

Niğde Kent Merkezindeki Aktif Yeşil Alanların Kentsel Yaşam Kalitesine Etkileri

Filiz Ç. KARAFKI

Hitit Üniversitesi Güzel Sanatlar, Tasarım ve Mimarlık Fakültesi Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Çorum

Sorumlu yazar: filizcetinkaya@gmail.com

Geliş Tarihi: 09.07.2015

Düzeltilme Geliş Tarihi: 18.05.2016

Kabul Tarihi: 20.05.2016

Özet

Araştırma sahası olarak seçilen Niğde kenti ve yakın çevresi, gerek coğrafi konumu gerekse doğal ve kültürel özellikleriyle İç Anadolu Bölgesi'nin önemli bir yerleşimi konumundadır. Kentin mevcut ekolojik, sosyal ve kültürel potansiyelinin ortaya çıkarılması ve bu potansiyelden optimum derecede faydalanma olanaklarının tespit edilmesi, kentsel hayatın olumsuz etkilerinin minimize edilmesi ve ortaya çıkmasının önlenmesi açısından oldukça önemlidir. Sağlıklı bir kent planlamasının temel taşlarından biri kentin dahil olduğu ekolojik sistemin ve sahip olduğu peyzaj niteliklerinin, ekolojik sürdürülebilirliği gözetilerek kent yararı doğrultusunda planlamaya katılmasıdır. Bu araştırma ile Niğde kent merkezinde yapılacak olan planlama çalışmalarında kullanılmak üzere bir rehber kaynak hazırlanması hedeflenmiş, yaşam kalite standartlarının sağlanmasında yeşil alanlar için gerekli olan temel verileri sağlamak amaçlanmıştır. Halk görüşünün çok önemli olduğu düşüncesiyle kent merkezi kullanıcılarına anket çalışması yapılmıştır. Çıkan sonuçlar yorumlanmış ve sonuçta Niğde kent merkezindeki yeşil alanların Niğde kentinin yaşam kalitesini yükseltmekte yetersiz olduğu sonucuna varılarak bu amaç için öneriler getirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Niğde, Niğde peyzajı, Niğde ekolojisi, yeşil alanlar

The Effects of Niğde City Center's Active Green Areas to the Quality of Urban Life

Abstract

The city of Niğde and its surrounding which was selected as research area is an important settlement of Central Anatolia with its geographic location and natural and cultural features. The city's current ecological, social and cultural potential discovery and determining the optimum degree of benefiting from these potential opportunities are important in terms of minimizing the negative effects of urban life and prevention of its emergence. One of the cornerstones of a healthy urban planning is to add city's ecological system and its landscaping features to the planning in line with the city benefits considering the ecological sustainability. In this research, it is intended to prepare a directory source to be used in planning that will be held at the central of Niğde and to provide basic data required for green areas in ensuring the quality of life standards. The city center user survey was conducted with the idea that public opinion is very important. Interpreted the results and It is concluded that Niğde city center green areas are insufficient to raise the quality of life at Niğde city center and proposals have been introduced for this aim.

Key words: Niğde, Niğde landscape, ecology of Niğde, green areas

Giriş

Kentlerin oluşum süreçlerinin kavramsallaştırılması için birçok farklı yol ileri sürülmüş ve uzun yıllar boyunca kentlerin toplumsal ve ekonomik bir sistem olduğu kabul edilmiştir. Ancak son yıllarda yapılan insan-çevre çalışmaları insan ile yapılı çevre arasında karşılıklı

bir iletişimin olduğunu ortaya koymaktadır (Rapoport, 1977). Kentlerin salt insan aktörlü, ekonomik temelli sistemler olarak algılanmasının doğal çevre üzerinde kurduğu yoğun baskı kentlerdeki doğal kaynakların sürdürülebilirliğini tehlikeye atmış ve bu yaklaşım canlı hayatını tehdit eder hale gelmiştir. Kent sistemi ve var olan

ekolojik unsurların birbirine entegre edilebildiği bir kentin, çevre üzerindeki baskıyı azaltacağı ve kullanıcısının yaşam kalitesini yükselteceği bir gerçektir. Çünkü özellikle insan-doğa etkileşiminden oluşan kültürel peyzaj alanlarında yapılan birçok çalışma kentte var olan ekosistemlerin maddi olmayan birçok yararının olduğunu belirtmektedir (Plieningler ve ark., 2013).

Yapılan çalışmalarda kentsel yeşil alanların yeterli olduğu alanlarda bireylerin yaşam kalitesinin, üretkenliğinin ve verimliliğinin de yüksek olduğu görülmektedir. Yeşil alanlar, bireyin sosyal, fiziksel ve psikolojik durumunu olumlu yönde etkileyen kamusal alanlardır. Bu alanların azalması insanları doğal ortamdan uzaklaştırmakta, fiziksel ve zihinsel açıdan olumsuz etkilemekte, kentsel alanları monotonlaştırmakta, yaşam kalitesini düşürmektedir (Öztürk ve Özdemir, 2013).

Bir kentin kentsel yaşam kalitesini arttırmada çağdaş ve yaşanabilir çevre, planlı kentsel mekânlar önemli rol oynamaktadır. Fakat günümüzde yaşam kalitesi standardı aşırı nüfus artışı ve buna bağlı olarak gelişen çarpık kentleşme, yeşil ve sosyal donatı alanlarının yetersizliği nedeniyle gittikçe azalmaktadır (Güzelmansur ve ark., 2007). Kentlerde görünen büyüme eğilimi çerçevesinde kentsel yeşil alanların nitelik ve nicelik yönünden yeterliğine gereken önem verilmemekte, öncelikle konut açığının giderilmesi amaçlanan kent planlama çalışmaları kapsamında konutlardan arta kalan parsellerin yeşil alan olarak değerlendirilmesi yoluna gidilmektedir. Bu durum, yetersiz fonksiyonlara sahip biçimde planlanan yeşil alanların aynı zamanda kent genelinde homojen olmayan bir dağılım sergilemesine ve kent halkının da yeşil alanlardan eşit bir şekilde yararlanamamasına neden olmaktadır (Doygun ve ark., 2015).

