar)ına aittir.
3. Gönderilen makale yayın kurulunca incele-
nerek, değerlendirilmesi için hakemlere gönde-
rilecektir. Hakemlerce yayınlanmaya değer
bulunan makaleler yayınlanacaktır.
4. Gönderilen makaleler yayınlansın veya
yayınlanmasın geri verilmeyecektir.
5. Hazırlanan makalenin bir kopyası yazışma
adresine gönderilecektir.
6. Yayın Kurulu gerekli gördüğü takdirde maka-
lede kısaltma ve düzeltme yapabilecektir.
7. Yayınlanan yazılardan dolayı yazar(lar)a telif
hakkı ödenmeyecektir.
8. Yayınlanan makalenin yazar(lar)ına 2 adet
dergi gönderilecektir.

Bu Sayının Yayın Danışmanları

(İsimler Ünvanlarına göre alfabetik sıra ile yazılmıştır.)

Prof. Dr. Engin ERTAN
Prof. Dr. Faik Ekmel TEKİNTAŞ
Prof. Dr. Figen KOREL
Prof. Dr. Halil Güner SEFEROĞLU
Prof. Dr. Kenan KAYNAŞ
Prof. Dr. Mustafa ATEŞ
Doç. Dr. Bülent ERGÖNÜL
Doç. Dr. Fatih ŞEN
Doç. Dr. Harun DIRAMAN
Doç. Dr. Murat İSFENDİYAROĞLU
Doç. Dr. Mücahit Taha ÖZKAYA
Doç. Dr. Özgül ÖZDESTAN
Doç. Dr. Pelin GÜNÇ ERGÖNÜL
Yrd. Doç. Dr. Ebru SAKAR
Yrd. Doç. Dr. Nilüfer KALECİ

İÇİNDEKİLER (CONTENTS)

ARAŞTIRMALAR (ORIGINAL PAPERS)

Bazı Önemli Zeytin Çeşitlerinden Elde Edilen Yağların Minör Bileşenlerinin ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Determination of Minor Components and the Antioxidant Activity of Olive Oils
Extracted from Important Olives Cultivars

Didar SEVİM, Oya KÖSEOĞLU, Öznur ÇETİN 1

Memecik x Uslu Melezi (F1) Zeytin Genotiplerinin Pomolojik Özellikleri

Pomological Characteristics of Memecik x Uslu Hybrid (F1) Olive Genotypes
Öznur ÇETİN, Nurengin METE, Mustafa ŞAHİN, Filiz SEFER, Hülya KAYA,
Uğur GÜLOĞLU, Mehmet HAKAN, Nurcan ULUÇAY 9

Ege, Marmara ve Karadeniz Bölgelerinde Tespit Edilen Yeni Zeytin Genotipleri

New Olive Genotypes Determined in Aegean, Marmara and Blacksea Regions
Hülya KAYA, Mehmet HAKAN, Filiz SEFER, Nurengin METE, Öznur ÇETİN,
Mustafa ŞAHİN, Uğur GÜLOĞLU, Nurcan ULUÇAY 15

Potansiyel Zeytin Probiyotik Suşunun in vitro Sindirim Sistemindeki Canlılığının Araştırılması

Viability Investigation of a Potential Probiotic Olive Strain Using an in vitro
Digestive System Model

Tarık ÖZTÜRK, Koen VENEMA, Zeynep Petek ÇAKAR, Mehlika BORCAKLI..... 19

Bazı Zeytin Çeşitlerinde Don Toleransının Dönemsel Değişimi

Seasonal Variation of Freezing Tolerance in Some Olive Cultivars
Nurengin METE, Mustafa ŞAHİN, Öznur ÇETİN, Mehmet HAKAN,
Uğur GÜLOĞLU, Hülya KAYA, Nurcan ULUÇAY 25

Bazı Önemli Zeytin Çeşitlerinden Elde Edilen Yağların Minör Bileşenlerinin ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Determination of Minor Components and the Antioxidant Activity of Olive Oils
Extracted from Important Olives Cultivars

Didar SEVİM*, Oya KÖSEOĞLU, Öznur ÇETİN

Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Üniversite Cad. No:43 35100Bornova/İZMİR

Geliş tarihi: 14.01.2016

Kabul tarihi: 03.02.2016

Özet

Zeytinyağının % 98'lik kısmı major bileşenlerden, % 2'lik kısmı ise minör bileşenlerden oluşmaktadır. Zeytinyağında klorofil, karotenoid, tokoferoller, fenolik bileşikler gibi pek çok minör bileşen bulunmaktadır. Bu minör bileşenlerin içeriği çeşide, iklime ve yetiştirilme koşullarına göre değişmekte olup zeytinyağının duysal özelliğini, kalitesini, antioksidan içeriğini ve besinsel değerini etkilemektedir. Bu çalışmada ülkemizin önemli zeytin çeşitleri olan Ayvalık, Memecik, Gemlik ve Uslu zeytin çeşitlerinden elde edilen yağlar analiz edilmiştir. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bahçesinden 2011/12 hasat yılında toplanan zeytinlerden Abencor sistemi ile zeytinyağı elde edilmiştir. Elde edilen zeytinyağlarının toplam fenolik madde, α -tokoferol, klorofil ve karotenoid miktarları ile DPPH antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarının 46,15-383,67 mg CAE/kg yağ arasında, klorofil miktarının 0,55-2,01 mg/kg arasında, karotenoid miktarının 0,79-2,07 mg/kg arasında ve antioksidan aktivitesinin 45,16-122,86 μ mol TE/100 g yağ arasında değiştiği tespit edilmiştir. Çalışmada Gemlik zeytin çeşidinden elde edilen zeytinyağının toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin, Ayvalık zeytin çeşidinden elde edilen yağın klorofil ve karotenoid miktarının en yüksek olduğu saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: zeytinyağı, toplam fenol, α -tokoferol, klorofil, karotenoid

Abstract

Olive oil consist of 98 % of the major components and 2 % of the minor components. Olive oil contain many minor components chlorophyll, carotenoids, tocopherols, phenolic compounds. Content of minor components change according to variety, climate and growing conditions and also minor components affect quality, sensory attributes, antioxidant content and nutritional value of olive oil. In this study, Ayvalık, Memecik, Gemlik and Uslu cv. olive oils, which are important olive varieties in Turkey, were analyzed. Olives collected from Olive Research Institute orchard in 2011/12 crop year, and olive oils obtained by using Abencor system. Total phenolic content, α -tocopherol, chlorophyll and carotenoid content, DPPH antioxidant activity were determined in olive oils. The olive oils total phenolic content chlorophyll content, carotenoid content and antioxidant activity were found between 46.15 to 383.67 mg of CAE/kg of oil, 0.55 to 2.01 mg/kg, 0.79 to 2.07 mg/kg and 45.16 to 122.86 μ mol TE/100 g oil, respectively.. In this study, the highest total phenolic compounds and antioxidant activity determined from Gemlik olive oil and the highest chlorophyll and carotenoid content determined from Ayvalık olive oil.

Keywords: olive oil, total phenolic content, α -tocopherol, chlorophyll, carotenoid

Giriş

Akdeniz diyeti yüksek miktarda hububat, sebze, meyve, süt ve süt ürünleri ve zeytinyağı ile orta miktarda balık, tavuk ürünleri ve az miktarda kırmızı et ve et ürünleri tüketiminden oluşmaktadır. Akdeniz diyetini epidemiyolojik veriler koroner kalp hastalığı, bazı tümör türleri (prostat ve kolon kanseri) ve kontrol edilemeyen serbest radikal üretime bağlı hastalıkların tekrarlanma oranının düşük olması ile ilişkilendirmektedir (Visioli ve ark., 1998). Akdeniz diyetinde yer alan antioksidanlar, flavanoidler ve fenolik bileşikler bu hastalıklardan korunmada önemli rol oynamaktadır (Briante ve ark., 2002).

Natürel sızma zeytinyağının besinsel kalitesi yağ asitleri içerisinde en yüksek orana sahip olan oleik asit içeriğine bağlıdır. Bu tekli doymamış yağ asidi, LDL kolesterolü azaltmakta ve kardiovasküler hastalıkları engellemektedir. Ayrıca natürel sızma zeytinyağının besinsel kalitesi tokoferoller (çoğunlukla α -tokoferol) ve polar fenoller gibi antioksidanlar, steroller (çoğunlukla β -sitosterol) ve pigmentler (klorofiller ve karotenoidler) gibi yağın stabilitesini sağlayan, tümör oluşum riskini azaltan minör bileşenler ile de ilişkilidir (Inarejos-Garcia ve ark., 2010). Zeytinyağında fenolik bileşikler, steroller, hidrokarbonlar, antioksidanlar gibi 230 ayrı minör bileşen bulunmaktadır (Servili ve Montedoro, 2002).

Zeytinyağının lipit fraksiyonunda tokoferoller, polar fraksiyonunda ise fenolik bileşikler ana antioksidan maddeleri oluşturmaktadırlar. Bunların yağa geçme oranları zeytin çeşitlerine, yetiştirme koşullarına, bölgeye, olgunluk seviyesi ve zeytin işleme teknolojilerine göre değişmektedir (Ninfali ve ark., 2001; Gimeno ve ark., 2002; Öğütçü ve ark., 2008).

Fenolik bileşik içeriği natürel sızma zeytinyağında yaklaşık olarak 50-1000 mg/kg arasında değişmektedir (Dimitrios, 2006). Zeytinyağındaki ana tokoferol E vitamini eşdeğeri olan α -tokoferol olup yaklaşık olarak tokoferollerin %95'lik kısmını oluşturmaktadır (Oliveras-Lopez ve ark., 2008). β -tokoferol, γ -tokoferol ve az miktarda da δ -tokoferol'ün %5'lik kısmı oluşturduğu belirtilmek-

tedir. Zeytinyağlarında toplam tokoferol içeriği yaklaşık olarak 50-270 mg/kg arasında değişmektedir (Oliveras-Lopez ve ark., 2008).

Olgunlaşma sırasında meydana gelen bir seri belirgin dönüşümlerle zeytinlerin renginde değişim meydana gelmektedir. Natürel zeytinyağlarının rengi zeytinin çeşidine ve meyvenin olgunluk derecesine göre yeşil-sarıdan altın-sarıya değişir (Köseoğlu, 2006). Zeytinyağlarının klorofil içeriği iklimsel koşullara göre değişmektedir. Don zararına bağlı olarak meyvelerdeki bozulmalardan kaynaklı pigment içeriğinde çoğunlukla da klorofil içeriğinde azalma olmaktadır (Romero ve ark., 2003; Morello ve ark., 2006). Klorofil, ışık varlığında yağın oksidasyonunu kolaylaştırıp prooksidan olarak görev yaparken, karanlıkta fenolik antioksidanlarla birlikte antioksidan aktivite gösterir ve zeytinyağının oksidasyonunda önemli rol oynar (Bozdoğan Konuşkan, 2008).

Antioksidan aktiviteyi saptamak için kullanılan en eski dolaylı yöntemlerden biri DPPH yöntemidir. İlk olarak 1950 yıllarda kullanımı önerilmiştir. Antioksidanların kararlı bir serbest radikal olan DPPH radikalini süpürücü etkilerini ölçmeye dayalı bir yöntemdir. Antioksidandaki hidrojen atomu DPPH• solüsyonuna verilerek stabil serbest radikal azaltılır ve koyu mor renk soluklaşır. DPPH•'nın reaksiyona girmeyen kısmı spektrofotometrede 517 nm'de okunan absorbans değerinden hesaplanır (Milardovic ve ark., 2006).

Bu çalışmada ülkemizin önemli zeytin çeşitleri olan Ayvalık, Memecik, Gemlik ve Uslu zeytin çeşitlerinden elde edilen yağlarda toplam fenolik madde, α -tokoferol, klorofil ve karotenoid miktarları ile DPPH antioksidan aktivitenin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışmada Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bahçesinde yetiştirilmekte olan Ayvalık, Memecik, Gemlik ve Uslu zeytin çeşitlerinin meyveleri kullanılmıştır. Zeytinler 2011/12 hasat yılında toplanmış ve olgunluk indeksleri belirlenmiştir. Zeytinlerden yağ elde etmek için

Abencor (MC2 Ingenierias y Sistemas Sevilla, İspanya) sistemi (laboratuvar tipi değirmen) kullanılmıştır.

Olgunluk indeksinin belirlenmesi İspanya Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Jaen İstasyonu tarafından önerilen 1 kg örnekten rastgele alınan 100 adet zeytine aşağıdaki formül kullanılarak yapılan hesaplama dayanmaktadır (Anonim, 1991). Formülde renk sınıflarını belirleyen harflerin aynı meyvenin gelişmesini değerlendirmek üzere çarpan olarak kullanılır. Bu indeks, olgunlukla ilişkili diğer özelliklerin oluşmasında belirli bir zamana, her bölge için, ne zaman ulaşıldığını belirlemek üzere yardımcı olabilir (Solinas, 1990).

Olgunluk İndeksi:

$$\frac{a \times 0 + b \times 1 + c \times 2 + d \times 3 + e \times 4 + f \times 5 + g \times 6 + h \times 7}{100}$$

Burada a, b, c,h aşağıdaki 8 kategorinin her birine ait zeytin adedidir (Şekil 3.3);

- a: Kabuk rengi koyu yeşil olan zeytinler
- b: Kabuk rengi sarı veya sarımsı olan zeytinler
- c: Kabuk rengi kırmızımsı lekeli sarımsı olan zeytinler
- d: Kabuk rengi kırmızımsı veya açık menekşe olan zeytinler
- e: Kabuk rengi siyah ve meyve eti hala tamamiyle yeşil olan zeytinler
- f: Kabuk rengi siyah ve meyve eti kalınlığının yarısına kadar menekşe olan zeytinler
- g: Kabuk rengi siyah ve meyve eti hemen hemen çekirdeğe kadar menekşe olan zeytinler
- h: Kabuk rengi siyah ve meyve eti tamamiyle koyu renk olan zeytinler.

Yöntem

Zeytinler toplandıktan sonra bekletilmeden Abencor sistemi ile zeytinyağı elde etmek için yapraklarından ayrılıp yıkanmış daha sonra çekiçli bir kırıcı ile kırılmış ve ortam sıcaklığında 20 dk. karıştırma işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra karışan hamur santrifüjlenerek yağ, pirina ve karasu fazına ayrılmıştır. Yağ ile birlikte ayrılan karasu doğal dekantasyon yöntemi ile yağdan ayrılmış, tekrar

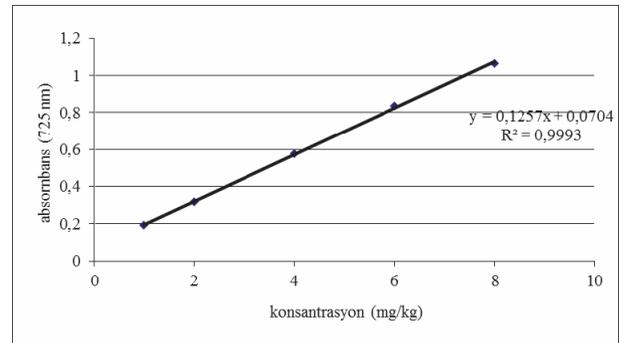
hidrofil pamuktan filtre edilerek içindeki son safsızlıklar da uzaklaştırılmıştır.

Klorofil ve karotenoid miktarı tayini

Klorofil ve karotenoid miktarı tayini spektrofotometre ile 470 ve 670 nm dalga boyunda Minguez-Mosquera ve ark. (1991)'nin kullandığı yöntemle göre yapılmış olup sonuçlar mg/kg olarak verilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı tayini

Zeytinyağlarının toplam fenol içeriği Gutfinger (1981) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. 2,5 g zeytinyağı 5 ml heksanda çözülmüş ve fenolik maddelerin ekstraksiyonu için 5 ml metanol/su (60:40 v/v) ilavesi ile 2 dakika elektronik çalkalayıcıda (Heidolph Multi Reax) çalkalanmış, heksan ve metanol/su fazları birbirlerinden 3500 rpm 10 dakikada santrifüjleme (Rotina 380R Hettich Zentrifugen, Almanya) ile ayrılmıştır (Hrncirik ve Fritsche, 2004). Metanollü kısımda toplam fenol analizi yapılmıştır. Elde edilen ekstraktların toplam fenol içeriği Hrncirik ve Fritsche (2004)'e göre belirlenmiştir. Çözeltiler 2 saat karanlık ortamda bekletildikten sonra absorbans, şahit çözeltiye karşı 725 nm dalga boyunda spektrofotometre (Shimadzu Spectrophotometer UV-1700 PharmaSpec (Japonya)) ile ölçülmüştür. Zeytinyağında toplam fenol standart çözeltisi için 0,05-0,5 mg/ml arasında hazırlanan kafeik asit çözeltisi kullanılmıştır. Kafeik asit çözeltilerinin de aynı koşullarda absorbans değerleri belirlenerek örneklerin toplam fenol içeriği bu standartlardan elde edilen kalibrasyon grafikleri ($R^2=0,99$) yardımıyla kafeik asit olarak hesaplanmıştır.