Yeşil alanlar, mevcut açık alanların bitkisel elemanlar ile kaplı veya kombine edilmiş yüzey alanları olarak tanımlanırlar. Tanım rekreasyonel kullanımda olsun ya da olmasın kalıcı tüm yeşil alanları kapsar; park ve bahçeler, oyun ve spor alanları, işlevsel, estetik, doğal yeşil alanlar/korular, yeşil koridorlar, çeşitli nedenlerle koruma altındaki alanlar, toplumca yararlanılan özel yeşil alanlar bu gruba girmektedir (Eminağaoğlu ve Yavuz, 2005). Ancak pratikte yeşil alanlar rekreasyon amaçlı aktif olarak kullanılan yeşil alanlar ve pasif yeşil alanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar. Aktif kullanılan yeşil alanlar çocuk oyun alanları, park alanları ve spor alanları olarak belirlenmiştir. Pasif yeşil alanlar ise dinlenme, eğlence ve spor yapma amaçlarıyla kullanılmayan fakat işlevsel yönden yeşil alan kapsamına giren açık alanlardır. Aktif yeşil alanlar başlığı altında ele alınan parklar, kentin fiziki, sosyal, ekonomik yapısı ile yaşanabilirliği, ekolojik çevre korunması, kent estetiği, eğitimi,

rekreasyonu ve çocukların eğitime katkıları gibi pek çok boyutta kent üzerinde etkileri bulunan yeşil alan sistemi bileşenleridir (Aksoy ve Akpınar, 2011).

Bu noktada asıl önemli olan konu kentte var olan yeşil alanların niteliği ve niceliği göz önünde bulundurularak tespit edilen 'kent kullanıcısının ne kadarının bu yeşil alanlardan faydalanabildiğidir'. Burada 'kişi başına düşen yeşil alan' kavramı devreye girmektedir ki bu kavram ülkeden ülkeye, kentten kente farklılık gösterir. Örneğin Montreal'de bu oran 21.6 m², New York'ta 23.1 m², Berlin'de 27 m² iken, Bursa'da 10 m², Ankara'da 4 m² ve İstanbul'da 1.8 m²'dir (Anonim, 2015c).

Türkiye'deki kentler için 02.09.1999 tarih ve 23804 sayılı Resmi Gazete 'de yayımlanan 'İmar Planı Yapılması ve Değişikliklerine Ait Esaslara Dair Yönetmelik' hükümlerine göre; kentsel alanlarda kişi başına düşen yeşil alan değeri en az 10 m² belediye ve mücavir alan sınırları dışında ise kişi başına en az 14 m² olarak belirlenmiştir. Ancak, kentsel yeşil alanların niceliksel yeterlilik düzeyi üzerine yapılan çalışmalar, yeşil alanlar için öngörülen yasal standartların yetersiz olduğuna işaret etmektedir (Yenice, 2012).

Kentteki yeşil alanların niteliksel ve niceliksel yeterliliği kişilerin yaşam standartlarıyla doğrudan ilişkilidir. Her ne kadar yapılan çalışmalarda kent kullanıcısının bireysel olarak yaşadığı refah düzeyinin kişinin sahip olduğu estetik değerlere, çevresiyle kurduğu sosyal ilişkilere ve eğitim düzeyine bağlı olduğu sonucuna varılsa da (Plieningler ve ark., 2013), caddeler boyunca büyüyen ağaçlar, parklar, orman alanları, meydanlar veya özel mülkiyetteki yeşil alanlar kentteki sağlıklı bir nüfusun ve sağlıklı bir ekonominin temelini oluştururlar (Thaitsa ve ark., 2008). Yerleşim alanlarında planlı rekreatif alanların uygulanmasından önce de ormanlık alanlar, dinlenme ve doğa terapisi amacıyla pek çok kent insanı için popüler alanlar olmuşlardır (Ohtsuka ve ark.,1998; Kamioka ve ark., 2014).

1992 yılında Tokyo'da yapılan bir çalışmada doğum yılları 1903,1908,1913,1918 olan 3144 kişinin çevre-konut ilişkisi bağlamında sağ kalım analizleri yapılmış ve yeşil alanlara yürüme mesafesinde yaşayan insanların ömürlerinin, cinsiyete, medeni duruma ve sosyoekonomik duruma bağlı olarak daha uzun yaşadıkları ortaya çıkmıştır (Takano ve ark., 2002). Ayrıca kentteki yeşil alanlar yaşlılar, fiziksel ve zihinsel engelliler için de kaliteli zaman geçirecekleri ortamlar sağlamaktadır. Yeşil alanların demans hastaları üzerindeki etkisini ortaya koyan bir çalışmada yeşil alanların demans hastalarının mental ve fiziksel iyi olma halleri, bunama ve ajitasyon süreçleri üzerindeki etkilerinin umut verici olduğu belirtilmektedir (Whear ve ark., 2014).

Son dönem çalışmalarında hızla devam eden kentleşme hareketlerinin sonucunda kişilerin iyi olma hallerindeki değişikliklerin analizi için yeşil alanların kentteki değişimleri hakkında da bilgi edinilmesi gerektiği ve kent içindeki yeşil alanlara yakın ya da yürüme mesafesinde olan çok yoğun nüfuslu bölgelerin gelişmesinde ve yeniden yapılandırılmasında bu bölgelerin vurgulanması gerektiği belirtilmektedir (Takano ve ark., 2002; Fullar ve Gaston, 2009). Özellikle halen kentleşme sürecini yaşayan kentlerde yeşil alanların kent üzerindeki ekolojik, ekonomik, psikolojik ve işlevsel etkilerinin kullanılması kent büyümesinin ve gelişmesinin doğru yönlendirilmesi ve kent kullanıcısının yaşam kalitesinin artırılması açısından oldukça önemlidir. Niğde kenti de son dönemdeki gelişmelerle (eğitim, sanayi, ulaşım olanakları vb.) kentleşme sürecine hız vermiş Anadolu kentlerinden bir tanesidir. Ancak kentteki büyük ölçekli aktif yeşil alanların yetersizliği ve buna bağlı kullanıcı memnuniyetsizliği dikkat çekmektedir. Kentleşme sürecinin en yoğun yaşandığı kent merkezi örneğinde gerçekleştirilen bu çalışmada kentte bulunan aktif yeşil alanların yaşam kalitesine olan etkileri saptanmaya çalışılmıştır. Plansız bir kentleşme süreci yaşayan Niğde kenti, özellikle son 30 yılda sosyal, ekonomik, ekolojik ve kültürel açıdan ciddi bir değişim göstermektedir. Özellikle üniversite eğitimi nedeniyle kentte ikamet eden genç nüfusun varlığı, gelişen teknolojiyle bilinçlenen halkın talepleri kentte rekreasyonel alan ihtiyacını doğurmaktadır. Yapılan gözlemler göstermektedir ki, Niğde kentinde imar planlarında bulunan ve uygulaması tamamlanan, yeşil alanlar (kent ve mahalle parkları, çocuk oyun bahçeleri vb.) son dönemde iyileştirme çalışmaları görse de nitelik ve nicelik olarak yetersiz kalmaktadır. Oysaki bir kentte yeşil alanların büyüklüğü, sayısı, kalitesi, kent içinde konumlandırılmaları, ulaşılabilirlikleri, bitkisel zenginlikleri, donatı zenginlikleri kent kullanıcısının refah düzeyi ve kentsel yaşam kalitesi ile doğrudan ilişkilidir.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada materyal olarak Niğde kent merkezi aktif yeşil alanları seçilmiştir. Kent içindeki aktif yeşil alan olarak tanımlayabileceğimiz büyük ve küçük ölçekli parklar, sosyal tesis alanı bahçeleri, mesire alanları ve kent ormanı alanları ve bu alanların işlevleri incelenmiştir. Sonrasında son yıllarda hızlı bir kentleşme sürecinde olan Niğde kentinin kentsel gelişim özellikleri ortaya konulmuş Niğde kentindeki yeşil alanların kentsel yaşam kalitesine olan etkileri belirlenmiştir. Çalışmanın bu aşamasında; Niğde Belediyesi Park ve Bahçeler Müdürlüğü verilerinden, Niğde Belediyesi İmar ve Şehircilik Müdürlüğü verilerinden, Niğde İl Özel

İdaresi verilerinden, İl Kültür ve Turizm Müdürlüğü verilerinden, Türkiye İstatistik Kurumu verilerinden, yapılan anket çalışmasından ve alanda çekilen fotoğraflardan yararlanılmıştır.

Çalışmada kent merkezi kullanıcısının yeşil alanlar hakkındaki düşüncelerinin tespit edilmesi amacıyla anket uygulaması yapılmıştır. Yapılan anket çalışmasında rassal örnekleme yöntemi seçilmiştir. Çalışmada merkezde bulunan aktif yeşil alanların Niğde kent merkezinde yaşayan insanların yaşam kalitesi üzerindeki etkisinin ortaya konulmasının amaçlanmasından dolayı katılımcıların seçileceği örnek büyüklüğü Niğde kent merkezi nüfusu alınmıştır. 2014 yılı nüfus sayımına göre Niğde nüfusunun 149.696'sı kentte yaşamaktadır. Kentte yaşayan kadın-erkek nüfusu birbirine oldukça yakındır (Anonim, 2015). Anket çalışmasında; Kalıpsız (1981), Karasar (1991), Akten (2003), Özdamar (2003), Sandal ve Karademir, (2013)'in benzer çalışmalarda kullandığı hesaplama yöntemi kullanılarak böyle bir çalışmada anlamlı bir sonuç elde edilmesi için yapılması gereken anket sayısına ulaşılmıştır. Hesaplama %95 güven aralığında ve %5 hata kabul oranı dikkate alınarak yapıldığında anketin 73 kişiye yapılması gerektiği belirlenmiştir. Ancak katılımcı sayısının artırılması anketin güvenilirliğini arttıracığı düşüncesiyle çalışmada 100 adet anket uygulanmıştır. Rassal örnekleme yöntemi gereği ve çalışmaya toplumun her kesiminden katılımın sağlanması amacıyla anketler belli bir yaşa, gruba, cinsiyete vb. bakılmaksızın rastlantısal olarak seçilen kişilere yapılmıştır. Anket çalışması ile elde edilen veriler tablolatırılmış, çalışmanın sonuç bölümünde Niğde kent merkezindeki yeşil alanlarının kentsel yaşam kalitesini yükseltmeye yönelik olarak planlanması için getirilecek öneriler verilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Niğde kenti

Niğde İç Anadolu Bölgesi'nin Orta Kızılırmak olarak adlandırılan kesiminde bulunur (Şekil 1). Niğde ili, tarih ve doğa güzellikleri nedeniyle önem taşıyan Kapadokya Bölgesi içerisindedir (Turgut, 2010). İç Anadolu Bölgesi'nin iklim özelliklerinin hakim olduğu kentte '*Quercus robur*, *Salix alba*, *Acer campestre*, *Acer negundo*, *Populus alba*, *Populus nigra*, *Ulmus glabra*, *Eleagnus angustifolia*, *Pinus nigra*, *Thuja orientalis* gibi bitkiler doğal olarak yetişmektedir. Bunun yanında kent civarında bahçecilik ve *Prunus armanica*, *Prunus avium*, *Prunus cerasus*, *Prunus domestica*, *Malus sp.*, *Juglans regia* yetiştiriciliği ile uğraşılması sonucu yer yer yeşil algısı artmaktadır (Şekil 1-2).

Niğde kentinde son dönemde ivme kazanan kentleşme hareketleri kent çevresinin hızla değişmesine sebep olmuştur. Gelişen teknolojiyle

yapılan binalar, farklılaşan ve çoğalan ulaşım hatları, artan araç sayısı, azalan yeşil doku Niğde kentinin yeni çehresini oluşturmuştur. Ayrıca kent merkezinin artan nüfusu kaldıramayacak olması da kent dışında uydu yerleşmelerin kurulmasına sebep olmaktadır. Bu bölgelere ulaşımın sağlanması için yolların yapılması, altyapının götürülüyor olması da kent çevresinin silüetini değiştirmektedir.

Kentsel yaşam kalitesi kavramı ve kentsel yeşil alanlarla ilişkisi

Yaşam kalitesi, genel ve sürekli bir iyi olma hali olarak ele alınmakta ve değerlendirilmesi genellikle mutluluk ve tatmin yaratan pozitif yaşantılarla bunun tersini ifade eden negatif deneyimler ve duygular üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu deneyimler, birey yaşamı açısından anlam ve önem taşıyan aile, arkadaş çevresi, okul, iş, boş zamanlar vb. çerçevesinde değerlendirilmektedir (Sarı ve ark., 2007). Son

dönemde sağlığı geliştirmeye yönelik yaklaşımların ön plana çıkmasıyla yaşam kalitesi kavramı sağlık hizmetlerinin de önemli bir hedefi haline gelmiştir (Koçoğlu ve Akın, 2009). Bireyin yaşam kalitesi, huzur ve mutluluğu kentsel huzur ve yaşam kalitesinden bağımsız olmayıp sürekli bir etkileşim içerisinde (Başaran, 2007). Kentsel yaşam kalitesinin seviyesini bazı bileşenler belirlemektedir. Bunlar bölgede yaşayan insan faktörü, bölgenin ekonomik gelişmişliği, kültürel değerleri, kültürel alış-veriş, çevresel şartlar, sağlık, eğitim, ulaşım, güvenlik gibi hizmetlerin kalitesi şeklinde sıralanabilir. Kültürel alış-veriş toplumu oluşturan parçaların karşılaştığı sosyal mekanlarda mümkündür. Kentte bulunan ve sıklıkla kullanılan sosyal mekanların başında ise kentin yeşil alanları gelmektedir. Bu alanlar kentinin sosyalleştiği ve özgürce davranışlar sergilediği yerlerdir. Bu nedenle kentler için çok önemli anlam ve işlevlere sahiptirler.