Şekil 1. Toplam fenolik madde kalibrasyon grafiği

α -Tokoferol miktarı tayini

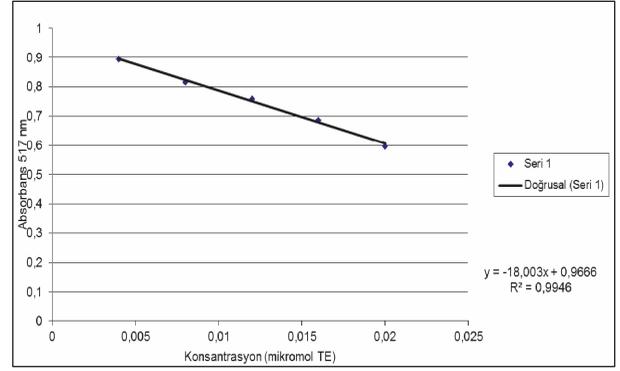
Zeytinyağının major tokoferolu olan α -tokoferol analizi Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (Agilent technologies HPLC 1100 series, US) kullanılarak Carpenter (1979), Dabbou ve ark. (2008) ve IUPAC (1992) yöntemlerine göre gerçekleştirilmiştir. Yağlar 1/10 oranında % 1'lik izopropil alkol içeren hekzan ile seyreltilip Econofilter 25/0,45 μ m RC (Agilent Technologies) ile filtre edilerek HPLC'ye enjekte edilmiştir. α -tokoferol miktarı standart (Tocopherol Set, Calbiochem, US) kalibrasyon eğrisinin pik alanına dayanılarak hesaplanmıştır ($R^2=0,99$).

Çalışma Koşulları

- Kolon: 10 μ m, 3,9 x 300 mm μ porasil kolon (Waters, Ireland)
- Dedektör: 292 nm UV dedektör
- Akış hızı: 1 ml/dk
- Mobil faz: Hekzan/2-propanol (99:1)
- Enjeksiyon miktarı 20 μ l

DPPH• radikal süpürücü aktivite tayini

Örneklerinin antioksidan kapasitesi güçlü bir serbest radikal olan DPPH•'nın (Aldrich Chemical Co Milwaukee, WI) (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) nötrleştirilmesi işleminin spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle saptanmıştır (Lavelli, 2002; Jiang ve ark., 2005; Carrasco-Pancorbo ve ark., 2005). Zeytinyağında DPPH• radikal süpürücü aktivitesi tayini için 1 g örnek tartılmış, 5 ml metanol ilavesi ile 1 saat elektronik çalkalayıcıda (Heidolph Multi Reax) karıştırılmış, 3500 devirde 10 dk santrifüj (Rotina 380R Hettich Zentrifugen, Almanya) edilmiş ve metanollü kısımda analizler yapılmıştır. 100 μ M DPPH• radikali metanol ile hazırlanmıştır. 0,1 ml örnek üzerine 1,9 ml DPPH• solüsyonu eklenmiş ve 15 dk karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm dalga boyunda absorpsiyon değerleri ölçülmüştür. Örneklerin antioksidan kapasitesi troloks standardından elde edilen kalibrasyon grafikleri ($R^2=0,99$) yardımıyla troloks eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.



Şekil 2 DPPH kalibrasyon grafiği

Bulgular ve Tartışma

Memecik, Gemlik, Uslu ve Ayvalık zeytin çeşitlerinin olgunluk indeksleri Tablo 1'de belirtilmiştir. 25 Kasım 2011 tarihinde hasat edilen zeytinlerden Memecik zeytin çeşidinin 4.36 ile en yüksek olgunluk indeksi değerine sahip olduğu Ayvalık zeytin çeşidinin de 3.62 ile en düşük olgunluk indeksi değerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 1. Memecik, Gemlik, Uslu ve Ayvalık zeytin çeşitlerinin olgunluk indeksleri

Çeşit	Olgunluk İndeksi
Memecik	4.36
Gemlik	4.25
Uslu	3.82
Ayvalık	3.62

Çalışmada, toplam fenolik madde miktarı 383.67 mg CAE/kg yağ ile en yüksek Gemlik zeytin çeşidinden elde edilen zeytinyağında, 46.15 mg CAE/kg yağ ile en düşük Ayvalık zeytin çeşidinden elde edilen zeytinyağında tespit edilmiştir (Tablo 2). Daha önce Ocakoğlu ve ark. (2009), Ilyasoğlu ve ark. (2010), Sevim (2011) ve Köseoğlu (2013) tarafından yapılan çalışmalarda Memecik zeytin çeşidinden elde edilen yağın toplam fenolik madde miktarının Ayvalık zeytin çeşidinden elde edilen yağa göre daha yüksek olduğu saptanmış olup çalışmamız da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Gemlik ve Memecik zeytin çeşidinden elde edilen zeytinyağlarının toplam fenol miktarının bazı İtalyan (Ninfali et al., 2001; Galvano ve ark., 2007; Baiano ve ark., 2009) ve Tunus (Krichene ve ark.,

2007) zeytin çeşitlerinden elde edilen yağlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2. Ayvalık, Memecik, Gemlik ve Uslu zeytin çeşitlerinden elde edilen zeytinyağlarının toplam fenolik madde (mg CAE/kg yağ), α -tokoferol (mg/kg), klorofil (mg/kg) ve karotenoid (mg/kg) miktarları ile DPPH antioksidan aktiviteleri (μ mol TE/100 g yağ)

	Toplam fenolik madde	α -tokoferol	DPPH RSA
Memecik	304.94 \pm 2.96*	340.44 \pm 2.44	94.58 \pm 4.65
Gemlik	383.67 \pm 10.07	194.99 \pm 3.31	122.87 \pm 5.05
Uslu	162.56 \pm 17.17	297.18 \pm 0.93	85.87 \pm 2.42
Ayvalık	46.15 \pm 7.70	243.19 \pm 0.42	45.16 \pm 1.82

*ortalama \pm std sapma

α -tokoferol miktarı 340.44 mg/kg ile en yüksek Memecik zeytin çeşidinden elde edilen yağda tespit edilmiş olup onu sırasıyla Uslu, Ayvalık ve Gemlik zeytin çeşidinden elde edilen yağlar takip etmiştir (Tablo 2). Ilyasoglu ve ark. (2010), Sevim (2011) ve Köseoğlu (2013) tarafından yapılan çalışmalarda da Memecik zeytin çeşidinden elde edilen yağın α -tokoferol miktarının Ayvalık zeytin çeşidinden elde edilen yağa göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Zeytin çeşitlerinden elde edilen yağların α -tokoferol miktarının bazı Yunanistan (Okogeri ve ark., 2002), İtalyan (Cerretani ve ark., 2006) ve İspanyol (Aguilera ve ark., 2005) zeytin çeşitlerinden elde edilen yağlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

DPPH radikal süpürücü aktivitesi Memecik, Gemlik, Uslu ve Ayvalık zeytin çeşitlerinden elde edilen yağlarda sırası ile 94.58, 122.87, 85.87 ve 45.16 μ mol TE/100 g yağ olarak saptanmıştır. Jiang ve ark. (2005) tokoferolün yağdaki radikal süpürücü etkisinin % 39-61 arasında değiştiğini, tokoferol ve fenolik bileşik içeriği düşük olan yağların DPPH radikal süpürücü etkisinin de düşük olduğunu belirlemişlerdir. Baldioli ve ark. (1996) yaptıkları çalışmada da zeytinyağının oksidatif stabilitesinin fenolik bileşiklerin konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da toplam fenolik madde miktarı yüksek olan yağların DPPH radikal süpürücü aktivitesinin de yüksek olduğu saptanmıştır.

Tablo 3. Ayvalık, Memecik, Gemlik ve Uslu zeytin çeşitlerinden elde edilen zeytinyağlarının klorofil (mg/kg) ve karotenoid (mg/kg) miktarları

	Klorofil	Karotenoid
Memecik	0.55 \pm 0.15	0.79 \pm 0.09
Gemlik	1.53 \pm 0.14	1.94 \pm 0.02
Uslu	0.87 \pm 0.08	1.44 \pm 0.01
Ayvalık	2.01 \pm 0.19	2.07 \pm 0.06

*ortalama \pm std sapma

Yağların klorofil pigment miktarının 0.55 mg/kg ile 2.01 mg/kg arasında tespit edilmiştir. Ayvalık zeytin çeşidinden elde edilen yağın klorofil pigmentinin en yüksek olduğu Memecik zeytin çeşidinden elde edilen yağın ise en düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 3). Karotenoid miktarlarının çeşitlere göre 0.79 mg/kg ile 2.07 mg/kg arasında değiştiği saptanmıştır. Karotenoid pigment miktarında da en yüksek değer Ayvalık, en düşük Memecik zeytin çeşidinden elde edilen yağda tespit edilmiştir. Genel olarak tüm çeşitlerden elde edilen yağların klorofil ve karotenoid pigment miktarları Tunus (Krichene ve ark., 2007) zeytin çeşitlerinden elde edilen yağlara göre daha düşük tespit edilmiştir. Salvador ve ark. (2001) Cornicabra zeytin çeşidinden elde edilen yağın klorofil miktarının 2 mg/kg ile 27 mg/kg arasında, karotenoid miktarının 2 mg/kg ile 14 mg/kg arasında değiştiğini belirtmekte olup bu değerler, çalışmamızdaki değerlerden daha yüksek bulunmuştur.

Sonuç

Çalışmamızda aynı hasat tarihinde farklı olgunluk seviyesine sahip zeytinlerden elde edilen yağların minör bileşenleri ve antioksidan aktivitesi karşılaştırılmış olup, Gemlik zeytin çeşidinden elde edilen yağın toplam fenolik madde miktarı ve DPPH radikal süpürücü aktivitesi (RSA) Memecik, Uslu ve Ayvalık zeytin çeşidinden elde edilen yağların değerlerinden daha yüksek tespit edilmiştir. α -tokoferol miktarının ise Uslu, Ayvalık ve Gemlik zeytin çeşidinden elde edilen yağlara göre Memecik zeytin çeşidinden elde edilen yağlardan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayvalık zeytin çeşidinden elde edilen yağların klorofil ve karotenoid miktarlarının diğer çeşitlerin yağlarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Farklı olgunluk seviyelerindeki zeytinlerden elde edilen yağların minör bileşenleri ve antioksidan aktivitesi farklılık gösterebileceği düşünüldüğünde,

bu çalışmanın ileride aynı olgunluk seviyelerindeki zeytinlerden elde edilen yağlarda yapılacak olan çalışmalara ışık tutması amaçlanmıştır.

Kaynaklar

- Anonim, 1991, Zeytinyağı Kalitesinin İyileştirilmesi, Yağ Teknolojisi Deneme Enstitüsü, UZK, İtalya
- Aguilera, M.P., Beltran, G., Ortega, D., Fernandez, A., Jimenez, A., and Uceda, M., 2005. Characterisation of Virgin Olive Oil of Italian Olive Cultivars: "Frantoio" and "Leccino", Grown in Andalusia. *Food Chem.* 89, 387-391.
- Baiano, A., Gambacorta, G., Terracone, C., Previtali, M.A., Lamacchia, C. and La Notte, E., 2009, Changes in Phenolic Content and Antioxidant Activity of Italian Extra-Virgin Olive Oils during Storage, *Journal Of Food Science*, (74), (2), 177-183.
- Baldioli M., Servili, M., Perretti, G. and Montedoro, G.,F., 1996, Antioxidant Activity of Tocopherols and Phenolic Compounds of Virgin Olive Oil, *J Am. Oil Chem Soc*, 73,1589-93.
- Bozdoğan Konuşkan, D., 2008, Hatay'da Yetiştirilen Halhalı, Sarı Haşebi Ve Gemlik Zeytin Çeşitlerinden Çözücü Ekstraksiyonuyla Elde Edilen Yağların Bazı Niteliklerinin Belirlenmesi Ve Mekanik Yöntemle Elde Edilen Zeytinyağları İle Karşılaştırılması, ÇÜ FBE, Doktora Tezi.
- Briante, R., Patumi, M., Terenziani, S., Bismuto, E., Febbraio, F., and Nucci, A., 2002, *Olea europaea* L. Leaf Extract And Derivatives: Antioxidant Properties, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4934-4940.
- Carpenter, A., P., 1979, Determination of Tocopherols in Vegetable Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 59, 668-671.
- Carrasco-Pancorbo, A., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Del Carlo, M., Gallina-Toschi, T., Lercker, G., Compagnone, D., and Fernandez-Gutierrez, A., 2005, Evaluation of the Antioxidant Capacity of Individual Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 8918-8925.
- Cerretani, L., Bendini, A., Del Caro, A., Piga, A., Vacca, V., Caboni, M. F. and Toschi, T. G., 2006, Preliminary Characterisation of Virgin Olive Oils Obtained From Different Cultivars in Sardinia, *European Food Research And Technology*, (222), 3-4, 354-361.
- Dabbou, S., Isaoui, M., Servili, M., Taticchi, A., Sifi, S., Montedoro, F., G., and Hammami, M., 2008, Characterisation of Virgin Olive Oils from European Olive Cultivars Introduced in Tunisia, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 110.
- Dimitrios, B., 2006, Sources of Natural Phenolic Antioxidants, *Trends in Food Science & Technology*, 17, 505-512.
- Galvano, F., Fauj, L.L., Graziana, G., Ferracane, R., Masella, R., Giacomo, C., Scacco, A., D'Archivio, M., Vanella, L. and Galvano, G., 2007, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Italian Extra Virgin Olive Oil Monti Iblei, *J. Of Medicinal Food*, 10 (4), 650-656.
- Gimeno, E., Castellote, A.I., Lamuela-Raventó' S, R.M., De La Torre, M.C. and Lo'Pez-Sabater, M.C. ,2002, The Effects of Harvest and Extraction Methods on the Antioxidant Content (Phenolics, α -Tocopherol, and β -Carotene) in Virgin Olive Oil, *Food Chemistry* , 78, 207-211.
- Gutfinger, T., 1981, Polyphenols in Olive Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58, 966-968.
- Hrncirik, K., and Fritsche, S., 2004, Comparability and Reliability of Different Techniques for the Determination of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil, *Eur. J.Lipid Sci. Technol*, 106, 540-549.
- Ilyasoglu, H., Ozcelik, B., Van Hoed, V. and Verhe, R., 2010, Characterization of Aegean Olive Oils by Their Minor Compounds, *J Am Oil Chem Soc*, (87), 627-636.
- Inarejos-Garcia, A., M., Santacatterina, M., Salvador, M.,D., Fregapane, G. and Gomez-Alonso, S., 2010, PDO Virgin Olive Oil Quality—Minor Components and Organoleptic Evaluation, *Food Research International*, 43, 2138-2146.
- IUPAC, 1992, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates, *Methods* 2.432 (7th ed.).
- Jiang, L., Yamaguchi, T., Takamura, H., and Matoba, T.,2005, Characteristics of Shodo Island Olive Oils in Japan: Fatty Acid Composition and Antioxidative Compounds, *Food Sci. Technol. Res.*, 18, 11, 254-260.
- Köseoğlu, O., 2006, Zeytinden Yağ Elde Etme Sistemlerinin Zeytinyağının Kalitesi İle Acılığ İ Üzerine Etkileri, EÜ FBE Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Köseoğlu, O., 2013, Ege Bölgesinde Yetiştirilen Başlıca Zeytin Çeşitlerinden (Ayvalık,Memecik) elde edilen Yağların antioksidan Aktivitesi Üzerine Etki Eden Bileşenlerin Zeytinyağlarının Raf Ömrüne Etkileri, EÜ FBE Doktora Tezi.