Çizelge 1. Katılımcıların yaş aralıkları

Yaş aralıkları	10-14	15-22	26-45	45 üstü	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	2	33	50	13	2	100
Katılımcı yüzdesi	%2	%33	%50	%13	%2	%100

Çizelge 2. Katılımcıların cinsiyetleri

Cinsiyet	Kadın	Erkek	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	8	42	50	100
Katılımcı yüzdesi	%2	%33	%50	%100

Çizelge 3. Katılımcıların ekonomik düzeyi

Ekonomik düzey	1000 TL altı	1000-3000 TL	3000 TL üstü	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	15	38	28	19	100
Katılımcı yüzdesi	%15	%38	%28	%19	%100

Çizelge 4. Katılımcıların medeni hali

Medeni hali	Evli	Bekâr	Toplam
Katılımcı sayısı	60	40	100
Katılımcı yüzdesi	%60	%40	%100

Çizelge 5. Sizce Niğde yeşil bir kent midir?

Sizce Niğde yeşil bir kent midir?	Evet	Hayır	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	15	80	5	100
Katılımcı yüzdesi	%15	%80	%5	%100

Çizelge 6. Katılımcıların eğitim durumu

Eğitim durumu	İlköğretim	Ortaokul	Lise	Üniversite	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	6	12	22	48	12	100
Katılımcı yüzdesi	%6	%12	%22	%48	%12	%100

Çizelge 7. Katılımcıların çalışma durumu

Çalışıyor musunuz?	Evet	Hayır	Öğrenci	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	57	18	15	10	100
Katılımcı yüzdesi	%57	%18	%15	%10	%100

Çizelge 8. Sizce Niğde kent merkezindeki yeşil alanlar yeterli mi?

Sizce Niğde kent merkezindeki yeşil alanlar yeterli mi?	Evet	Hayır	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	15	80	50	100
Katılımcı yüzdesi	%15	%80	%50	%100

Çizelge 9. Sizce hangileri yeşil alan kapsamındadır?

Sizce hangileri yeşil alan kapsamındadır?	Kent meydanları	Kavşak, refüj ve yol kenarı	Parklar	Kent ormanı	Su yüzeyleri ve kenarları	Mezarlıklar	Açık spor alanları	Koruluk alanlar	Toplam işaretleme sayısı
Katılımcı sayısı	21	24	43	58	20	26	20	25	237
Katılımcı yüzdesi	%9	%10	%18	%25	%8	%11	%8	%11	%100

(Katılımcılar birden fazla seçeneği seçebilmişlerdir.)

Çizelge 10. Niğde Atatürk Kent Ormanı'nı kullanıyor musunuz?

Niğde Atatürk Kent Ormanı'nı kullanıyor musunuz?	Evet	Hayır	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	27	68	5	100
Katılımcı yüzdesi	%27	%68	%5	%100

Çizelge 11. Hangisi kent ormanını kullanmanızı kısıtlamaktadır?

Hangisi kent ormanını kullanmanızı kısıtlamaktadır?	Güvenlik	Kirlilik	Yeme içme olanakları	Tek tip kullanıcı	WC azlığı	Otopark azlığı	Donatı elemanı azlığı	Toplam
Katılımcı sayısı	47	46	23	42	26	20	21	225
Katılımcı yüzdesi	%21	%20	%10	%19	%12	%9	%9	%100

(Katılımcılar birden fazla seçeneği seçebilmişlerdir.)

Çizelge 12. Sizce Niğde kent merkezindeki parkları hangi yaştaki insanlar kullanabiliyor?

Sizce Niğde kent merkezindeki parkları hangi yaştaki insanlar kullanabiliyor?	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60 ve üstü	Toplam
Katılımcı sayısı	31	13	10	11	13	18	17	113
Katılımcı yüzdesi	%27.4	%11.50	%8.85	%9.7	%11.50	%16	%15.04	%100

(Katılımcılar birden fazla seçeneği seçebilmişlerdir.)

Çizelge 13. Sizce Niğde kent merkezindeki parklar güvenli mi?

Sizce Niğde kent merkezindeki parklar güvenli mi?	Evet	Hayır	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	19	77	4	100
Katılımcı yüzdesi	%19	%77	%4	%100

Çizelge 14. Sizce Niğde kent merkezindeki parkların ulaşımı kolay mı?

Sizce Niğde kent merkezindeki parkların ulaşımı kolay mı?	Evet	Hayır	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	69	28	3	100
Katılımcı yüzdesi	%69	%28	%3	%100

Çizelge 15. Sizce Niğde kent merkezindeki süs havuzları yeterli mi?

Sizce Niğde kent merkezindeki süs havuzları yeterli mi?	Evet	Hayır	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	9	82	9	100
Katılımcı yüzdesi	%9	%82	%9	%100

Çizelge 16. Sizce parklardaki donatı elemanları(oturma bankı, çocuk oyun aletleri vb.) yeterli mi?

Sizce parklardaki donatı elemanları (oturma bankı, çocuk oyun aletleri vb.) yeterli mi?	Yeterli	Kismen yeterli	Yetersiz	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	5	23	69	3	100
Katılımcı yüzdesi	%5	%23	%69	%3	%100

Çizelge 17. Niğde kent merkezi yeşil alanlarında farklı bitkiler ve çiçekler görmek ister misiniz?

Niğde kent merkezi yeşil alanlarında farklı bitkiler ve çiçekler görmek ister misiniz?	Evet	Hayır	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	96	0	4	100
Katılımcı yüzdesi	%96	%0	%4	%100

Çizelge 18. Niğde kent merkezindeki parklar hem gündüz hem gece kullanılabilir mi?

Niğde kent merkezindeki parklar hem gündüz hem gece kullanılabilir mi?	Evet	Hayır	Belirtmeyen	Toplam
Katılımcı sayısı	19	79	2	100
Katılımcı yüzdesi	%19	%79	%2	%100

Niğde kent merkezindeki yeşil alanlar hakkında yapılan anket çalışmasından elde edilen bulgular

Katılımcıların demografik özelliklerine bakılarak; %50'sinin 26-45 yaşları arasında, %60'ının evli, %48'inin üniversite mezunu, %57'sinin çalışan ve %38'inin maaş aralığının 1000-3000 TL arasında olduğu görülmüştür. Katılımcıların büyük orana sahip bu özellikleri katılımcıların yaş, eğitim, ekonomik düzey vb. özellikler bakımından kentte bulunan yeşil alanları kullanım yeterliliğine sahip olduklarını göstermektedir.

Niğde kent merkezindeki yeşil alanların kent kullanıcıları üzerinde yarattığı etkiyi tespit etmek amacıyla sorulan sorulara verilen yanıtlar ise şu şekildedir;

Katılımcılara yöneltilen 'sizce Niğde yeşil bir kent midir?' sorusuna katılımcıların %80'i hayır yanıtını vermiştir. Katılımcılara yöneltilen 'sizce Niğde kent merkezindeki yeşil alanlar yeterli midir?' sorusuna ise katılımcıların %89'u hayır yanıtını vermiştir. Verilen bu yanıtların oldukça büyük bir kitleyi temsil etmesi Niğde kent merkezi yeşil alanlarının oldukça yetersiz olarak algılandığını göstermektedir. Katılımcılara daha sonra yöneltilen 'sizce hangileri yeşil alan kapsamındadır?' sorusuna ise %25'lik bir payla kent ormanı yanıtı verilmiştir. Bu yanıtı sırasıyla %18 ile parklar, %10 ile kavşaklar, refüjler ve yol kenarları izlemiştir. Katılımcılara yöneltilen 'Niğde kent ormanını kullanıyor musunuz?' sorusuna katılımcılar %68 oranla hayır yanıtını vermişlerdir. Katılımcılara özellikle Niğde kent ormanının sorulma sebebi ormanın Niğde kenti içindeki en büyük ve en donanımlı yeşil alan olmasından kaynaklanmaktadır. Ancak kent kullanıcısı kent ormanını dahi etkin kullanmamaktadır. Katılımcılara yöneltilen 'hangisi kent ormanını kullanmanızı kısıtlamaktadır?' sorusuna ise verilen cevaplar arasında en büyük payı güvenlik zafiyeti %21, kirlilik %20 ve tek tip kullanıcı olması %19 seçenekleri almıştır. 'Niğde kent merkezindeki parklar hem gündüz hem de gece kullanılabilir mi?' sorusuna ise katılımcıların %79'u hayır cevabı vermiştir. Bir alanın kullanım sıklığını etkileyen en önemli unsurlardan biri alanın

güvenliğidir. Verilen sonuçlar göstermektedir ki kent kullanıcısı kent ormanını ve kent parklarını güvenli yerler olarak görmemektedir. Katılımcılara yöneltilen 'sizce Niğde kent merkezindeki parkları hangi yaştaki insanlar kullanabiliyor?' sorusuna katılımcıların %16'sı 50-60 yaş, %15.04'ü 60 yaş ve üstü cevabını vermişlerdir. Bu sonuç yapıma amaçlarının arasında çocuk ve genç kullanımını ilk sıralarda tutan parkların hedefledikleri kitleye tam anlamıyla ulaşamadıklarını göstermektedir.

Katılımcılara yöneltilen 'sizce Niğde kent merkezindeki süs havuzları yeterli mi?' sorusuna katılımcıların % 82'si hayır cevabını vermiştir. Kullanıcının havuz eksikliğini hissetmesi rekreatif ve psikolojik olarak ihtiyaç duyduğu su yüzeyinin coğrafi sınırlar dahilinde karşılanamamasına bağlanabilir. Oysaki bu tip kentlerde su ögesi tasarımlarının daha sık kullanılması kentliyi psikolojik açıdan rahatlatacaktır.

Katılımcılara yöneltilen 'sizce Niğde kent merkezindeki parkların ulaşımı kolay mı?' sorusuna katılımcıların %69'u evet cevabını vermişlerdir. Yeşil alanların kullanım sıklığı ulaşılabilir olmalarıyla oldukça ilişkilidir. Kullanıcının parkları ulaşılabilir görmesi bu alanların yaşam çevrelerine yakın konumlandırıldıklarını göstermektedir. 'Sizce parklardaki donatı elemanları (oturma bankı, çocuk oyun aletleri, gece lambası vb.) yeterli mi?' sorusuna ise katılımcıların % 69 'u yetersiz cevabını vermişlerdir. Yapılan gözlemler yeşil alanlardaki donatı (bank, oyun aletleri, lamba, çöp kutusu vb.) eksiklerinden dolayı özellikle yoğun kullanım saatlerinde alan kullanıcılarının sıkıntı yaşadıkları, kirlilik sorunu olabildiği görülmüştür. 'Niğde kent merkezi yeşil alanlarında farklı bitkiler görmek ister misiniz?' sorusuna ise katılımcıların %96'sı evet cevabını vermişlerdir. Bu durum da kent kullanıcısının yeşil alan miktarına ve bitki çeşitliliğine olan ihtiyacından kaynaklanmaktadır.

Sonuç ve Öneriler

Kent ekolojisi üzerinde çok önemli etkileri olan yeşil alanlar kent kullanıcısının hem fiziki hem de psikolojik sağlığı açısından çok önemlidir. Bu

alanlar özellikle genç nüfusun kötü alışkanlıklardan uzak durması, spor ve sanat aktivitelerine yönelmesi için birçok avantajı bir arada bulundurlar. Niğde kent merkezi yeşil alanları bu sınırlar dahilinde incelendiğinde mevcut alanların hem alan büyüklüğü hem de donatı, fonksiyon ve ekolojik değer olarak Niğde kenti yaşam kalitesini arttırmadığı ve kent kullanıcısının mevcut yeşil alanlardan memnun olmadıkları sonucuna varılmaktadır. Mevcut alanlar kent hayatının sıkıntılarını azaltmak ve kentlinin fiziki ve psikolojik sağlığını olumlu yönde etkilemek için yeterli değildir.