- Krichene, D., Taamalli, W., Daoud, D., Salvador, M.D., Fregapane, G. and Zarrouk, M., 2007, Phenolic Compounds, Tocopherols and Other Minor Components in Virgin Olive Oils of Some Tunisian Varieties, *J.of Food Biochemistry*, 31, 179-194.
- Lavelli, V., 2002, Comparison of the Antioxidant Activities of Extra Virgin Olive Oils, *J. Agric. Food Chem*, 50, 1, 7704-7708.
- Lopez, S., Pacheco, Y., M., Bermudez, B., Abia, R. and Muriana, F., J., G., 2004, Olive Oil and Cancer, *Grasas y Aceites*, 55, 33-41.
- Milardovic, S., Ivekovic, D., S. and Grabaric, B., 2006, A Novel Amperometric Method for Antioxidant Activity Determination Using DPPH Free Radical, *Bioelectrochemistry*, 68, 175-180.
- Minguez-Mosquera, M.I., Rejano-Navarro, L., Gandul-Rojas, B., Sanchez Gomez, A.H. and Garrido-Fernandez, J., 1991, Color-Pigment correlation in Virgin Olive Oil, *J.Am.Oil Chem. Soc.*, 86, 332-336.
- Morelló, J. R., Romero, M. P. and Motilva, M. J., 2006, Influence of Seasonal Conditions on the Composition and Quality Parameters of Monovarietal Virgin Olive Oils, *JAOCS*, (83), 8, 1-8.
- Ninfali, P., Aluigi, G., Bacchiocca, M. and Magnani, M., 2001, Antioxidant Capacity of Extra-Virgin Olive Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 78, 243-247.
- Ocakoglu, D., Tokatli, F., Ozen, B., and Korel, F., 2009, Distribution of Simple Phenols, Phenolic Acids and Flavanoids in Turkish Monovarietal Extra Virgin Olive Oils for Two Harvest Years, *Food Chemistry*, 113, 401-410.
- Okogeri, O. and Tasioula-Margari, M., 2002, Changes Occuring in Phenolic Compounds and α -Tokoferol of Virgin Olive Oil During Storage, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 1077-1080.
- Oliveras- Lopez, M., J., Quesada Granados, J., J., Bermudo, F., M., Serana, H., L and Lopez Martinez, M., C., 2008, Influence of Milling Conditions on the α -tocopherol Content of Picual Olive Oil, *Eur. J.. Lipid Sci. Thechnol.*, 110, 530-536.
- Öğütçü, M. Mendeş, M. ve Yılmaz, E., 2008, Sensorial and Physico-Chemical Characterization of Virgin Olive Oils Produced in Canakkale, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 85, 441-456.
- Romero, M. P., Tovar, M. J., Ramo, T. and Moltiva, M. J., 2003, Effect of crop season on the composition of virgin olive oil with protected designation of origin "Les Garrigues", *AOCS*, (80), 5, 423-430.
- Servili, M. and Montedoro, G., 2002. Contribution of Phenolic Compounds to Virgin Olive Oil Quality, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 602-613.
- Sevim, D., 2011, Zeytin Yaprağı İlave Edilerek Elde Edilen Zeytinyağlarının Bazı Temel Kalite Kriterleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, EÜ FBE, Doktora Tezi, İzmir.
- Visioli, F., Bellomo, G. and Gali, C., 1998, Free Radical-Scavenging Properties of Olive Oil Polifenols, *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 247, 60-64.

İLETİŞİM

Dr. Didar SEVİM
Zeytincilik Araştırma Enstitüsü
Üniversite Cad. No:43
Bornova İzmir
e-posta:dcengeler@gmail.com

Memecik x Uslu Melezi (F1) Zeytin Genotiplerinin Pomolojik Özellikleri

Pomological Characteristics of Memecik x Uslu Hybrid (F1) Olive Genotypes

Öznur ÇETİN, Nurengin METE, Mustafa ŞAHİN, Filiz SEFER, Hülya KAYA,
Uğur GÜLOĞLU, Mehmet HAKAN, Nurcan ULUÇAY

Zeytincilik Araştırma Enstitüsü. Bornova / İzmir

Geliş tarihi: 18.01.2016

Kabul tarihi: 19.02.2016

Özet

Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan zeytin çeşitlerine alternatif olarak sofralık ve yağlık yeni zeytin çeşitleri geliştirmek amacıyla Zeytincilik Araştırma Enstitüsü'nde 'Zeytinde Melezleme ile Çeşit Geliştirme' projesi yürütülmektedir. Önemli yağlık çeşitlerimizden olan Memecik çeşidi ile sofralık olarak değerlendirilen Uslu çeşidi, bu proje kapsamında melezlenmiştir. Memecik çeşidinin olgunlaşma süresinin çok geç olması nedeni ile hasadı kış aylarında yapılmaktadır. Bu durum kaliteyi düşürmekte ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle Memecik çeşidi mevcut çeşitlerimiz arasında olgunlaşma süresi çok daha erken olan Uslu çeşidi ile melezlenerek bir varyasyon yaratılmıştır.

Bu çalışma ile Memecik x Uslu melez kombinasyonundaki 90 genotipin % yağ miktarları, meyve olgunlaşma süreleri, meyve eti sertliği, et çekirdek ayırım düzeyi, meyve ağırlığı, meyve eni ve meyve boyu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Zeytin, melezleme, çeşit, pomoloji, yağ miktarı.

Abstract

The project named 'Variety Development by Hybridization in Olives' is being carried out at the Olive Research Institute in Turkey to develop new alternatives to the current oil and table olive cultivars. Memecik, one of our important oil cultivar and Uslu, a table cultivar have been hybridized within this project. Harvest is being done in the winter season in Memecik due to its late maturity. This results in decreased quality and economical losses. For this reason, Memecik has been hybridized with Uslu, in which ripening is much earlier.

In this study; % oil quantity, fruit maturation, fruit flesh firmness, seed-flesh separation grade, fruit weight, fruit width and fruit length have been determined in 90 genotypes within Memecik x Uslu hybrid combination.

Keywords: Olive, hybridization, variety, pomology, oil quantity.

Giriş

Zeytin ve zeytinyağı üretimi dünya ve ülkemiz tarım ekonomisinde önemli bir sektördür. Özellikle insan sağlığı açısından zeytinyağının üstün besleyici özelliklerinin bilimsel çalışmalarla ispatlanmasıyla 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren zeytincilik daha da önem kazanmıştır. Bu durum entansif

tekniklere dayalı yeni bir zeytincilik anlayışının yaygınlaşmasına yol açmıştır. Bu değişim ile birlikte gittikçe büyüyen ve gelişen pazar istekleri, mevcut çeşitlerden daha üstün verim ve kalitede yeni zeytin çeşitlerine duyulan gereksinimini artırmıştır. Bu amaçla sofralık ve yağlık yeni çeşitlerin geliştirilmesi hedeflenerek çeşitli ülkelerde

melezleme programları başlatılmıştır. Zeytinde melezleme programlarında temel amaçlar, yüksek ve düzenli verim, yüksek yağ içeriği, biyotik ve abiyotik faktörlere dayanıklılık, kültürel uygulamalara uygunluk, erken ve homojen olgunlaşma olup; sofralık zeytinlerde iri meyve, yüksek et oranı, çekirdeğin etten kolay ayrılması, ince kabuk, duysal özellikler ve meyve rengi gibi faktörler olmuştur.

Zeytinin uzun gençlik kısırlık süresi, hem melezleme ve hem de genetik çalışmalarda daima önemli bir engel oluşturmuştur (La Rosa ve ark. 2003). Zeytinci ülkelerde melezleme çalışmaları 1970'li yıllarda başlamıştır. İtalya'da 1971 yılında başlatılan programda çift amaçlı kullanıma uygun, gelişme kuvveti düşük, düzenli ve yüksek verimli, erken olgunlaşan, büyük ve üniform meyvelere sahip, yağ içeriği düşük 3 genotip geliştirilmiştir (Bellini ve ark. 2002). Ülkemizde 1994 yılında Uluslararası Zeytin Konseyi'nin desteği ile 'Zeytinde Melezleme ile Çeşit Geliştirme' projesi başlatılmıştır. Zeytincilik Araştırma İstasyonu'nda yürütülmekte olan projenin ana amacı Ege Bölgesi'nin en önemli yağlık çeşidi olan Memecik çeşidinin geç olgunlaşması nedeniyle hasadın çok geç dönemlere kalmasından kaynaklanan olumsuzlukların giderilmesi olarak belirlenmiştir. Bu doğrultuda erken olgunlaşan, yağ verimi yüksek ya da sofralık özellikleri iyi olan yeni çeşitlerin geliştirilmesi için Memecik çeşidi ile erkenci bazı zeytin çeşitlerinde melezlemeler yapılmıştır.

Zeytin meyvesi; % 1-2 meyve kabuğu (epikarp), % 63-86 meyve eti (mesokarp), % 10- 30 meyve çekirdeği (endokarp) ve % 2-6 oranında çekirdek içermektedir. Zeytin meyvesinde, % 40 oranındaki su ve % 20-35 oranındaki yağ meyve etinde (mesokarp) bulunmaktadır. Zeytin meyvesindeki toplam yağın yalnızca % 1'lik kısmı meyvenin mesokarp dışındaki kısımlarında yer almaktadır (Hoffmann, 1989).

Zeytinyağı; zeytin meyvelerinin doğal niteliklerinde değişikliğe neden olmayacak bir ısı ortamında, sadece yıkama, dekantasyon, santrifüj ve filtrasyon işlemleri gibi mekanik veya fiziksel işlemler uygulanarak elde edilen; kendi kategorisindeki ürünlerin fiziksel, kimyasal ve duysal özelliklerini taşı-

yan yağları ifade etmektedir (Anonim, 2010). Zeytinyağı miktarı, zeytin çeşidinin özelliği ve yetiştirildiği çevresel koşullardan etkilenmektedir (Mailer, 2006). Zeytinler içerdikleri yağ oranlarına göre düşük (<%18), orta (%18-%22), yüksek (>%22) olarak üç grupta sınıflandırılır (Anonymous, 2000). Zeytinyağı özel aroması, lezzeti, yüksek oksidatif stabilitesi ve sağlık üzerine yaptığı olumlu etkiler nedeniyle son yıllarda giderek artan bir ilgi görmektedir. Bu nedenle çeşit ıslahında yağ oranı yüksek çeşitlerin geliştirilmesi öncelikli hedefler arasında yer almaktadır.

Zeytin meyvelerinin olgunlaşma süresi çeşit özelliği ve çevresel şartların kontrolü altındadır (Anonymous 1977). Özellikle yağlık olarak değerlendirilen zeytin çeşitlerinde genetiksel yapıdan kaynaklanan geç olgunlaşma özelliği hasat zamanını etkileyerek zeytinyağının kalitesi ve miktarı üzerinde olumsuz etkiler yaratabilmektedir. Ersoy (2005), zeytin meyvesinin olgunluk düzeyinin zeytinyağı kalitesine % 50 oranında etkili olduğunu belirtmiştir. Ayrıca, Ait Yacine ve ark. (2001), yaptıkları çalışmada olgunluk indeksi ve hasat tarihi arasında çok güçlü bir korelasyon ($R=0.91-0.96$) olduğunu rapor etmişlerdir. Chimi ve Atouati (1994), zeytin meyvesinin olgunlaşma devresinin yağ verimi üzerinde önemli bir etki yaptığını saptamışlar ve mümkün olan en fazla sayıda renk değiştirmiş zeytin meyvelerinin toplanmasıyla en iyi kalitede yağ elde edildiğini belirtmişlerdir.

Zeytin yetiştiriciliğinde de birçok meyvede olduğu gibi erken olgunlaşma önemli avantajlar sağlamaktadır. Zeytinde olgunlaşmanın gecikmesi ve zeytin hasadının koşulların elverişsiz olduğu yağışlı geç dönemlere sarkması verim ve kaliteyi olumsuz yönde etkilemektedir. Bu koşullarda biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin etkisiyle üretim kayıpları daha da artmaktadır. Ayrıca, son yıllarda zeytinyağı üretiminde erken hasat tercihlerinin yaygınlaşması erken olgunlaşan çeşitlerin önemini arttırmaktadır.

Sofralık olarak değerlendirilecek zeytinlerde meyve eti sertliği ve et-çekirdek ayırım düzeyi önemli kalite kriterleridir. Sofralık olarak değerlendirilecek çeşitlerde meyve etinin yeterli sertlikte olması

ve bu sertlik düzeyinin kalıcı olması gerektiği belirtilmiştir (Tetik, 2004). Ayrıca, çeşitlerin et çekirdek ayırımın kolay olduğu çeşitlerin sofralık işlemeye daha elverişli olduğunu bildirilmiştir. Zeytinde meyve etinin belirli sertliğe sahip olması, ham üründe bazı zararlılara karşı dayanıklılığı artırırken, işlenmiş zeytin açısından da ürün kalitesini ve raf ömrünü etkileyen önemli bir unsurdur.

Zeytinlerde tane iriliği, çeşide, ağacın yaşına, ağacın yetiştiği bölgenin iklim ve coğrafi durumuna, tarımsal uygulamalara ve periyodisiteye göre değişebilmektedir (Kiritsakis ve Markakis, 1987). Yapılan çalışmalarda, sofralık veya çift amaçlı zeytin çeşitlerinin meyve ağırlığının en azından 2.43 g'dan fazla olması (Anonymous 2004), et çekirdek oranının ise 5'den yüksek olması gerektiği bildirilmiştir (Padula ve ark 2008).

Bu çalışmada; 'Melezleme ile yeni zeytin çeşitlerinin geliştirilmesi' projesi içerisinde yer alan ve Memecik x Uslu F1 popülasyonundaki 90 melez bireyin ve ebeveynlerin % yağ miktarları (yaş örnekte), meyve olgunlaşma süreleri, meyve eti sertliği, et çekirdek ayırım düzeyi, meyve ağırlığı, meyve eni ve meyve boyu ve incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Materyal

Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü melezleme programında yer alan Memecik x Uslu F1 po-

pülasyonundaki 90 melez genotip ile ebeveynleri olan Memecik ve Uslu çeşitleri materyal olarak kullanılmıştır.

Metot

% Yağ miktarı: Meyve örneklerinde olgunluk indeksinin 5 olduğu dönemde % yağ miktarı Zeutec spectra analyzer olive cihazı ile yağ numunede belirlenmiştir. Genotipler içerdikleri yağ miktarına göre düşük (<%18), orta (%18-%22) ve yüksek (>%22) olarak üç grupta sınıflandırılmıştır.

Meyve olgunlaşma süresi: Meyve olgunlaşma süresinin belirlenmesinde, tam çiçeklenmeden (ağaçtaki çiçeklerin % 80'inin açtığı dönem) olgunluk indeks değerinin 5 olduğu döneme kadar geçen gün sayısı baz alınmıştır (Arsel ve ark. 2001).

Zeytin meyvesinin olgunlaşma dönemini belirlemede kullanılan en önemli yöntemlerden birisi, tüm zeytinci ülkelerde kabul gören meyve olgunluk indeks yöntemidir (Uceda ve Frias 1975). Buna göre, örnek alımı meyvelerin yaklaşık % 80'ninin karardığı dönemden itibaren başlatılarak ve her bir F1 bireyin farklı yönlerinden tesadüfi olarak alınan toplam 100 adet meyve örneği ile uygun olgunluk indeksine ulaştıkları tarih saptanmıştır. Meyve olgunlaşma indeks değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Meyve Olgunluk İndeksi (IM)} = \frac{(0xn_0) + (1xn_1) + (2xn_2) + \dots + (7xn_7)}{100}$$

Formülde : $n_0, n_1, n_2, n_3, n_4, \dots, n_7$ renk skalasında verilen 8 kategorinin her birine ait zeytin adedidir.

Olgunluk göstergesinin hesaplanmasında kullanılan renk skalası

Kategori

Renk Skalası

- | | |
|---|---|
| 0 | Kabuk rengi koyu yeşil olan meyveler |
| 1 | Kabuk rengi sarı veya sarımsı-yeşil olan meyveler |
| 2 | Kabuk rengi kırmızımsı lekeli sarımsı olan meyveler |
| 3 | Kabuk rengi kırmızımsı veya açık menekşe olan meyveler |
| 4 | Kabuk rengi siyah ve meyve eti hala tamamıyla beyaz olan meyveler |
| 5 | Kabuk rengi siyah ve meyve eti kalınlığının yarısından daha az menekşe olan meyveler |
| 6 | Kabuk rengi siyah ve meyve eti kalınlığının yarısından daha çok menekşe olan meyveler |
| 7 | Kabuk rengi siyah ve meyve eti tamamıyla koyu menekşe olan meyveler |

Meyve olgunluk indeks değerinin 5 olduğu dönemde, en iyi özellikte yağ elde edileceği belirtilmiştir (Tiryaki 2005). Bu çalışmada da meyve olgunluk indeks değerinin 5 olduğu dönem olgunlaşma zamanı olarak kabul edilmiştir.

Et-çekirdek ayırım düzeyi: Meyve olgunluk indeks değeri 4 olduğunda seçilen F1 melez bireylerden ve ebeveynlerden alınan meyve örneklerinde et-çekirdek ayırım düzeyi saptanmıştır. Meyvelerin et-çekirdek ayırım düzeyi kolay ve orta olmak üzere 2 kategoride değerlendirilmiştir (Anonymous 2000). Her bir F1 melez bireyin ve ebeveynlerin 4 farklı yönünden tesadüfi olarak alınan toplam 20 adet meyve örneği kullanılmıştır. Genotipler için et-çekirdek ayırım düzeyi, incelenen örneklerin ortalaması kabul edilmiştir.

Meyve eti sertliği: İncelenen F1 melez bireyler ve ebeveynlerden olgunlaşma indeksinin 4 olduğu dönemde alınan meyve örneklerinde meyve sertliği tespit edilmiştir. Proje materyalini oluşturan genotiplerden 4 farklı yönden tesadüfi olarak alınan toplam 20 örnekte penetrometre ile meyve sertlikleri ölçülmüştür (Esti ve ark. 1998). Penetrometre olarak Mitutoyo hardmatic HH-300 kullanılmıştır. Genotipler için meyve sertlik değeri, incelenen örneklerin ortalaması kabul edilmiştir.

Meyve eni: 40 adet meyvenin orta kısmından kumpas ile ölçüm yapılmış ve ortalaması alınmıştır (Anonymous, 2000).

Meyve boyu: 40 adet meyvenin boyu kumpas ile ölçülerek ortalaması alınmıştır (Anonymous, 2000).