Niğde kent merkezinin oturmuş sıkışık yapısı yeşil alan oluşturmayı zorlaştırmaktadır. Her ne kadar merkezde yapılan yenileme çalışmaları, refüjlerdeki bitkisel iyileştirmeler, yeni yapılan parklardaki donatı elemanlarının kalitesinin yükseltilmesi gibi son dönem çalışmalar kaliteyi arttırsa da kent bütünü için yeterli görülmemektedir.

Niğde kenti genelinde 2014 yılı nüfus sayımına göre 0-19 yaş arası nüfusun çoğunlukta olduğu görülmektedir (Anonim, 2014). Buna göre kentten beklenen bu yaş grubuna hitap edecek yeşil alan fonksiyon ve donatılarının yeteri miktarda ve kalitede bulunmasıdır. Oysaki Niğde kent merkezindeki parkların 23 tanesinde çocuk oyun alanının olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca spor sahalarının sadece 6 parkta bulunması ve parkların sadece 9 tanesinde su yüzeyinin kullanılması (Anonim, 2015b) dikkat çekicidir. Bu yetersiz kullanım anket sonuçlarında çıkan kullanıcı istekleriyle örtüşmektedir. Kentte kent ormanının mevcut ağaçları ve donatısı kentün günümüzdeki yoğunluğuna cevap verir nitelikte değildir. Ancak kent ormanı özellikle şu an genç olan bitkilerinin olgunlaşmasıyla kent için önemi daha da artacak bir yeşil alandır.

Kent içinde cadde genişliklerinin azlığı, caddelerin araç parkı için kullanılması, etkili kavşak çalışmalarının yapılmaması hem araç hem yaya trafiğini olumsuz etkileyerek kentteki yaşamsal kaliteyi düşüren bir diğer etmen olmuştur. Kentte ana caddeler üzerinde etkili peyzaj çalışması bekleyen birçok kavşak mevcuttur.

Kentte dağınık halde bulunan ve bir sistem bütünlüğü arz etmeyen yeşil alanlar, içlerinde bulundurduğu yapısal ve bitkisel öğeleri, fonksiyon çeşitliliği, su yüzeyi, estetik özellikleri, ulaşılabilirlikleri, büyüklükleri, hitap ettikleri yaş aralığının genişliği açısından değerlendirildiğinde Niğde kent merkezi yeşil alanlarının kent kullanıcısının ihtiyaçlarına cevap verir nitelikte olmadığı ve Niğde halkının yaşam kalitesini yükseltmediği görülmektedir. Niğde kent merkezi yeşil alanlarının kentsel yaşam kalitesini

yükseltmeye yönelik olarak planlanması için; kent içindeki mevcut yeşil alanlar yapısal ve bitkisel olarak yeniden değerlendirilmeli, farklı tasarımlar ve iklimle uyumlu bitkilerle zenginleştirilmelidir. Yeşil alanlar mümkün olduğunca her yaştan kullanıcıya hitap edecek şekilde tasarlanmalı ve donatılarla desteklenmelidir (örn: çocuk oyun alanları, gençler için spor sahaları, yaşlılar için oturma çardakları vb.). Yapılacak olan çalışmalar kent kullanıcısının isteklerini, kültürel yapısını dikkate almalıdır. Kentin medeniyet düzeyini geliştirici planlama kararlarına yer verilmelidir. Sağlık birimleri ve idari binaların bahçelerinde veya yakın çevrelerinde kentlinin kullanacağı yeşil alanlar tasarlanmalıdır. Kent merkezinde araç park yeri sıkıntısı ana caddeler dışında, ikincil akslarda ve yer altı otoparkları çoğaltılarak çözümlenmelidir. Belediyelerin kentsel yaşam kalitesini yükseltici çalışmaları desteklenmeli, kentsel kaliteyi arttırmaya yönelik finans kaynakları bulunmalıdır (Sponsorluk, reklam panoları, kulüp, dernek yardımları vb.). Çalışmalar multidisipliner olarak yürütülmelidir. Halk yeşil alanların kentsel yaşam kalitesini arttırdığı yönünde aydınlatılmalıdır. Her yaşın ve her gelir grubunun, kadın-erkek fark etmeksizin bu alanları kullanabileceği bilinci yerleştirilmelidir. Kentsel yeşil alanların güvenliği konusuna azami dikkat gösterilmelidir. Yapılacak çalışmaların bilimsel tabanlı olması için ilgili akademik birimlerden görüş alınmalıdır. Yeşil alanlar gündüz-gece, yaz-kış kullanılabilir halde tasarlanmalıdır. Kentte doğal konumdan dolayı yetersiz olan ancak insan psikolojisi üzerinde çok olumlu etkileri olan su yüzeylerinin kent bütününde kullanımına yer verilmelidir (Park içinde durgun su yüzeyleri, fıskiyeli havuzlar, yapay göletler, refüjler boyunca kullanılan su kanalları, havuzlu kavşak ve meydan tasarımları vb.).

Kaynaklar

- Aksoy, Y. ve Akpınar, A. 2011. Yeşil Alan Kullanımı ve Yeşil Alan Gereksinimi Üzerine Bir Araştırma İstanbul İli Fatih İlçesi Örneği. İstanbul Ticaret Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 10(20): 81-96.
- Akten, M. 2003. Isparta İlindeki Bazı Rekreasyon Alanlarının Mevcut Potansiyellerinin Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi, A(2): 115-132.
- Anonymous, 2014. World health organization. (www.who.int.) (Erişim Tarihi: 27.12. 2014).
- Anonim, 2015. Nüfus ve dağılımı. (www.nigde.gov.tr) (Erişim Tarihi: 11.02.2015).
- Anonim, 2015b. Niğde Belediyesi Park Bahçeler Müdürlüğü, Niğde.

- Anonim, 2015c. Ankara Bölge Planı 2014-2023, Ankara Kalkınma Ajansı Yayınları, Ankara, 2-145.
- Başaran, İ. 2007. Kent ve Yerel Yönetim. Okutan Yayınları, İstanbul, 95 s.
- Doygun, H., Atmaca, M. ve Zengin, M., 2015. Kahramanmaraş'ta Kentleşme ve Yeşil Alan Varlığındaki Zamansal Değişimlerin İncelenmesi. KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi, 18(4): 55-61.
- Eminağaoğlu, Z. ve Yavuz, A., 2005. Artvin Kent Dokusunda Yeşil Alan İncelemesi. Kafkas Üniversitesi Artvin Orman Fakültesi Dergisi, 6(1-2): 191-202.
- Fuller, R.A. and Gaston, J.K. 2009. The Scaling Of Green Space Coverage In European Cities, The Royal Society. Biology Letters, England, 352-355 p.
- Güzelmansur A., Salici A. ve Altunkasa, M.F. 2007. Kentleşme ve kentsel yaşam niteliği arasındaki etkileşimlerin dış mekanlar açısından irdelenmesi: Antakya Örneği. 38. ICANAS Uluslararası Asya ve Kuzey Afrika Çalışmaları Kongresi, 10-15 Eylül 2007, Ankara, 511-524 s.
- Kalıpsız, A. 1981. İstatistik Yöntemler, İ.Ü. Orman Fakültesi Yayın No: 2837, O.F. Yayın No:294. İstanbul, 558 s.
- Kamioka, H., Tsutani, K., Yamada, M., Park, H., Okuzumi, H. Honda, T., Okada, S., Park, S., Kituyaguchi, J., Abe, T., Handa, S. and Mutoh, Y. 2014. Effectiveness Of Horticultural Therapy: A Systematic Review Of Randomized Controlled Trials, Elsevier, Complementary Therapies in Medicine, 22(5): 930–943.
- Karasar, N. 1991. Bilimsel Araştırma Yöntemi, Kavramlar, İlkeler, Teknikler. Sanem Matbaacılık, Ankara, 310 s.
- Koçoğlu, D. ve Akın, B. 2009. Sosyoekonomik Eşitsizliklerin Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışları ve Yaşam Kalitesi ile İlişkisi. Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Elektronik Dergisi, 2(4): 145-154.
- Ohtsuka, Y., Yabunaka, N. and Takayama, S., 1998. Shinrin-yoku (forest-air bathing and walking) effectively decreases blood glucose levels in diabetic patients, *Int J Biometeorol*, 41 (1998):125–127.
- Özdamar, K., 2003. *Modern Bilimsel Araştırma Yöntemleri*. ISBN 9789756787069. Kaan Kitabevi, Eskişehir, 158-160 s.
- Öztürk, S. ve Özdemir, Z. 2013. Kentsel Açık ve Yeşil Alanların Yaşam Kalitesine Etkisi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 13 (1): 109-116.
- Plieninger, T., Dijks, S., Oteros-Rozas, E. and Bieling C. 2013. Assessing, Mapping, And Quantifying Cultural Ecosystem Services At Community Level, *Land Use Policy*, Elsevier. 33:118-129.
- Rapoport, A. 1977. Human Aspects of Urban Form: Towards a Man-Environment Approach to Urban Form and Design, *Urban and Regional Planning Series*, Pergamon Press, 15: 438.
- Sandal, E.,K. ve Karademir, N. 2013. Kahramanmaraş'ta Yeşil Alanların Yeterliliği İle Halkın Beklentilerinin ve Bilinç Düzeyinin Belirlenmesi. *Eastern Geographical Review*, 29:155-176.
- Sever, R. ve Kopar, İ. 2014. Niğde'nin Coğrafi Özellikleri. Tekten Matbaa Basın. Niğde, 14 s.
- Sarı, M., Ötünç, E. ve Erceylan, H., 2007. Liselerde Okul Yaşam Kalitesi: Adana İli Örneği. Kuram ve Uygulamada Eğitim Yönetimi, 50: 297-320.
- Takano, T., Nakamura, K. and Watanabe, M. 2002. Urban Residential Environments And Senior Citizens' Longevity In Megacity Areas: The Importance Of Walkable Green Spaces, *J Epidemiol Community Health*. 56: 913-918.
- Thaiutsa B., Puangchita, L. and Kjelgrenb R. 2008. Urban green space, street tree and heritage large tree assessment in Bangkok, Thailand, *Elsevier, Urban Forestry & Urban Greening*. 7(3): 219–229.
- Turgut, Ş. 2010. *Niğde İlinde Dağcılık ve Kış Sporları Uzmanlık Tezi*, T.C. Kültür ve Turizm Bakanlığı Niğde İl Kültür ve Turizm Müdürlüğü, Ankara, 87 s.
- Whear, R., Coon, T., Bethel, A., Abbott R., Stein, K. and Garside, R., 2014. What Is the Impact of Using Outdoor Spaces Such as Gardens on the Physical and Mental Well-Being of Those With Dementia? A Systematic Review of Quantitative and Qualitative Evidence, Elsevier, *Journal of the American Medical Directors Association*, 15(10): 697-705.
- Yenice, M.S., 2012. Kentsel Yeşil Alanlar İçin Mekânsal Yeterlilik ve Erişilebilirlik Analizi; Burdur Örneği, Türkiye. SDÜ Orman Fakültesi Dergisi, 13: 41-47.

Kuru Fasulyede Farklı Yaprak Alanı Tahminlerinin Karşılaştırılması

¹Ömer SÖZEN*, ²Ufuk KARADAVUT

¹Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Kırşehir

²Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootehni Bölümü, Kırşehir

*Sorumlu yazar: eekim_55@hotmail.com

Geliş Tarihi: 22.10.2015

Düzeltilme Geliş Tarihi: 10.06.2016

Kabul Tarihi: 11.06.2016

Özet

Bu çalışma, farklı yaprak alanı tahminlerinin karşılaştırılması amacıyla Yunus 90 kuru fasulye çeşidi kullanılarak 2013 yılında Kırşehir’de yürütülmüştür. Farklı ekim zamanlarının (1, 10 ve 20 Mayıs) yer aldığı bu çalışmada yaprak ölçümleri üç farklı dönemde (çiçeklenme öncesi, çiçeklenme dönemi ve çiçeklenme sonrası) olmak üzere üç farklı yerden (birinci ve ikinci boğumundaki yapraklar, önceden belirlenen alt, orta ve en üst yapraklar rastgele) alınan yapraklarda yapılmıştır. Her bir ekim zamanının her bir döneminde 15 bitki dikkatli bir şekilde deneme alanından alınarak laboratuvara getirilmiş ve her bir bitkiye ait yaprak örneklerinin değerlendirmeleri gerçekleştirilmiştir. Yaprak örneklerinin alınmasında her dönemde bitkilerin farklı yerlerden elde edilmesi ile tahminlemenin başarısı test edilmiştir. Richards matematiksel büyüme modeli yaprak alanı büyümesinin tahmin edilmesinde, karşılaştırma ölçütü olarak belirleme katsayısı ile hata kareler ortalaması kullanılmıştır. En başarılı yaprak alanı tahmini, 10 Mayıs tarihinde ekilen bitkilerden çiçeklenme döneminde rastgele yaprak örnekleme yapıldığında elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Fasulye, ekim zamanı, örnekleme zamanı, yaprak alanı