Meyve şekli: Meyve boyunun meyve enine oranlanması ile belirlenmiştir. Meyve şekli; yuvarlak: (B/E < 1.25), oval: (B/E 1,25-1.45), uzun: (B/E > 1.45) olarak ifade edilmiştir (Anonymous, 2000).

Meyve ağırlığı: Meyve dallarının orta kısmından rasgele alınan 40 adet meyvenin hassas terazide (g) tartılıp ortalaması alınarak belirlenmiştir (Anonymous, 2000).

Bulgular ve Tartışma

% Yağ miktarı: Memecik çeşidinin yağ numunedeki % yağ miktarı 24,62 (yüksek) olarak, Uslu çeşidinin ise %15,39 (düşük) olarak belirlenmiştir. Melez genotiplerin yağ oranları % 8,15 ile 29,17 arasında değişmiştir. Genotiplerin 37 tanesi yağ oranı bakımından düşük, 21 tanesi orta, 30 tanesi

yüksek grupta yer almıştır. Şeker ve ark (2008), Memecik çeşidinin yağ oranını % 24,50 Uslu çeşidinin ise % 21,50 olduğunu belirtmiştir.

Meyve olgunlaşma süresi: Ebeveynlerden Memecik çeşidi için 181 gün, Uslu çeşidi için 141 gün olarak belirlenmiştir. Melez genotiplerde ise olgunlaşma süreleri 130-186 gün arasında değişmiştir. En erkenci F8 genotipi olurken, en geç olgunlaşan F26 genotipi olmuştur.

Memecik ve Uslu çeşitlerinin de aralarında olduğu 11 genotip ile yapılan çalışmada somak oluşumunun 22 Mart ile 4 Nisan arasında gerçekleştiği, en erken somak oluşumunun Uslu, en geç somak oluşumunun ise Memecik çeşidinde olduğu belirtilmiştir. Çeşitler arasında en erken meyve olgunlaşmasının Uslu, en geç ise Memecik çeşitlerinde olduğu ifade edilmiştir (Baktır ve ark., 1995)

Ebeveynlerde ve melez bireylerde **et-çekirdek ayırım düzeyi** kolay ve orta olmak üzere 2 kategoride değerlendirilmiştir. Buna göre ebeveynlerden Memecik çeşidinin et-çekirdek ayırımı orta, Uslu çeşidinin kolay olduğu belirlenmiştir. Melez genotiplerin 51 adedinin et-çekirdek ayırımı kolay, 39 adedinin ise orta olduğu tesbit edilmiştir. Sofralık olarak değerlendirilecek çeşitlerin et-çekirdek ayırımının kolay ya da orta olması istenen bir durumdur.

Meyve eti sertliği: Olgunlaşma indeksinin 4 olduğu dönemde yapılmış ve ebeveynlerden Memecik çeşidinin meyve sertliği 22,7 mN, Uslu çeşidinin ise 15,8 mN olarak tesbit edilmiştir. Melez genotiplerin meyve sertliklerinin ise 11 mN ile 28.5 mN arasında değiştiği belirlenmiştir.

Meyve eni: Ebeveynlerden Memecik çeşidinin meyve eni 17,21 mm, Uslu çeşidinin 17,28 mm olduğu saptanmıştır. Melez genotiplerin meyve enleri ise 12,67-20,56 mm arasında değişim göstermiştir.

Meyve boyu: Memecik çeşidinin meyve boyu 25,67 mm, Uslu çeşidinin 24,65 mm olduğu ve melez genotiplerin 18,61-27,95 mm arasında değiştiği belirlenmiştir.

Meyve şekli: Memecik çeşidinin meyve şekli uzun, Uslu çeşidinin oval, melez genotiplerin 16 adedi yuvarlak, 55 adedi oval ve 21 adedi uzun olarak tanımlanmıştır.

Meyve ağırlığı: Ebeveynlerden Memecik çeşidinin meyve ağırlığı 4,05 g, Uslu çeşidinin ise 5,56 g olarak belirlenmiştir. Melez genotiplerin meyve ağırlıkları ise 2,18-6,30 g arasında değişmiştir. Şeker ve ark (2008), yaptıkları çalışmada Memecik çeşidinin meyvesinin iri, kg'daki meyve adedinin 209 ve et oranının % 88,28; Uslu çeşidinin meyvelerinin orta büyüklükte (3,53 g) ve et oranının % 85,17 olduğunu ifade etmişlerdir.

Zeytin ıslah çalışmalarının en önemli hedefi yağ oranı yüksek yeni çeşitlerin geliştirilmesidir. Bu amaçla incelenen Memecik x Uslu melez popülasyonunda yer alan 11 F1 genotipin yağlık olarak değerlendirilen Memecik çeşidinden daha üstün bir performans gösterdiği belirlenmiştir. Bu genotiplerin çalışmada incelenen özelliklere ilişkin bulguları Çizelge 1'de verilmiştir.

Sonuç ve Öneriler

Sofralık zeytin ve zeytinyağı sanayinin taleplerini karşılayabilecek yeni zeytin çeşitlerinin geliştirilmesi amacıyla yürütülen melezleme programında yer alan Memecik x Uslu melez kombinasyonundaki genotiplerin incelendiği bu çalışmada sofralık ve yağlık olarak değerlendirilmeye aday olabilecek genotiplerin varlığı tesbit edilmiştir. Bu çalışmaların ışığı altında genotiplerin yağ içerikleri ve salamura özellikleri ile daha detaylı çalışmaların yapılarak tescil edilmeye aday genotiplerin seçilerek üretimde yer alması sağlanmalıdır. Çalışmalarda elde edilen melez kombinasyonların üzerinde biyoteknolojik çalışmalar yapılarak genetik özellikleri ile ilgili detaylı bilgiler elde edilmelidir.

Çizelge 1. Ebeveynler ve yağ içeriği bakımından öne çıkan F1'lerin bazı özellikleri.

Melez No	% yağ	Olgunlaşma süresi	Et çekirdek ayrımı	Meyve eti sertliği	Meyve boyu	Meyve eni	Meyve ağırlığı	Meyve şekli
63	29,17	180	Kolay	20,1	27,95	18,08	5,14	Uzun
31	28,82	178	Orta	22,5	23,12	16,32	3,68	Oval
28	28,50	186	Kolay	21,7	24,77	16,83	4,41	Uzun
20	28,02	171	Kolay	19,3	22,01	17,99	4,23	Yuvarlak
7	26,50	183	Kolay	23,0	24,49	17,74	4,5	Oval
82	26,4	145	Kolay	16,0	22,62	17,35	3,98	Oval
59	26,24	156	Orta	24,5	20,93	14,23	2,75	Uzun
34	26,08	169	Kolay	21,4	23,86	17,42	4,08	Oval
65	26,03	187	Orta	21,9	22,88	17,02	3,85	Oval
61	25,98	175	Kolay	23,0	23,21	18,31	4,67	Oval
3	25,67	162	Kolay	23,0	22,36	17,58	3,47	Oval
Memecik	24,62	181	Orta	22,7	25,67	17,21	4,05	Uzun
Uslu	15,39	141	Kolay	15,8	24,65	17,28	5,56	Oval

Kaynaklar

- Ait Yacine Z., Hilali S., Serhrouchni M., 2001. Olive harvest date in the Tadla Area: A study of some decisive parameters, *Olivae*, 88:39-45.
- Anonim, 2010. Türk gıda kodeksi zeytinyağı ve pirina yağı tebliği (tebliğ no: 2010/35) 7.8.2010 Sayı: 27665.
- Anonymous, 1977. Modern Olive Growing. FAO-Rome.
- Anonymous, 2000. World catalogue of olive varieties. International Olive Oil Council. Spain.
- Anonymous, 2004. Norma Commerciale Applicabile Alle Olive Da Tavola. International Olive Oil Council (IOOC). Risoluzione N. RÉS-2/91-IV/04.
- Arsel A.H., Özahçı Efdal., Ersoy M.N., Özyılmaz H., Ersoy B., 2001. Zeytinde Adaptasyon, 14-01-03-1/2 TAGEM.

- Baktır İ., Salman A. ve Ülger S., 1995. Yerli ve Yabancı Orijinli Bazı Zeytin Çeşitlerinin Antalya Koşullarında Büyüme ve Geleşme Özelliklerinin Saptanması Üzerine Bir Araştırma, Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 3 – 6 Ekim, Adana. 1: 701-705.
- Bellini, E., Giordani, E., Parlati, M.V., Pandolfi, S., 2002. Olive genetic improvement: thirty years of research. Acta Horticulturæ No: 586. P: 105-108.
- Chimi H., Atouati B.Y., 1994. Determination of the of the optimal stage for harvesting 'Picholine marocaine' olives by monitoring changes in total polyphenols, Olivæ, 54.
- De la Rosa, R., Angiolillo, A., Guerrero, C., Pellegrini, M., Rallo, L., Besnard, G., Bervillé, A., Martin, A., and Baldoni, L., 2003. A first linkage map of olive (*Olea europæa* L.) cultivars using RAPD, AFLP, RFLP and SSR markers. Theor. Appl. Genet, 106: 1273–1282.
- Ersoy, B., 2005. Zeytinyağı Teknolojisi Kurs Kitabı, Zeytincilik Araştırma Enstitüsü, Bornova-İzmir.
- Esti M., Cinquanta L., Notta E.L., 1998. Phenolic Compounds in Different Olive Varieties, J. Agric. Food Chem. 46,32-35.
- Hoffmann G., 1989. The Chemistry of Edible Fats. In: Taylor S. L., Eds. The chemistry and technology of edible oils and fats and their high fat products. Academic Press, London. 1-28.
- Kiritsakis, A., Markakis, P., 1987. Olive Oil: A Review. Department of Food Science and Human Nutrition. Michigan State University. East Landing. Michigan 48824.
- Mailer, R., 2006, Testing olive oil quality: chemical and sensory methods, Published by NSW Department of Primary Industries © State of New South Wales 2006, ISSN 1832-6668, Job number 6799, www.dpi.nsw.gov.au/primefacts (Erişim tarihi: Aralık 2012)
- Padula, G., Giordani, E., Bellini, E., Rosati, A., Pandolfi, S., Paoletti, A., Pannelli, G., Ripa, V., De Rose, F., Perri, E., Buccoliero, A., Mennone, C., 2008. Field Evaluation of New Olive (*Olea europæa* L.) Selections and Effects of Genotype and Environment on Productivity and Fruit Characteristics. Adv. Hort. Sci 22:87-94.
- Şeker M., Gül M. K., İpek M., Kaleci N., Yücel Z., Yılmaz E. ve Topal U., 2008. Zeytin (*Olea europæa* L.) Çeşitlerinin AFLP ve SSR Markörleri Polimorfizminin Yağ Asitleri ve Tokoferol Düzeyleri ile İlişkilendirilmesi. TUBİTAK Projesi Sonuç Raporu, TOVAG-3358. Çanakkale. 133s.
- Tetik H.D., 2004. Sofralık Zeytin İşleme Teknikleri, S: 16-17. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü, İzmir.
- Tiryaki G.Y., 2005. Erken hasatın zeytinyağı kalitesi üzerine etkileri, Gıda, 30 (3) S: 193-196.
- Uceda, M., Frias, L., 1975. Epoca de recolección, Evolución del contenido graso del fruto y de la composición y calidad del aceite. II. Seminario Oleícola Internacional, Córdoba.

İLETİŞİM

Dr. Öznur ÇETİN
Zeytincilik Araştırma Enstitüsü
Üniversite Cad. No:43
Bornova/İZMİR
e-mail: oznur.cetin@gthb.gov.tr

Ege, Marmara ve Karadeniz Bölgelerinde Tespit Edilen Yeni Zeytin Genotipleri

New Olive Genotypes Determined in Aegean, Marmara and Blacksea Regions

Hülya KAYA, Mehmet HAKAN, Filiz SEFER, Nurengin METE, Öznur ÇETİN¹,
Mustafa ŞAHİN, Uğur GÜLOĞLU, Nurcan ULUÇAY

Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Üniversite Cad. No:43 Bornova/İzmir Türkiye

Geliş tarihi: 21.01.2016

Kabul tarihi: 02.02.2016

Özet

Dünya üzerinde 2000'den fazla zeytin çeşidi olduğu tahmin edilmektedir. Ülkemizin de hem yabanileri hem de kültür çeşitleri olarak büyük bir zenginliği olduğu bilinmektedir. Diğer zeytin yetiştiricisi ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de botanik tanımlaması yapılmamış, agronomik ve teknolojik özellikleri yeterince bilinmeyen çok sayıda zeytin tipi bulunmaktadır. Bu türlerin korunması geleceğin zeytin üretiminin güvence altına alınması bakımından oldukça önemlidir. "Zeytincilik Araştırma Enstitüsünde yürütülen Zeytin Genetik Kaynaklarının Toplanması Muhafazası ve Karakterizasyonu" isimli proje kapsamında 2008 yılından itibaren tekrar survey çalışmalarına başlanmıştır. Karadeniz, Marmara ve Ege Bölgelerinde yapılan survey çalışmalar sonucunda 21 adet zeytin tipi toplanmıştır.

Çalışmada 21 adet yeni zeytin tipinin Uluslararası Zeytin Konseyi tarafından hazırlanan Zeytin Çeşit Tanımlama Kriterlerine göre bazı özelliklerine yer verilmiştir. 21 adet zeytin tipinin meyve şekli, meyve ağırlığı, yaprak şekli, boğum arası uzunluğu, meme oluşumu, lenticellik durumu, meyvede kararmanın başladığı yer ve tam olgunluk dönemindeki meyve rengi özellikleri verilmiştir. Belirtilen özellikler bakımından tipler farklılık göstermişlerdir.

Anahtar Kelimeler: Zeytin, Survey, Karakterizasyon, Genotip

Abstract

It is estimated to be greater than 2000 olive varieties in the world. There are greater olive wealth with plenty of wild olive and cultivars in Turkey. As the other olive growing countries, there are a lot of varieties which botanical, agronomical and technological characters are unknown in our country. To conservation of olive genetic resources is the most important mission as an Olive Research Institution. Surveys were started again under "Collection, Conservation and Characterization of Olive Genetic Resource" project in 2008. 21 olive types were collected during these surveys in Aegean, Black Sea and Marmara regions.

In this study, some characters of 21 olive types were shown which carried out according to Olive Methodology prepared by International Olive Oil Council. Some characters, which are fruit shape and weight, leaf shape, length of the internodes, nipple, presence of lenticels and size of lenticels, location of start of color change, color at full maturity, were given in this work about 21 olive types. Types were found differences in these indicated properties.

Key words: Olive, Characterization, Survey, Genotypes

Giriş

Bugün ürününden yararlandığımız zeytin ağacı, *Oleaceae* familyasının *Olea europaeae* L. türünün *Olea europaeae sativa* alt türü içinde yer almaktadır (Cronquist, 1981). Bir Akdeniz kuşağı bitkisi olan zeytin, kuzey ve güney yarım kürelerinin 30-45° enlem dereceleri arasında yayılım göstermiş ve bunun dışındaki bazı mikroklimalarda da yetişme şansı bulmuştur. Zeytinin anavatanı veya bitki gen merkezi Anadolu'dur.

Dünyada 38 ülkede ekonomik anlamda zeytin üretimi yapılmaktadır. Bu ülkelerin 30 tanesi kuzey yarım kürede, 8 tanesi ise güney yarım kürede yer almaktadır (Anonymous, 2005).

Zeytinin 2000'den fazla çeşide sahip olduğu tahmin edilmektedir. Pek çok zeytin çeşidi eski zamanlarda tanımlanmış olmasına rağmen hala birçok çeşit sınıflandırılmamıştır.

Genetik olarak çeşitleri ayırt etmede kullanılan analitik tekniklerin uygulanmasındaki güçlükler nedeniyle değişik çeşitlerin morfolojik, biyolojik ve agronomik özelliklerinin bilinmesi çok önemlidir.

Ülkemizde halen yetiştirilmekte olan 100'ün üzerinde zeytin çeşidi vardır. Ülkemiz gerek yabancılar gerekse kültür çeşitleri bakımından çok büyük bir zenginliğe sahiptir (Çavuşoğlu, 1980).

Çeşit konusundaki sörvey çalışmalarının temel amacı; bir gen bankası oluşturmak, özellikle agronomik ve teknolojik açılardan en önemli özelliklerle ilgili genetik varyabiliteyi değerlendirmek, daha sonra adaptasyon çalışmaları için çeşit, ıslah programları için de ebeveyn ağaçları seçmek olmalıdır (Rallo, 1995).

Canözer (1991), Yerli ve yabancı zeytin çeşitleri üzerinde yaptığı çalışmada 88 yerli, 28 yabancı çeşidin pomolojik özelliklerini tespit etmiştir. Ayrıca Türkiye'de yağlık ve sofralık değerlendirmeye elverişli değişik bölgelere ait 28 yerli çeşit ve İspanya'nın önemli zeytin çeşitlerinden olan Manzanilla zeytin çeşidinin coğrafi dağılımı, morfolojik, fiziksel özellikleri ve değerlendirme şekillerini belirlemiştir.

Ülkemizde en son survey çalışmaları sonucu bulunmuş "Yamalak Sarısı" çeşidinin 2004-2005 yılları arasında tanımlaması yapılmış ve 2010 yılında tescili gerçekleştirilmiştir. Çeşit yörede verimi yüksek, en erkenci ve en iri çeşit olarak bulunmuştur (Kaya ve Tekintaş 2006).

Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Zeytincilik Araştırma Enstitüsü'nde yürütülen "Zeytin Genetik Kaynaklarının Toplanması, Muhafazası ve Karakteri-zasyonu" isimli proje 1966 yılından bu yana devam etmektedir. Proje ile Zeytin Arazi Gen Bankasının zenginleşmesi, korunması, karakterizasyonu ve yedeklenmesi amaçlanmıştır. Projede şuana kadar 89 zeytin çeşidi toplanmış, tanımlamaları yapılmış, tescil işlemleri gerçekleştirilmiş ve Enstitüde koruma altına alınmıştır. 2008 yılından itibaren zeytin yetişen bölgelerde tekrar survey çalışmalarına başlanmış ve farklı görülen genotipler toplanarak Enstitüde koruma altına alınmaya başlanmıştır. Survey çalışmaları devam etmektedir.

Materyal ve Metot

Bu çalışma da 2008-2013 yıllarında Çanakkale, Sinop, Samsun, Tekirdağ, İzmit, Zonguldak, Balıkesir illerinden toplanan 21 adet zeytin tipi materyal olarak kullanılmıştır.

Çalışmada metot olarak Uluslararası Zeytin Konseyi (IOC) tarafından hazırlanan Zeytin Çeşit Tanımlama Yöntemine göre yapılmıştır. Surveylerde ön tanımlamada kullanılan meyve şekli, meyve ağırlığı, yaprak şekli, boğum arası uzunluğu, meme oluşumu, lentisellilik durumu, meyvede kararmının başladığı yer ve tam olgunluk dönemindeki meyve rengi gibi özelliklere bakılmıştır. Daha ayrıntılı moleküler ve pomolojik tanımlamalar tiplerin Enstitüde verime yatmalarından itibaren yapılacaktır.

Bulgular ve Tartışma

2008-2013 yılları arası Çanakkale, Sinop, Samsun, Tekirdağ, İzmit, Zonguldak, Balıkesir illerinden yapılan survey çalışmalarında elde edilen 21 adet zeytin tipine ait bulgular Çizelge 1 ve Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 1. Zeytin tiplerinin meyve ağırlığı, meyve ve yaprak şekilleri.

Tipler	Meyve ağırlığı (g)	Meyve şekli (Boy/en)	Yaprak şekli (Boy/en)
16 Mudanya	İri (5,03)	Yuvarlak (1,13)	Mızrak (6,34)
19 Sinop	İri (5,15)	Yuvarlak (1,21)	Uzun eliptik (5,34)
21 Sinop	Orta (2,99)	Oval (1,34)	Uzun eliptik (4,40)
20 Sinop	İri (4,72)	Yuvarlak (1,10)	Eliptik (3,33)
22 Sinop	Orta (3,37)	Uzun (1,55)	Uzun eliptik (4,11)
18 Gemlik	Orta (3,94)	Yuvarlak (1,14)	Mızrak (7,14)
17 Mudanya	Orta (3,07)	Oval (1,29)	Uzun Eliptik (5,39)
24 Samsun	Orta (3,16)	Yuvarlak (1,17)	Uzun Eliptik (4,78)
26 Çanakkale(Fındık)	İri (5,05)	Oval (1,28)	Uzun Eliptik (4,85)
27 Çanakkale	Orta (2,41)	Yuvarlak (1,12)	Uzun Eliptik (6)
25 Çanakkale (Hanım Parmağı)	Orta (3,23)	Oval (1,36)	Uzun Eliptik (4,66)
31Çanakkale (Semadirek)	Orta (2,34)	Oval (1,28)	Uzun Eliptik (5,78)
29 Orhangazi	İri (4,20)	Oval (1,37)	Mızrak (7,01)
28 İznik (Macar)	Orta (3,32)	Yuvarlak (1,21)	Uzun Eliptik (5,68)
41 Tekirdağ (Beyaz)	Orta (3,45)	Oval (1,42)	Uzun Eliptik (6,95)
42 Tekirdağ (Beyaz)	Küçük (1,72)	Oval (1,34)	Uzun Eliptik (5,26)
43 Tekirdağ (Şarköy güzeli)	Orta (2,05)	Uzun (1,46)	Uzun Eliptik (5,21)
44 Zonguldak	İri (4,39)	Oval (1,34)	Uzun Eliptik (4,25)
45 Bartın	İri (4,77)	Oval (1,39)	Uzun Eliptik (4,36)
46 Bartın	Orta (3,06)	Uzun (1,47)	Uzun Eliptik (4,75)
30 Orhangazi	Orta (2,48)	Yuvarlak (1,20)	Uzun Eliptik (5,79)

Çizelge 2. Zeytin tiplerinin meme oluşumu, boğum arası uzunluğu, lentisellilik durumu, meyvede kararmanın başlangıcı ve olgunluk rengi.

Tipler	Meme oluşumu	Boğum arası uzunluğu	Lentisel durumu	Meyvede kararma başlangıcı, olgunluk rengi
16 Mudanya	Taslak Halinde	Orta	Çok-Küçük	Homojen-Siyah
19 Sinop	Yok	Orta	Az-Küçük	Uçtan- Koyu Menekşe
21 Sinop	Taslak Halinde	Orta	Çok-Büyük	Homojen- Koyu Menekşe
20 Sinop	Taslak Halinde	Orta	Çok-Küçük	Uçtan-Koyu Menekşe
22 Sinop	Taslak Halinde	Orta	Az-Küçük	Saptan-Siyah
18 Gemlik	Yok	Orta	Orta-Küçük	Uçtan-Siyah
17 Mudanya	Yok	Orta	Çok-Büyük	Uçtan-Siyah
24 Samsun	Yok	Orta	Orta-Büyük	Saptan-Siyah
26 Çanakkale(Fındık)	Var	Orta	Az-Küçük	Saptan-Siyah
27 Çanakkale	Yok	Orta	Az-Küçük	Saptan-Koyu Menekşe
25 Çanakkale (Hanım Parmağı)	Yok	Orta	Az-Küçük	Saptan-Koyu Menekşe
31Çanakkale (Semadirek)	Yok	Orta	Az-Küçük	Saptan-Koyu Menekşe
29 Orhangazi	Yok	Kısa	Az-Küçük	Saptan-Koyu Menekşe
28 İznik (Macar)	Yok	Orta	Orta-Büyük	Saptan-Koyu Menekşe
41 Tekirdağ (Beyaz)	Yok	Orta	Çok-Büyük	Uçtan-Siyah
42 Tekirdağ (Beyaz)	Taslak Halinde	Orta	Az-Küçük	Homojen- Koyu Menekşe
43 Tekirdağ (Şarköy güzeli)	Yok	Orta	Az-Küçük	Uçtan-Siyah
44 Zonguldak	Var	Orta	Az-Küçük	Homojen- Koyu Menekşe
45 Bartın	Var	Orta	Az-Büyük	Uçtan-Siyah
46 Bartın	Yok	Orta	Az-Küçük	Homojen- Koyu Menekşe
30 Orhangazi	Yok	Orta	Orta-Büyük	Homojen- Koyu Menekşe

Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Zeytin Arazi Gen Bankasında bulunan zeytin çeşitlerinin yaprak şekli bakımından 17 tanesi eliptik, 65 tanesi uzun eliptik ve 7 tanesi mızrak şekillidir (Kaya ve ark. 2013). Çalışmadaki genotiplerin çoğu yaprak şekli bakımından uzun eliptik şekillidir. Sadece 20 numaralı Sinop'tan getirilen genotip eliptik şekilli bulunmuştur. Boğum arası uzunluğu bakımından toplanan genotiplerin hepsi orta sınıfta yer almıştır. Zeytin Arazi Gen Bankasında bulunan çeşitlerin boğum arası uzunlukları 0,90-4,47cm arasında değişmiştir (Kaya ve ark.2013). Meyve ağırlığı bakımından genotipler 1,72-5,15g arasında değişmiş ve genellikle orta sınıfta yer almışlar ve Zeytin Arazi Gen Bankasında bulunan çeşitlerin sınır değerleri içerisinde kalmıştır (0,59g-9,96g). Meme oluşumu incelendiğinde getirilen genotiplerin çoğunda meme oluşumu bulunmamaktadır. Sonuç Arazi Gen Bankasındaki çeşitlerle de para-

lellik göstermektedir. Çeşitlerin 36 tanesinde meme oluşumu yok, 23 tanesinde belirgin ve 30 tanesinde yoktur (Kaya ve ark.2013).

Sonuç

İncelenen özellikler bakımından tiplerin birbirinden farklı olduğu tespit edilmiştir. Survey çalışmalarında toplanan zeytin tipleri, Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Kemalpaşa üretim sahasında Genetik Kaynak olarak koruma altına alınmıştır. Bu tiplerle ilgili daha ayrıntılı tanımlamaların yapılabilmesi için fidanların verim çağına gelmesi gerekmektedir. İleriki çalışmalarda tiplerin moleküler tanımlamalarının da yapılarak birbiriyle ve zeytin çeşitlerimizle olan sinonimlerinin de belirlenmesi hedeflenmektedir.

Kaynaklar

- ANONYMOUS, 2005. www fao org web sayfası, FAO Statistical Databases, Agriculture, Crop Primary, Plum Oroduction in The World
- CRONQUIST, A., 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia Universty Pres., New York. p:1262
- CANÖZER,Ö., 1991. Standart Zeytin Çeşitleri Kataloğu. T. C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Mesleki Yayınlar, Seri:16
- ÇAVUŞOĞLU, A., 1980. Ege Bölgesinin Belli Başlı Yerli ve Yabancı Zeytin Çeşitlerinin Pomolojik Özellikleri Üzerinde Araştırmalar. Sonuç Raporu. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü, İzmir
- INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL, 2000. World Catalogue of Olive Varieties p: 360 Spain.
- Kaya, H., Tekintaş, F. E.,2006, Aydın İlinde Yetiştirilen Yamalak Sarısı Mahalli Zeytin Çeşidinin Fenotipik Özelliklerinin Tanımlaması. ADU Ziraat Fakültesi Dergisi Cilt:3, Sayı:2, ISSN:1304-7787 Aydın
- Kaya.H.,Sefer.F.,Şahin.M.,Çetin.Ö.,Mete.N.,Güloğlu.U.,Hakan.M.2013 Evaluation of data froman olive germplasm collection. International Plant Breeding Congress. Antalya
- RALLO, L., 1995. Selektion and Breeding of Olive in Spain. Olivae No:59,p: 46-53

İLETİŞİM

Hülya KAYA
Zeytincilik Araştırma Enstitüsü
Üniversite cad. No:43 Bornova/İzmir
E-Posta: kaya.hulya@gmail.com, kayahulya@gtthb.gov.tr

Potansiyel Zeytin Probiyotik Suşunun in vitro Sindirim Sistemindeki Canlılığının Araştırılması

Viability Investigation of a Potential Probiotic Olive Strain Using an in vitro Digestive System Model

Tarık ÖZTÜRK^{1,2,3}, Koen VENEMA*⁴, Zeynep Petek ÇAKAR^{1,2}, Mehlika BORCAKLI³

¹İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Maslak, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Teknik Üniversitesi, Dr. Orhan Öcalgiray Moleküler Biyoloji, Biyoteknoloji ve Genetik Araştırma Merkezi (İTÜ-MOBGAM), İstanbul, Türkiye

³TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gıda Enstitüsü, Gebze, Türkiye

⁴Department of Microbiology & Systems Biology, The Netherlands Organization for Applied Scientific Research, Zeist, Utrecht, The Netherlands

*Şu anki adresi: Maastricht University – campus Venlo, School of Nutrition and Translational Research in Metabolism (NUTRIM), Faculty of Health, Medicine and Life Sciences, Department of Human Biology, PO Box 616, 6200 MD, Maastricht, The Netherlands.

Geliş tarihi: 01.12.2015

Kabul tarihi: 03.02.2016

Özet

Türkiye dünyanın üçüncü en büyük sofralık zeytin üreticisidir. Bir laktik asit bakterisi olan *Lactobacillus plantarum* T129 suşu Marmara Bölgesi'ndeki zeytin işleme havuzlarının salamuralarından izole edilmiştir. Probiyotikler uygun miktarda alındığında konakçısına sağlık faydaları sağlayan canlı organizmalar olarak tanımlanmıştır. Laktik asit bakterileri insan bağırsağında bulduklarından ve uzun yıllardır güvenle fermente gıdalarda kullanıldıklarından potansiyel probiyotik ürünlerin geliştirilmesinde aday olabilirler. Bu çalışmada, bir *in vitro* sindirim sistemi modeli kullanılarak, *L. plantarum* T129 suşunun canlılık yüzdesi belirlenmiştir. Çalışmada TIM-1, TNO *in vitro* Model 1 sistemi kullanılmıştır. TIM-1; insan sindirim sisteminin mide, onikiparmak bağırsağı, boş bağırsak ve kıvrım bağırsağı temsil eden dört bölmeden oluşan, bilgisayar kontrollü ve valide edilmiş *in vitro* bir modeldir. İki tekrarlı gerçekleştirilen çalışmada, T129 suşunun canlılığı %59.7±10.6 olarak tespit edilmiştir. Bu canlılık yüzdesi, yoğurt bakterilerinden yüksek ve *Bifidobacterium bifidum* ve *Lactobacillus acidophilus* gibi probiyotik bakteriler ile karşılaştırılabilir düzeydedir. Buna göre sofralık zeytinler, doğal probiyotik laktik asit bakterileri içeren süt ürünleri dışında bir alternatif probiyotik ürün olabilecektir.

Anahtar kelimeler: Sofralık zeytin, probiyotik, laktik asit bakterisi, *Lactobacillus plantarum*, TIM-1.

Abstract

Turkey is the third biggest table olive producing country. A lactic acid bacterium strain, *Lactobacillus plantarum* T129 was isolated from olive processing brine in Marmara Region of Turkey. Probiotics are defined as live microorganisms which confer a health benefit on the host when administered at adequate amounts. Lactic acid bacteria are potential candidates for probiotic products, due to their natural presence in human colon and long and safe use in food fermentations. In this study, the per cent viability (survival) of the *L. plantarum* T129 strain was determined by using an *in vitro* digestive system model. TIM-1 that was used in this study stands for TNO *in vitro* Model 1. TIM-1 is a computer controlled validated dynamic model that mimics the gastric, duodenal, jejunal and ileal compartments of human digestive system. The survival of T129 was determined as %59.7±10.6 in duplicate experiments. This survival is higher than those of common yoghurt bacteria and comparable with the survival of probiotic bacteria such as *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*. Thus, table olives could be a natural non-dairy alternative source of potential probiotic lactic acid bacteria.

Keywords: Table olive, probiotics, lactic acid bacteria, *Lactobacillus plantarum*, TIM-1

Giriş

Probiyotikler uygun miktarda uygulandığında konakçı organizmaya sağlık faydaları sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadırlar. (FAO/WHO 2002). Laktik asit bakterileri (LAB), uzun yıllardır gıda fermentasyonlarında kullanılmaları ve insan bağırsak mikrobiyotasının doğal bir bileşeni olmaları nedeni ile probiyotik ürünlerin geliştirilmesinde büyük bir etki potansiyeline sahiptir (Lebeer ve ark. 2008).

Probiyotik bakterilerin mide ve ince bağırsaktan geçişlerinde canlı kalmaları hayati önem taşımaktadır. Probiyotiklerin canlı kalma yüzdelerinin tür ve suşa bağlı değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle her potansiyel probiyotik suşun canlı kalma özelliğinin belirlenmesi gerekmektedir.

TNO (Hollanda Bilimsel Uygulamalı Araştırmalar Merkezi) mide ve ince bağırsak *in vitro* modeli -1 (TIM-1) gibi mekanistik olarak valide edilmiş modellerin kullanımı probiyotik organizmaların canlılığını belirlemede faydalıdır. TIM-1 bilgisayar kontrolü ile insan sindirim sistemini dinamik bir biçimde doğru olarak taklit etmektedir (Minekus ve ark., 1995). Sistemdeki dört bölme mide, onikiparmak bağırsağı, boş bağırsak ve kıvrım bağırsağı temsil etmektedir. Sistemde vücut sıcaklığı, peristaltik hareket, besin boşaltım hızı ve her bölüme özgü spesifik pH, enzim ve elektrolit seviyeleri gerçek fizyolojik koşullara mümkün olduğunca benzer bir biçimde taklit edilmektedir. TIM-1 sistemi probiyotiklerin canlı kalma yüzdeleri dahil pek çok *in vivo* çalışma ile valide edilmiştir (Marteau ve ark. 1997). TIM-1 pek çok potansiyel probiyotiğin mide ve ince bağırsaktan geçişinde canlı kalma yüzdelerinin belirlenmesinde ve canlılığı sınırlayıcı faktörlerin ortaya konulmasında kullanılmıştır (Martinez ve ark. 2011).

Zeytin (*Olea europaea L.*) *Oleacea* familyasının bir üyesidir. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ni de içine alan Yukarı Mezopotamya ve Güney Ön Asya'nın, zeytinin anavatanı olduğu düşünülmektedir. Dünyadaki tüm zeytin ağaçlarının %98'i Akdeniz Bölgesi'nde yer almaktadır (Anon, 2010). Zeytin meyvesi, acı lezzette olan polifenoller, özellikle de

oleuropein bileşeni nedeni ile dalından koparıldığı hali ile tüketilememektedir. Zeytinin tüketilebilmesi için acılığı çeşitli yöntemler ile giderilmektedir. Acılık zeytinyağı elde edilmesi sırasında zeytinlerin ezilmesi işlemi ile sulu faza (zeytin kara suyu) alınarak kısmen giderilmekte veya bütün zeytin meyvesinin acılığı giderilerek sofralık zeytin elde edilmektedir (Papoff ve ark. 1996; Rivas ve ark. 2000).

Türkiye, sofralık zeytin üretiminde Avrupa Birliği'nin ardından Mısır ile yarışarak değişen yıllık üretimine göre dünyada 2. veya 3. sırada yer almaktadır (IOOC, 2011a; IOOC, 2011b). Türkiye'de üretilen zeytinin önemli bir bölümü sofralık zeytin için ayrılmaktadır. 2009-2010 yılları arasında üretilen 1227000 ton zeytinin 409000 tonu sofralık zeytine, 818000 tonu ise yağlığa ayrılmıştır (Anon, 2010).

Bu çalışmanın amacı, Marmara Bölgesi'ndeki zeytin işleme havuzlarının salamuralarından izole edilmiş olan ve ön taramalar sonucu probiyotik özellik potansiyeli gösteren *L. plantarum* T129 suşunun, valide edilmiş bir *in vitro* sindirim sistemi olan TIM-1'deki canlı kalma yüzdesinin belirlenmesidir.

Materyal ve Metot

Materyal

Çalışmada kullanılan *L. plantarum* T129 suşu, TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Gıda Enstitüsü tarafından Marmara Bölgesi'ndeki bir zeytin işleme suyundan izole edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıktadır.

Metot

Dinamik gastrointestinal model (TIM-1)

TIM-1 sistemi mide, onikiparmak bağırsağı, boş bağırsak ve kıvrım bağırsağı temsil eden dört bölümden oluşmaktadır. Her bölüm iki cam bölmeden oluşmaktadır. Bu cam bölmeler esnek bir duvarı kaplamakta ve bu esnek duvar sayesinde peristaltik hareket taklit edilebilmektedir. Bütün bölümler vücut sıcaklığı olan 37°C'de tutulmaktadır. Bölümlere verilen gastrik asit, gastrik enzim, pankreatik enzim bikarbonat ve safra tuzları fizyo-

lojik miktarlara uygundur. Boş bağırsak ve kıvrım bağırsaktaki emilim, diyaliz sistemi ile sağlanmaktadır. Bölümlerdeki kimüs (sindirim sisteminde yer alan ögün, enzim ve salgı karışımı) geçiş hızları eksponansiyel kuvvet serileri ile *in vivo* verilere göre ayarlanmıştır (Minekus ve ark., 1995; Marteau ve ark., 1997).

Deneyel Tasarım

Bakteri suşunun sindirim sisteminde canlı kalma yüzdesi, altı saatlik bir deney ile belirlenmiştir. Deneyde her saat, bir saat boyunca kıvrım bağırsak çıkışından buz üzerindeki kapta toplanan örnekler alınmış ve iki saat içinde bu örneklerin uygun dilisyonlarından 100er µl yayma plak yöntemi ile ekilmiştir. Altı saat sonunda midede kalan örnek ve bütün ince bağırsakta kalan örnek iki ayrı kaba toplanmıştır. Alınmış olan mide ve ince bağırsak örnekleri de alınmalarını takip eden iki saat içinde yayma plak yöntemi ile ekilmiştir. Deneyler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Deney öncesi model bir dekontaminasyon protokolüne göre dezenfekte edilmiştir. Bu protokolün ilk aşamasında sistem sabun ve fırça yardımı ile yıkanmış ve bütün kirler uzaklaştırılmıştır. Kirlerin uzaklaştırılmasının ardından sistem su ile durulanmıştır. Durulanmış olan sistem 30 dakika yaklaşık %0.5 lik hipoklorit çözeltisinde bekletilmiş, ardından 0.5M HCl ile durulanmıştır. 0.5M HCl ile durulanan sistem, son olarak hacmen %70'lik etanol çözeltisi ile durulanmış ve kurumaya bırakılmıştır. Sistem çalıştırılmadan önce bütün tüpler hacmen %30 etanol ile durulanmış ve sistemdeki kapak ve pH elektrotları hacmen %70'lik etanolden geçirilmiştir.

Bakteri kültürleri 5ml steril fizyolojik peptonlu suda çözünmüş 150ml yarım yağlı süt, 70ml steril gastrik elektrolit çözeltisi ve 5ml'lik gastrik enzim çözeltisi ile karıştırılarak sisteme beslenecek ögün elde edilmiştir. Öğünden örnek alımından sonra öğünün pH'sı HCl ile 5.5'e ayarlanarak modele beslenmiştir (Minekus ve ark. 1995). Midenin pH'ı fizyolojik koşullara uygun olarak 2M HCl ile bilgisayar kontrollü olarak sağlanmıştır. Mide pH'sı deney başlangıcından 30 dakika sonra 4.2, 60 da-

kika sonra 2.9 ve 120 dakika sonra ise 1.7 olacak şekilde ayarlanmıştır. Onikiparmak bağırsağı, boş bağırsak ve kıvrım bağırsağın pH değerleri ise bikarbonat çözeltisi ilavesi ile sırasıyla 6.5, 6.8 ve 7.2'de sabit tutulmuştur.

Kimüs'ün modelden geçişi bölümler arası valf sistemi ile düzenlenmiştir. Mide boşaltım hızının yarı zamanı 40 dakika, bağırsak boşaltımının yarı zamanı ise 160 dakika olarak uygulanmıştır. Bölümlere verilen enzim ve salgılar, Minekus ve ark. (1995) tarafından açıklandığı gibidir. Ancak onikiparmak bağırsağına verilen safra tuzu konsantrasyonu ilk saat %4'lük, sonraki 5 saat ise %2'lik olarak düzenlenmiştir.

Örnekleme ve mikrobiyolojik metotlar

-80° C de depolanan 100µl stok kültür deney öncesinde 10 ml MRS besiyerine (De Man ve ark., 1960) aşılanmış ve 16 saat 37°C'de anaerobik olarak inkübe edilmiştir. Geliştirilen kültür santrifüj ile çöktürülmüş ve 5ml steril fizyolojik peptonlu suda çözündürülmüştür. Bakteri solüsyonu daha önce tanımlanan şekilde besine ilave edilmiştir. Kültürün besine ilavesinin ardından mikrobiyolojik sayım için 1ml örnek alınmış ve uygun dilisyonlarından 100er µl'si yayma plak yöntemi ile ekilmiştir.

Modelden alınan bütün örnekler eriyen buzun içinde toplanmış ve 60 dakika içinde Rogosa agarlı katı besiyerine ekilmiştir. Ekilen plaklar 37°C'de 48 saat boyunca anaerobik olarak inkübe edildikten sonra koloniler sayılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite

Enterobakterlere karşı antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için T129 suşu ve pozitif kontrol olarak nisin ürettiği bilinen *Lactococcus lactis* TTC 03.0262 suşu 3µl'lik damlacıklar halinde MRS veya M17 (*L.lactis* suşu için) agarlı katı besiyerine ekilmiştir. 37°C'de anaerobik inkübasyon sonrası oluşan koloniler kloroform ile inaktive edildikten sonra, üzerlerine indikatör organizmalar ve negatif kontrol olarak T129 suşunun kendisini içeren yumuşak MRS agar (%0.75 agar içeren) dökülmüş ve

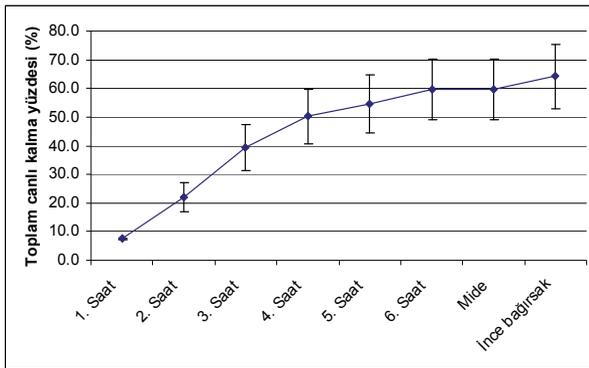
inkübasyona bırakılmıştır. 37°C’de anaerobik koşullarda 16 saat gece boyu inkübasyon sonrası oluşan inhibisyon zonlarının çapı ölçülerek antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir.

Hesaplama ve istatistik

Bakterilerin canlı kalma yüzdeleri, sistemden çıkan canlı bakteri sayısının, sisteme beslenen öğündeki canlı bakteri sayısına oranlanması ile, koloni oluşturan birim (kob) bazında belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

TIM-1 modeli ile yapılan çalışma sonrası kullanılan sıvıların miktarı ölçülerek sisteme verilen sıvı miktarları tespit edilmiştir. Bulunan değer ile bilgisayarda okunan değerler bütün denemelerde uyumlu bulunmuş ve sistemin, bilgisayar kontrolü altında ilgili bölümlere gerekli çözeltileri fizyolojik koşullarda verdiği teyit edilmiştir. Bölümlerin pH’sı deney boyunca takip edilmiş ve fizyolojik koşullara uygun olarak belirlenen grafiği takip ettiği görülmüştür. Deney esnasında alınan saatlik örnekler ölçülerek sistemde öngörülen miktarlar ile karşılaştırılmış ve uyumlu oldukları tespit edilmiştir. Bu ölçümlerin uyumlu olması bilgisayar programına verilen geçiş hızlarının sistem tarafından doğru olarak uygulandığını belirlemiştir.



Şekil 1. *L. plantarum* T129 suşunun TIM-1 sistemindeki canlı kalma yüzdesi

TÜBİTAK *L. plantarum* T129 suşunun canlılığı %59.7±10.6 olarak belirlenmiştir. TÜBİTAK suşunun canlılığı Şekil 1’de verilmiştir. Suşun canlılığı fizyolojik koşullarda 240 dakikadan sonra düşüş göstermiştir. Bu düşüş daha önce yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir. (Marteau ve ark.

1997). Ancak toplam canlı kalma oranı deneyin sonuna kadar artmaya devam etmiştir. Altı saatlik deney sonunda mide ve incebağırsak bölümlerinde kalan toplam bakteri sayısı toplam sayının %4.6±0.6’sı olmuştur. TIM-1 sisteminin *in vivo* canlı kalma yüzdeleri ile benzer canlılık değerleri verdiği daha önce yapılan karşılaştırmalı çalışmalar ile gösterilmiştir (Marteau ve ark. 1997). Farklı besin bileşimi ve mide boşaltım zamanları kullanılmış olsa da bu çalışmada zeytinden izole edilen *L. plantarum* T129 suşunun Marteau ve arkadaşlarının (1997) çalıştığı yoğurt bakterilerinden daha yüksek canlılığa sahip olduğu kesin olarak tespit edilmiştir. Suşun probiyotik olarak yoğurda ilave edilen *Bifidobacterium bifidum* ve *Lactobacillus acidophilus* suşları ile benzer canlı kalma oranlarına sahip olduğu tespit edilmiştir. (Marteau ve ark.1997)

Yayınlanmamış bir çalışmada iki *L. plantarum* suşunun aynı koşullardaki canlılıkları belirlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda probiyotik olduğu bilinen bir *L. plantarum* suşunun canlı kalma oranı %61.3, bitkiden izole edilen bir *L. plantarum* suşunun canlılığı ise %32.1 olmuştur. *L. plantarum* T129 suşu, aynı koşullarda TIM-1 *in vitro* modelinde probiyotik etkisi bilinen bir *L. plantarum* suşuna yakın canlılık göstermiştir (TNO’dan alınan kişisel bilgi).

L. plantarum T129 suşunun antimikrobiyal aktivitesi de çalışılmıştır. *L. plantarum* T129 suşunun enterokoklara karşı antimikrobiyal aktivitesi Tablo 1’de verilmiştir. Buna göre, *L. plantarum* T129 suşunun test edilen enterokok suşlarından beşine karşı pozitif kontrolden daha etkili, diğer beş enterokok suşa karşı ise kontrole göre daha az etkili olduğu belirlenmiştir. Suşlar incelendiğinde, T129 suşunun antimikrobiyal aktivitesinin suş bazlı olduğu tespit edilmiştir.

L. plantarum türü görece fazla gene sahiptir ve pek çok farklı çevreye adapte olabileme yeteneğine sahiptir (de Vries ve ark. 2006). *L. plantarum* içeren sağlık ürünleri genellikle kapsül veya içecek olarak pazarlansa da pek çok fermente bitkisel ürün, süt ve et ürünlerinde bu bakterilere rastlamak mümkündür (de Vries ve ark. 2006). Bu özellik; *L. plantarum*’un zeytin dâhil pek çok fermente ürüne, ürün özellikleri değiştirilmeden kolayca adapte edilebilmesine yardımcı olacaktır.

Tablo 1. *L.plantarum* T129 suşunun enterokoklara karşı antimikrobiyal aktivitesi

Suş adı	Tür adı	TTC03.0262	T129
		<i>Lactococcus lactis</i> (pozitif kontrol), inhibisyon zon çapı (mm)	<i>Lactobacillus plantarum</i> inhibisyon zon çapı(mm)
TTC 98.0259	<i>Enterococcus faecalis</i>	3	5
TTC 99.0138	<i>Enterococcus hirae</i>	1.5	6
TTC 00.0173	<i>Enterococcus faecalis</i>	4	5
TTC 00.0251	<i>Enterococcus faecium</i>	3	0
TTC 00.0395	<i>Enterococcus faecalis</i>	5	2
TTC 00.0551	<i>Enterococcus faecium</i>	7	0
TTC 00.0632	<i>Enterococcus hirae</i>	2	0
2008.282	<i>Enterococcus faecalis</i>	1.5	10
2010.83	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	6.5	0
2013.074	<i>Enterococcus faecium</i>	1.5	6
TTC 03.0262	<i>Lactococcus lactis</i>	0	-
T129	<i>L. plantarum</i> T129	-	0

L. plantarum'un uzun yıllardır insanlar tarafından güvenle tüketildiğine dair araştırmalar mevcuttur: *L. plantarum* 299v suşu ile Sprague-Dawley sıçanları üzerine yapılan bir çalışmada, damar yolu ile kanlarına *L. plantarum* 299v suşu enjekte edilen sıçanların kanlarında ve kalplerinde 96 saat sonra hiçbir *L. plantarum* hücresine rastlanmamıştır. Bu sonuç, *L. plantarum*'un bağırsak bariyerini geçse bile patojenik bir etki göstermeyeceğini göstermektedir (Adawi ve ark., 2002). *L.plantarum*'un farklı suşları yetişkin sağlıklı bireylerde farklı sağlık faydaları ile ilişkilendirilmiştir. Test edilen suşlar; dışkıdaki kısa zincirli yağ asitlerinde yükselme, fekal enterobakter sayımlarında altı kata kadar azalma ve LDL kolesterol ile fibrinojen miktarında düşüş ile ilişkilendirilmişlerdir (Johansson ve ark. 1998; Kingamkono ve ark. 1999, Naruszewicz ve ark. 2002).

L. plantarum T129 suşunun enterokok sayısını düşürebilme potansiyeli *in vitro* olarak gösterilmiş olup, *in vivo* çalışmalar ile bu etkinin teyit edilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- Adawi, D., Molin, G., Ahrné, S., & Jeppsson, B. (2002). Safety of the probiotic strain *Lactobacillus plantarum* DSM 9843 (= strain 299v) in an endocarditis animal model. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 14 (1), 50-53.
- Anonim, 2010. Zeytinyağı ve sofralık zeytin raporu, Sanayi ve Ticaret Bakanlığı.
- De Man, J.D., Rogosa, M., Sharpe, M.E. (1960). A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *Journal of Applied Bacteriology*, 23, 130-135.

Sonuç

Yapılan çalışmalarda farklı *L. plantarum* suşları farklı sağlık faydaları ile ilişkilendirilmiş ve bu çalışmada, *L. plantarum* T129 suşu TIM-1 *in vitro* sindirim sisteminde yüksek canlılık göstermiştir. Ancak *L. plantarum* T129 suşunun probiyotik etkisinin plasebo kontrollü çift kör çapraz klinik çalışmalar ile de gösterilmesi gerekmektedir. Bu suşun tuz direncinin artırılması ve sindirim sisteminden geçişinin iyileştirilmesi için tersine metabolik mühendislik çalışmaları da halen sürdürülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma, İstanbul Teknik Üniversitesi Doktora Tezlerini Destekleme Programı (proje no: 34418, yürütücü: Z.P. Çakar, doktora öğrencisi: T. Öztürk) ve AB FP7 NutraHealth projesi, (grant no. 316012, FP7/ REGPOT-2012-2013-1, yürütücü: Cesarettin Alaşalvar) tarafından desteklenmiştir.

- De Vries, M. C., Vaughan, E. E., Kleerebezem, M., & de Vos, W. M. (2006). *Lactobacillus plantarum* survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, 16 (9), 1018-1028.
- FAO/WHO (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food: Joint FAO/WHO Working Group meeting, London Ontario, Canada, 30 April-1 May 2002.
- International Olive Oil Council, 2011a. Olive oils production.
- International Olive Oil Council, 2011b. Table olives production.
- Johansson, M. L., Nobaek, S., Berggren, A., Nyman, M., Björck, I., Ahrne, S., & Molin, G. (1998). Survival of *Lactobacillus plantarum* DSM 9843 (299v), and effect on the short-chain fatty acid content of faeces after ingestion of a rose-hip drink with fermented oats. *International Journal of Food Microbiology*, 42 (1), 29-38.
- Kingamkono, R., Sjögren, E., & Svanberg, U. (1999). Enteropathogenic bacteria in faecal swabs of young children fed on lactic acid-fermented cereal gruels. *Epidemiology and Infection*, 122 (01), 23-32.
- Lebeer, S., Claes, I. J., Verhoeven, T. L., Shen, C., Lambrichts, I., Ceuppens, J. L., & De Keersmaecker, S. C. (2008). Impact of luxS and suppressor mutations on the gastrointestinal transit of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (15), 4711-4718.
- Marteau, P., Minekus, M., Havenaar, R., & Huis In't Veld, J. H. J. (1997). Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile. *Journal of Dairy Science*, 80 (6), 1031-1037.
- Martinez, R.C., Aynaou, A.E., Albrecht, S., Schols, H.A., De Martinis, E.C., Zoetendal, E.G., Venema, K., Saad, S.M., and Smidt, H. (2011). *In vitro* evaluation of gastrointestinal survival of *Lactobacillus amylovorus* DSM 16698 alone and combined with galactooligosaccharides, milk and/or *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12. *International Journal of Food Microbiology* 149, 152-158.
- Minekus, M., Marteau, P., Havenaar, R., & Huis In't Veld, J. H. J. (1995). A multicompartmental dynamic computer-controlled model simulating the stomach and small intestine. *ATLA- Alternatives to Laboratory Animals*, 23 (2), 197-209.
- Naruszewicz, M., Johansson, M. L., Zapolska-Downar, D., & Bukowska, H. (2002). Effect of *Lactobacillus plantarum* 299v on cardiovascular disease risk factors in smokers. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76 (6), 1249-1255.
- Papoff, C. M., Agabbio, M., Vodret, A., Farris, G. A., (1996). Influence of some biotechnological combinations on the sensory quality of manna green table olives. *Industria Alimentare*. 35: 375-381.
- Rivas, C. S., Espin, J. C., Wichers, H. J., (2000). Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80:1013-1023.

İLETİŞİM

Tarık Öztürk

İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi,

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Maslak, İstanbul, Türkiye

e-mail: tarik.ozturk@tubitak.gov.tr

Bazı Zeytin Çeşitlerinde Don Toleransının Dönemsel Değişimi

Seasonal Variation of Freezing Tolerance in Some Olive Cultivars

Nurengin METE*¹, Mustafa ŞAHİN¹, Öznur ÇETİN¹, Mehmet HAKAN¹,
Uğur GÜLOĞLU¹, Hülya KAYA¹, Nurcan ULUÇAY¹

¹Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bornova / İzmir

Geliş tarihi: 18.01.2016

Kabul tarihi: 09.02.2016

Özet

Çalışma ile Türkiye Zeytin Arazi Gen Bankası'nda (38°27'49.60"K- 27°22'33.29"D) bulunan Ayvalık, Domat, Çilli, Erkence, Gemlik, Memeli, Memecik, Otur, Eşek zeytini (Ödemiş) ve Uslu zeytin çeşitlerinin farklı dönemlerdeki don toleransları belirlenmiştir. İyon sızıntısı yöntemiyle Kasım, Ocak ve Mart aylarında çeşitlere ait yaprak örneklerinde -2, -5, -8, -11, -14, -17 ve -20 °C'de yapay don testleri yapılmıştır. Çalışma neticesinde, kontrol grubuna göre tüm dönemler için -2 °C ve -5 °C arasında bir farklılık görülmemiştir. Genellikle düşük sıcaklık derecelerine ilk tepkiyi tüm dönemlerde Uslu çeşidi vermiş ve her üç dönemde de Uslu çeşidi don toleransı en az olan çeşit olarak saptanmıştır. Memeli ve Otur çeşitleri ise don mukavemeti en yüksek çeşitler olarak belirlenmişlerdir. Çeşitlerin don mukavemetleri Ocak ayında önemli bir artış göstermiş ancak bu durum tüm çeşitlerde aynı oranda belirlenmemiştir. Sonuç olarak zeytinde don toleransının gerek genetik olarak gerekse mevsimsel olarak önemli değişkenlikler gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Zeytin, don toleransı, çeşit, iyon sızıntısı

Abstract

In the study, freezing tolerance in different periods is identified in Ayvalık, Domat, Cilli, Erkence, Gemlik, Memeli, Memecik, Otur, Eşek zeytini and Uslu cultivars from Turkish Olive GenBank Resources (38°27'49.60"K- 27°22'33.29"D). In this context, leaf samples taken in November, January and March were used to artificially freeze-test at temperatures of -2, -5, -8, -11, -14, -17 and -20 °C using ion leakage method. No significant difference was determined between tests at -2 °C and -5 °C in all mentioned months compared to the control group. Uslu cultivar was generally the first to respond to lower temperatures and it also had least freezing tolerance among all cultivars for all months mentioned. Memeli and Otur cultivars were determined to be the most freezing tolerant cultivars. Despite not being homogenous, freezing tolerance of cultivars was significantly higher in January. In conclusion, it is determined that freezing tolerance in olive varies greatly among cultivars and seasons.

Keywords: Olive, freezing tolerance, cultivar, ion leakage

Giriş

Akdeniz Havzası'nın 30° - 45° enlemleri arası ekonomik zeytin üretim kuşağı olarak kabul edilmektedir (Bongi ve Palliotti, 1994; Macuso, 2000). Bu kuşak içerisinde zeytin üretim ve kalitesini kısıtla-

yan en önemli abiyotik stres faktörlerinden birisi düşük sıcaklıklardır (Yang ve ark. 2005; Aybar ve ark. 2015). Zeytin ağacı diğer subtropik bitki türleriyle kıyaslandığında don toleransı daha iyi olan bir bitki türüdür (Larcher, 1987). Ancak,

sıcaklığın -7°C 'den daha düşük olması durumunda süreye ve sıcaklık derecesine bağılı olarak zeytin ağaçlarında yaprak kayıpları, ince dal kurumaları meydana gelebilmekte buda ciddi verim kayıplarına neden olmaktadır (Vitagliano ve Sebastiani, 2002). Sıcaklığın -12°C değerlerine gelmesi halinde ise bitkilerin tamamen ölebileceği (Larcher, 1970) belirtilmekle birlikte bazı çeşitlerin -12°C ile -18°C 'ye kadar dona tolerans gösterebileceği ifade edilmiştir (Fiorina ve Mancuso, 2000; De Veras Cantero, 2001).

Türkiye'de Ege, Marmara, Akdeniz, Güneydoğu Anadolu ve Karadeniz bölgelerinde zeytin yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bu bölgelerde bulunan zeytin ağaçları bazı yıllar iklimsel faktörlerden oldukça fazla etkilenmektedir. Nitekim 1983, 1985 ve 1987 yıllarında havanın ani bir şekilde soğuması ile özellikle Marmara bölgesinde birçok zeytin ağacının çok şiddetli don zararına maruz kaldığı rapor edilmiştir (Usanmaz ve ark. 1988). Benzer bir olay 2010 yılında Bursa'nın Mudanya ilçesinde meydana gelmiş ve düşük sıcaklıklar nedeniyle birçok zeytin ağacı zarar görmüştür (Şahin ve Güloğlu, 2011). Aynı şekilde 2015 yılında Ocak ayında meydana gelen düşük sıcaklıkların yaprak dökümleri ve ince dal kurumalarına neden olduğu görülmektedir. Bu gibi olumsuz don zararları dönem dönem yaşanmakta ve zararın düzeyine göre; yaprak dökümleri, tomurcuk ölümleri, dal kurumaları, gövde kabuğunun kuruması ya da çatlaması ve daha ileri aşamada da ağaç ölümlerine kadar gidebilmektedir.

Zeytin ağacında dona dayanım hakkındaki mevcut bilgiler daha çok soğuk zararından sonraki bahçe gözlemlerine dayanmaktadır. Bununla birlikte, zeytin çeşitlerinin düşük sıcaklıklara toleransını belirlemeye yönelik laboratuvar araştırmalarını içeren çeşitli bilimsel çalışmalar da yapılmıştır. Bunların bazılarında, Bartolozzi ve Fontanazza (1999), Bouteillan (LT50: -18.2°C) ve Nostrale di Rigali (LT50: -18°C) zeytin çeşitlerinin dona dayanıklı, Morcona (LT50: -11.4°C) ve Borsciona (LT50: -12.2°C) çeşitlerinin ise hassas olduğunu belirtmişlerdir. Nostrale di Rigali, Frantoio, Leccino ve Moraglio zeytin çeşitlerinde kış ayları boyunca ortalama LT50 yapraklar için -12°C , tomurcuklar için -13°C ve sürgünler için -18°C olarak tespit

edilmiştir (Antognozzi ve ark. 1990). Roghani, Zard, Mission ve Kroneiki zeytin çeşitlerinin Aralık ve Ekim dönemlerinde dona mukavemetleri belirlenmiştir. Çeşitler arasında en mukavim çeşidin 'Zard' olduğu saptanmıştır (Soleimani ve ark. 2004). Asl Moshtaghi ve ark. (2009) 7 farklı zeytin çeşidinin dona mukavemetini araştırmışlar ve Delghan çeşidini dona en toleranslı çeşit olarak tespit etmişlerdir. Sütçü ve ark. (1994) tarafından laboratuvar ortamında suni dondurma testleriyle bazı çeşitlerin dona dayanım durumları araştırılmıştır. Çalışma neticesinde araştırmacılar incelenen çeşitler arasında önemli bir farkın olmadığını ancak Domat zeytin çeşidinin soğuklara daha mukavim olduğunu belirtmişlerdir. Cansev ve ark. (2006, 2007, 2008) 4'ü yerli olmak üzere toplam 8 zeytin çeşidinin durgun ve aktif dönemlerde don toleranslarını belirlemişlerdir. Araştırma neticesinde don toleransı en iyi olan çeşidin Domat olduğu Gemlik, Uslu ve Samanlı çeşitlerinin ise orta derecede dayanıklı olduğu belirtilmiştir.

Dona mukavemet bitkinin genetik yapısı ile çevresel faktörlerden etkilenmekte ve bu sebeple değişkenlik göstermektedir (Beck ve ark. 2004). Ayrıca ağacın yaşı, sağlık durumu, gelişme dönemi ve beslenme durumu gibi faktörlerinde don zararında etki olduğu ifade edilmiştir (Graniti ve ark. 2011). Bu nedenle yapay don testlerinin yapılacağı örneklerin aynı şartlarda yetiştirilen ağaçlardan homojen olarak alınması sonuçların güvenilirliği bakımından oldukça önemlidir.

Bu çalışma don toleransı yüksek çeşitlerin belirlenmesi ve soğuk zararlarının meydana gelebileceği bölgeler için uygun çeşitlerin saptanması amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada iyon sızıntısı yöntemiyle 10 farklı Türkiye zeytin çeşidinin Kasım, Ocak ve Mart dönemlerinde ki don toleransları belirlenmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışma materyali olarak Türkiye Zeytin Arazi Gen Bankasında ($38^{\circ}27'49.60''\text{K}$ - $27^{\circ}22'33.29''\text{D}$) bulunan 45 yaşındaki Ayvalık, Domat, Çilli, Erkence, Gemlik, Memeli, Memecik, Otur, Eşek zeytini (Ödemiş) ve Uslu zeytin çeşitlerine ait yaprak örnekleri kullanılmıştır.

Çeşitlerin don toleransları hücre membran zararlanmasının bir göstergesi olan iyon sızıntısının (elektriksel iletkenliğin) ölçülmesiyle belirlenmiştir (Arora ve ark. 1992; Gülen ve ark. 2006).

Bitki materyalinin alınması: İncelenecek çeşitlerin farklı dönemlerde dona mukavemetini ölçmek amacıyla 3 dönemde örnek alımı gerçekleştirilmiştir. Bu dönemler; soğukların başladığı Ekim, yılın en soğuk aylarından olan Ocak ve somaklanmanın başladığı Mart ayı olarak belirlenmiştir. Örnekler bu ayların 2. haftasında alınmıştır.

Yaprak örnekleri aynı çeşide ait üç ağacın Kuzey yönlerinde alınmıştır. Örnek alımı için bir yıllık sürgünlerin (30-40 cm) orta kesimlerinden yapraklar toplanmış, bir disk yardımıyla 6 mm çapında kesitler elde edilmiş ve harmanlanmıştır.

Düşük sıcaklık (don) testleri: Don testlerinin uygulanmasında 45 lt hazneli paslanmaz çelikten imal edilmiş olan Soğutmalı Su Banyosu cihazı kullanılmıştır (JULABO marka F38-ME). Sıcaklıklar +4 °C'den itibaren düşürülmeye başlanmış olup -2, -5, -8, -11, -14, -17 ve -20 °C'lerde düşük sıcaklık testleri gerçekleştirilmiştir. Don testleri her sıcaklık derecesi için 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmış ve her tekerrürde 3 yaprak diski kullanılmıştır. Deneme esnasında sıcaklıklar 2 °C/s hızla kademeli olarak düşürülmüştür. Testlerin yapılacağı sıcaklık derecesine ulaşıldığında, örnekler bu sıcaklık derecesinde 2 saat süreyle bekletildikten sonra soğuk su banyosundan çıkarılmış ve buz içerisinde kademeli çözülmeye bırakılmışlardır.

Hücrel Membran Zararının Belirlenmesi: Hücre membran zararlanmasının ölçümü için kontrol grubu ve düşük sıcaklık uygulamalarını tamamlayan yaprak örneklerini içeren tüplerin üzerine 10 ml saf su ilave edilmiştir. Hazırlanan örnekler 275 rpm çalkalayıcıda oda sıcaklığında (24±1 °C) 4 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyonun tamamlanmasından sonra örneklerin konduktivite-metre (Selecta- CD-2005 Conductivity Meter) ile ilk ölçümleri yapılmıştır. Ardından, hücrelerin tamamen ölmesi için örneklerde 20 dakika süreyle otoklavlama (121 °C'de 1 atm. basınç) yapıldıktan sonra oda sıcaklığında ikinci ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Alınan veriler neticesinde hücrel zararın belirlenmesi amacıyla gerekli hesaplamalar Arora ve ark. (1992) göre yapılmış ve % iyon sızıntısı: (ilk ölçüm/son ölçüm) X 100 şeklinde hesaplanmış sonrasında ise iyon sızıntısı oranları (%)' kullanılarak membranlarda oluşan zararlanma miktarı % zararlanma: $[(\% L(t) - \% L(c)) / (100 - \% L(c))] \times 100$ belirlenmiştir.

L(t): Uygulama grubunun iyon sızıntısı oranı (%)

L(c): Kontrol grubunun iyon sızıntısı oranı (%)

Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş ve gruplandırılmalar Student's t testine göre yapılmıştır.

Bulgular

Yapay don testlerine ilişkin tüm sıcaklık derecelerindeki zararlanma oranları ve çeşitlerin gruplandırılmaları Çizelge 1, Çizelge 2'de verilmiştir. Genel olarak bakıldığında tüm çeşitlerde en fazla zararlanma soğuğa alışmanın tam olarak gerçekleşmediği Kasım ayında meydana gelmiştir. En az zararlanma oranları ise çeşitlere göre değişmekle birlikte Ocak ayında tespit edilmiştir. Vejetasyonun başladığı Mart ayında ise iki ay arasında bir soğuk zararı görülmüştür. Üç dönemde de istatistiksel olarak -2 °C ve -5 °C arasında bir farklılık tespit edilmemiştir. Ayrıca, Kasım ayında da -17 °C ve -20 °C arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmamıştır.

Kasım ayında don toleransı yüksek olan çeşitler; Memeli ve Otur, Ocakta; Memeli, Otur, Eşek zeytini ve Gemlik; Mart ayında ise; Gemlik, Otur, Ayvalık ve Memeli şeklinde belirlenmiştir. Memeli çeşidi Kasım ayında -11 °C'de %30.86, -14 °C'de ise %48.88 oranı ile en az zararlanma gösteren çeşit olarak saptanmıştır. Aynı çeşitte Ocak ayındaki zararlanma oranı -11 °C'de %17.34, -14 °C'de %27.17 ve -17 °C'de %28.38'e düşmüştür. Bu değerler Ocak ayı için tüm çeşitler arasında en düşük zararlanma oranı olarak belirlenmiştir. Ocak ayında Otur çeşidinde -11 °C'de %20.07, -14 °C'de %26.90 ve -17 °C'de %38.47, Eşek zeytini çeşidinde 11 °C'de %26.39, -14 °C'de %30.00 ve -17 °C'de %37.50, Gemlik çeşidinde 11 °C'de %19.93, -14 °C'de %34.67 ve -17 °C'de %38.65 zararlanma oranlarıyla benzer sonuçlara ulaşılmıştır.

Çizelge 1. Zeytin çeşitlerinin don zararına göre gruplandırılması.

Kasım (2014)*		Ocak (2015)*		Mart (2015)*		3 Dönem Ortalaması*	
Çeşitler	Ortalama % Zararlanma	Çeşitler	Ortalama % Zararlanma	Çeşitler	Ortalama % Zararlanma	Çeşitler	Ortalama % Zararlanma
Uslu	50.53 a	Uslu	32.34 a	Uslu	40.11 a	Uslu	40.99 a
Eşek Z.	46.84 ab	Memecik	25.12 b	Eşek Z.	39.82 a	Eşek Z.	35.55 b
Çilli	43.95 bc	Ayvalık	24.26 bc	Memecik	34.75 b	Memecik	33.77 bc
Gemlik	43.31 bc	Domat	23.77 bc	Erkence	33.38 bc	Çilli	33.17 bc
Ayvalık	41.85 cd	Erkence	23.02 bcd	Çilli	32.83 bc	Erkence	32.41 bc
Memecik	41.44 cd	Çilli	22.73 bcd	Domat	30.72 cd	Ayvalık	30.90 c
Erkence	40.83 cd	Gemlik	21.09 cde	Memeli	27.76 de	Domat	30.71 cd
Domat	37.64 de	Eşek Z.	19.97 de	Ayvalık	26.58 e	Gemlik	30.22 cde
Otur	34.26 ef	Otur	18.96 e	Otur	26.31 e	Otur	26.51 de
Memeli	33.05 f	Memeli	18.02 e	Gemlik	26.25 e	Memeli	26.28 e

*Ortalamalar Student's t testine ($p<0,05$) göre gruplandırılmıştır.

Çizelge 2. Kasım, Ocak ve Mart ayına ilişkin çeşitlerin % don zararları

Çeşitler	Farklı Sıcaklıklarda Aylara Göre % Zararlanma*						
Kasım (2014)							
	-2 °C e	-5 °C e	-8 °C d	-11 °C c	-14 °C b	-17 °C a	-20 °C a
Ayvalık	0,53	0,63	7,66	57,20	68,45	79,49	79,53
Çilli	1,19	0,68	12,76	68,10	70,05	71,71	82,31
Domat	0,63	2,38	12,81	59,68	58,64	62,12	67,06
Erkence	3,04	2,57	8,04	62,94	67,57	70,71	70,94
Eşek Zeytini (Ö)	0,00	0,00	18,53	77,46	76,62	76,79	78,23
Gemlik	0,00	0,00	9,26	62,09	76,16	77,78	77,35
Memecik	0,00	0,29	4,92	56,99	66,51	78,77	81,32
Memeli	0,00	0,00	2,98	30,86	48,88	74,91	73,32
Otur	0,16	0,24	2,47	39,72	53,69	70,45	71,11
Uslu	0,00	0,00	19,00	76,89	81,44	87,64	86,55
Ocak (2015)							
	-2 °C f	-5 °C f	-8 °C e	-11 °C d	-14 °C c	-17 °C b	-20 °C a
Ayvalık	2,73	3,27	4,07	20,26	40,31	41,28	57,96
Çilli	0,10	1,25	2,87	17,52	39,92	43,53	53,04
Domat	1,25	0,68	6,03	27,56	40,32	43,61	46,96
Erkence	1,78	2,60	1,77	21,45	35,11	38,94	59,54
Eşek Zeytini (Ö)	2,23	0,98	4,15	26,39	30,00	37,50	38,57
Gemlik	4,62	2,47	5,18	19,93	34,67	38,65	42,12
Memecik	0,61	0,00	3,85	23,97	46,89	45,99	53,84
Memeli	1,86	2,04	2,29	17,34	27,17	28,38	46,94
Otur	0,33	1,74	5,91	20,07	26,90	38,47	38,99
Uslu	0,14	0,40	6,87	45,11	49,97	53,29	70,44
Mart (2015)							
	-2 °C e	-5 °C e	8 °C d	-11 °C c	-14 °C b	-17 °C ab	-20 °C a
Ayvalık	1,25	0,00	12,23	28,99	48,80	47,16	46,69
Çilli	2,43	4,02	20,82	36,15	55,62	56,76	54,07
Domat	4,86	4,78	19,95	41,10	49,00	46,49	48,91
Erkence	2,65	7,98	20,77	34,99	52,83	50,52	63,95
Eşek Zeytini (Ö)	1,75	9,39	28,18	56,34	58,10	60,54	64,51
Gemlik	4,48	2,04	6,14	26,10	49,63	48,65	46,77
Memecik	2,83	4,34	14,56	45,77	55,46	59,56	60,76
Memeli	2,37	4,30	18,25	32,50	41,27	45,73	49,84
Otur	0,00	0,00	9,76	33,87	44,69	48,69	46,77
Uslu	5,70	3,61	27,46	51,46	63,36	63,57	65,63

*Ortalamalar Student's t testine ($p<0,05$) göre gruplandırılmıştır.

Vejetasyonun başladığı Mart döneminde farklı oranlarda olmakla birlikte Ocak ayına göre tüm çeşitlerin don toleranslarının azaldığı belirlenmiştir. En büyük düşüş Ocak ayında don toleransı yüksek çıkan Eşek zeytininde görülmüştür. Bu çeşit Ocak ayında iyi bir don toleransı gösterirken Mart ayında -11 °C'de % 56.34, -14 °C'de % 58.10 ve -17 °C'de % 60.54 oranında zararlanma tespit edilmiş olup Uslu çeşidi ile benzer grupta yer almıştır. Mart döneminde yapılan don testlerinde, zararlanma oranları Gemlik çeşidi için -11 °C'de % 26.10, -14 °C'de % 49.63 ve -17 °C'de % 48.65, Otur çeşidi için -11 °C'de % 33.87, -14 °C'de % 44.69 ve -17 °C'de % 48.69, Ayvalık çeşidi için -11 °C'de % 28.99, -14 °C'de % 48.80 ve -17 °C'de % 47.16, Memeli çeşidi için ise -11 °C'de % 32.50, -14 °C'de % 41.27 ve -17 °C'de % 45.73 olarak belirlenmiştir. Buna göre bu çeşitler Mart ayında don toleransı yüksek olarak tespit edilmiştir.

Her üç dönemde de Uslu çeşidi don toleransı en az olan çeşit olarak saptanmıştır. Genellikle düşük sıcaklık derecelerine ilk tepkiyi tüm dönemlerde Uslu çeşidi vermiştir. Bu çeşitte ki maksimum don sıcaklığı olan -20°C'de zararlanma oranı Kasım ayında % 86.55, Ocak ayında % 70.44 ve Mart ayında % 65.63 olarak belirlenmiştir. Üç dönemin ortak değerlendirilmesine göre yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre Uslu çeşidi ortalama % 40.99 zararlanma oranı ile en hassas çeşit olarak bulunmuştur. Bu çeşidi ortalama % 35.55 zararlanma ile Eşek zeytini izlemiştir. Eşek zeytini çeşidi Kasım ve Mart aylarında benzer bir tolerans gösterirken kış soğuklarının en yoğun ve şiddetli olduğu Ocak ayında en dayanıklı çeşitler arasında yer almıştır. Diğer çeşitlerden Memecik, Çilli, Erkence, Ayvalık ve Domat çeşitleri orta derecede toleranslı olarak görülebilir. Çalışmada Gemlik çeşidi kış dönemine girişle birlikte soğuğa alışmada en iyi performansı gösteren çeşit olmuştur. Kasım ayında orta derecede toleranslı olan çeşit Ocak ayında dayanıklı grubuna girmiş ve Mart ayında Otur'la birlikte en toleranslı çeşit olmuştur. Tüm dönemler göz önüne alındığında don toleransı en yüksek çeşitlerin Otur (% 26.51) ve Memeli (%26.28) çeşitlerinin olduğu saptanmıştır.

Tartışma

Çalışmada incelenen çeşitlerin don toleransları dönemsel olarak önemli değişiklikler göstermiştir. Çeşitlerin dona en tolerantlı oldukları zaman kış soğuklarının yoğun ve şiddetli olduğu Ocak ayında saptanmıştır. Dona mukavemetinin bitkinin genetik eğilimi ile çevresel faktörlerden etkilendiği ve bu sebeple genellikle zamana bağlı olarak değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Beck ve ark. 2004). Ayrıca ağacın yaşı, sağlık durumu, gelişme dönemi ve beslenme durumu gibi faktörlerinde don zararında etki olduğu bilinmektedir (Graniti ve ark. 2011).

Çeşitlerin don toleransındaki dönemsel farklılıklarının kış soğuklarına alışmaya bağlı olarak bazı biyokimyasal değişimlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Tüm çeşitler kış soğuklarına alışma sürecinde aynı tepkiyi vermemişlerdir. Özellikle Eşek zeytini Ocak ayında iyi bir performans gösterirken soğukların başlangıcı ve sonunda yapılan testlemelerde don toleransı hassas olarak saptanmıştır. Gemlik çeşidinde ise kış başlangıcında düşük olan don toleransı giderek artmış ve Mart ayında en dayanıklı çeşitler arasında yerini almıştır. Çeşitlerdeki bu farklı değişimlerin içsel faktörler üzerinde genetik etkiden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmada incelenen Uslu, Domat ve Gemlik çeşitlerinin don toleransları daha önce bazı araştırmalarda incelenmiştir (Sütçü ve ark. 1994; Cansev ve ark. 2008). Bu çalışmalarda Uslu çeşidi don toleransı bakımından hassas, Gemlik çeşidinin orta derecede tolerant ve Domat çeşidinin ise don toleransının yüksek olduğu ifade edilmiştir. Mevcut çalışmada da benzer sonuçlara ulaşıldığı söylenebilir. Özellikle Uslu çeşidi tüm dönemlerde don mukavemeti en az olan çeşit olarak saptanmıştır. Diğer çalışmalara kıyasla bu çalışmada daha fazla zeytin çeşidiyle testleme yapılmıştır. Tüm dönemlerin ortak değerlendirildiği istatistiksel analizde Gemlik çeşidi en dayanıklı 3. Domat çeşidi ise 4. sırada yer almış ve % zararlanma bakımından birbirlerine yakın değerler almışlardır. Bununla birlikte diğer çalışmalarda yer almayan Memeli ve Otur çeşitleri don mukavemeti en yüksek çeşitlerler olarak ön plana çıkmışlardır.

Sonuç

Sonuç olarak zeytinde don toleransının genetik olarak gerekse mevsimsel olarak önemli değişkenlikler gösterdiği belirlenmiştir. Çeşitlerin farklı dönemlerdeki don mukavemetleri Ocak ayında önemli bir artış göstermiş ancak bu durum tüm çeşitlerde aynı oranda belirlenmemiştir.

Ortaya çıkan bu farklılıkların biyokimyasal ve iklim verileriyle detaylı olarak araştırılmasının zeytinin soğuğa alışma sürecinde yeni bilgiler sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca çalışmadan elde edilen sonuçlara göre kış soğuklarının zeytin için kritik değerlere düştüğü bölgeler için Memeli, Otur ve Gemlik çeşitleri alternatif olarak önerilebilir.

Kaynaklar

- Antognozzi, E., Pilli, M., Proietti, P., Romani, F. 1990. Analysis of some factors affecting frost resistance in olive trees. XXIII International Horticultural Congress Firenze (Italy). Abstracts of contributed papers (2. Poster), 4289.
- Arora, R., Visniewski, ME., Scorza, R. 1992. Cold acclimation in genetically related (sibling) deciduous and evergreen peach (*Prunus persica* [L.] Batsch). I. Seasonal changes in cold hardiness and polypeptides of bark and xylem tissues. *Plant Physiol* 99.
- Asl Moshtaghi, E., Shahsavari, A.R., Taslimpour M.R. 2009. Ionic Leakage as Indicators of Cold Hardiness in Olive (*Olea europaea* L.). *World Applied Sciences Journal* 7 (10): 1308-1310 ISSN 1818-4952.
- Aybar, V.E., Melo-Abreu, J.P.D., Searles, P.S., Matias, A.C., Del Río, C., Caballero, J.M., Rousseaux, M.C. 2015. Evaluation of olive flowering at low latitude sites in Argentina using a chilling requirement model. *Spanish Journal of Agricultural Research* 13(1), e09-001, 10 pages (2015) eISSN: 2171-9292.
- Bartolozzi, F., Fontanazza, G. 1999. Assessment of frost tolerance in olive (*Olea europaea* L.). *Scientia Hort.* 81: 309-319.
- Beck E.H., Heim R., Hansen J. 2004. Plant resistance to cold stress: mechanisms and environmental signals triggering frost hardening and dehardening. *J. Biosci.* 29: 449-459.
- Bongi, G., Palliotti, A. 1994. Olive. In: Shaffer, B., Anderson, P.C. (Eds.), *Handbook of Environmental Physiology of Fruit Crops: Temperate Crops*, vol. I, CRC Press, Boca Raton, pp. 165-187.
- Cansev, A., Gulen, H., Eris, A. 2008. Cold-hardiness of olive (*Olea europaea* L.) cultivars in cold-acclimated and non-acclimated stages: seasonal alteration of antioxidative enzymes and dehydrin-like proteins. *The Journal of Agricultural Science*. 147: 51-61
- Cansev, A., H. Gulen, İpek, A., A. Eriş. 2006. Seasonal Changes In Various Enzyme Activities In Olive Genotypes. *Plant Biology Meeting, August 5-9 2006, Boston, MA, USA*, p. 140.
- Cansev, A., H. Gulen, Yalçınkaya, E., A. Eriş. 2007. Bazı Zeytin Çeşitlerinin Aktif Ve Durgun Büyüme Dönemlerinde Düşük Sıcaklıklara Toleransları. V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 04-07 Eylül 2007, Atatürk Üniversitesi, Erzurum. Cilt1, 207-209.
- De Andrés Cantero, F. 2001. *Enfermedades y plagas del olivo*. Riquelme y Vargas Ediciones, Madrid, Spain.
- Fiorino, P., Mancuso, S. 2000. Differential thermal analysis, supercooling and cell viability in organs of *Olea europaea* at subzero temperatures. *Adv. Hort. Sci.*, 14: 23 – 27.
- Graniti, A., Faedda, R., Cacciola, S.O., Magnano di San Lio, G. 2011. Olive diseases in a changing ecosystem. In: Schena L., Agosteo G.E., Cacciola S.O. (eds). *Olive Diseases and Disorders*, pp. 403-433. Transworld Research Network, Trivandrum, Kerala, India.
- Gülen, H., Turhan, E., Eriş, A. 2006. Changes in Peroxidase Activity and Soluble Proteins in Strawberry Varieties Under Salt-stress. *Acta Physiol. Plant.*, 28(2): 109-116.
- Larcher, W. 1970. Karteresistenz und uberwinterungsvermogen mediterraner Holzplanzer. *Oecol Plant* 5:267-286
- Larcher, W. 1987. Regional distribution of plants and their adaptive responses to low temperatures. *Mediterranean sclerophylls*. p. 174-234. In: A. Sakai and W. Larcher (eds.). *Frost survival of plants. Responses and adaptation to freezing stress*. Springer Verlag, Berlin.

- Mancuso, S. 2000. Electrical resistant changes during exposure to low temperature measure chilling and freezing tolerance in olive tree (*Olea europaea* L.) plants. *Plant Cell Environ.* 23: 291-299.
- Soleimani, A., Lessani, H., Talaie, A. 2003. Relationship between stomatal density and ionic leakage as indicators of cold hardiness in olive (*olea europaea* L.). *Acta Hort.*, 768: 521-525.
- Sütçü, A.R., Burak, M., Fidan, A.E., Büyükyılmaz M. 1994. Bazı zeytin çeşitlerinin kış soğuklarına dayanıklılıkları üzerinde araştırmalar. Yalova – TAGEM
- Şahin, M., Güloğlu, U. 2011. Don zararının incelenmesine ilişkin rapor. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü.
- Usanmaz, D., Canözer, Ö., Özahçı, E. 1988. Zeytinde soğuk zararı ve alınacak önlemler. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Yayın No: 41 Bornova-İzmir.
- Vitagliano, C., Sebastiani, L. 2002. Physiological and Biochemical Remarks on Environmental Stress in Olive (*Olea europaea* L.). *Acta Hort.* 586, ISHS.
- Yang, M.T., Chen, S.L., Lin, C.Y., Chen, Y.M. 2005. Chilling stress suppresses chloroplast development and nuclear gene expression in leaves of mung bean seedlings. *Planta*, 221, 374-385.

İLETİŞİM

Nuregin METE
Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bornova / İzmir
Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Çanakkale
e-mail: nuregin.mete@gthb.gov.tr