Comparison of Different Leaf Area Estimations in Dry Beans

Abstract

Yunus 90 varieties of beans try to get it in the vegetation period of 2013 were 1 selected plants from May 10th May 3 different planting was carried out on time, on 20 May. Each planting time before flowering, blooming period was evaluated in three different periods including and after flowering up. Furthermore, each term is the plant leaf in the first and second nodes, the predetermined bottom, middle and top sheet and was evaluated in randomly taken leaves. Each sowing time period of 15 plants each were brought into the laboratory test area and carefully taken from the evaluation sample sheets of each plant were carried out. Predictive roll success with obtaining different places in the handling of leaf samples of plants in each period tested. Richards growth mathematical model to estimate the leaf area growth, as a measure of comparison with the coefficient of determination mean square error is used. Overall on May 10 between the sowing of cultivated bean plants that perform best estimation upgrade, sampling time as the flowering period and beg obtained from the randomly taken leaf samples during this period has been determined that successful forecasting with data.

Key words: Bean, sowing time, sampling time, leaf area

Giriş

Büyüme, bütün canlılar için en önemli biyolojik özelliktir. Büyüme, zamana bağlı olarak boy, ağırlık ve hücre sayısı bakımından meydana gelen artışları ifade etmektedir. Fasulye sıcak iklim bitkisi olması nedeniyle büyüme ve gelişme

döneminde sıcaklık isteği fazladır (Sözen ve ark., 2014). Buna bağlı olarak, çevre faktörlerinin etkisiyle oldukça hızlı bir büyüme ve gelişme seyri gösterir. Fasulyede düşük ve yüksek sıcaklıklar büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkiler ve buna bağlı olarak da fasulye bitkisinde tane

veriminde istenmeyen sonuçların alınmasına neden olmaktadır (Wallace ve ark., 1991; Acosta ve Rosales, 1989; Sözen ve ark., 2013).

Modelleme, canlıların büyüme ve gelişme aşamalarının genel olarak bilgisini vermesi açısından önemlidir. Modelleme çalışmalarında elde edilecek büyüme verilerinin anlamlı parametreler içermesi oldukça önemlidir (Karadavut ve ark., 2014). Büyüme parametreleri matematiksel olarak açıklanabildiği gibi biyolojik olarak da açıklanabilmelidir (Brown ve ark., 1976). Aksi takdirde modelleme çalışmalarında istenen başarı elde edilemeyecektir. Bunun için farklı zamanlarda bitkilerden alınacak örnekler ile yapılacak modelleme çalışmaları önemli ve anlamlı olmaktadır (Behr ve ark., 2001).

Matematiksel modeller kullanılarak büyüme hakkında daha fazla bilgi sahibi olunması, geleceğe yönelik tahminde bulunmayı kolaylaştırmaktadır (Kobayashi and Salam, 2000). Modelleme çalışmaları yapılırken, bitki büyüme ve gelişiminin olduğu çevre hakkında ayrıntılı bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır (Dong ve ark., 2001).

Bitki gelişimi ekim, sulama, gübreleme ve ilaçlama gibi kültürel etkinliklerden doğrudan etkilenmektedir. Modelleme bu tür faaliyetlerin uygun zaman ve miktarına bağlı olarak yapılmasını ve doğru karar verilmesini sağlayabildiğinden üreticilere büyük avantajlar sağlayabilmektedir. Özellikle iklim ve toprak faktörlerinin bitki gelişimi üzerindeki etkilerini anılan modeller ile analiz etmek mümkün olmaktadır (Levitt ve ark., 1979). Sulama, gübreleme, uyum yeteneği (adaptasyon) ve kuraklık gibi olası değişikliklerin bitkisel üretime etkilerinin kısa sürede belirlenmesi bitki büyüme modelleri ile mümkün olmaktadır (Granados ve ark., 1987).

Yapraklar, ışık enerjisinin tutulduğu ve bitki büyümesi için gerekli olan besin maddelerinin üretiminde kullanıldığı organlardır. Bu özelliğinden dolayı bitkinin yaşamı boyunca alabileceği enerjinin büyük bir kısmı yapraklarda üretilir. Yaprak alanının artması bitki büyümesini ciddi oranda artırmaktadır (Karadavut ve ark., 2011). Çünkü yaprak alanı arttıkça kuru madde birikimi de aynı oranda artış göstermektedir (Beadle, 1993). Yaprak sayısı ve yaprağın büyüklüğü yaprak alanını doğrudan etkilemektedir. Fasulye bitkisinde yaprak alanının etkileyen en önemli özellik yaprak sayısı olmaktadır.

Bu çalışmada farklı zamanlarda yetiştirilen fasulye bitkilerinin farklı yöntemler kullanılarak ve farklı yerlerden alınan yaprak örnekleri yardımıyla yapılan yaprak alanı tahminlerinin başarıları araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma Kırşehir ekolojik koşullarında 2013 yılı vejetasyon döneminde yürütülmüştür. Çalışma, materyal olarak Yunus 90 kuru fasulye çeşidinden alınan yaprak örneklerinde yürütülmüştür. Çalışmada Yunus 90 kuru fasulye çeşidi 1, 10 ve 20 Mayıs tarihlerinde olmak üzere üç farklı ekim zamanında ekilmiştir. Ekim işlemi yapılmadan önce toprak, ekim için hazır hale getirilmiştir. Ekim işlemi her ocağa üç tohum olacak şekilde el ile ocaklara yapılmıştır. Daha sonra ise çıkan bitkiler seyreltilerek tek bitki kalmaları sağlanmıştır. Ekimden itibaren iki kez çapa yapılmış ve toplam 6 kez de sulama yapılmıştır. Ekim işlemi 15 cm sıra üzeri ve 50 cm sıra arası olacak şekilde ayarlanmıştır. Ekimle birlikte dekara 4 kg azot ve 5 kg fosfor olacak şekilde gübreleme yapılmıştır. Deneme süresince 5 kez sulama yapılmıştır.

Deneme alanı toprakları killi-tınlı toprak olup orta tuzlu ve hafif kireçli yapısı ile organik maddece fakir bir yapıda bulunmaktadır. pH değeri 7,86 düzeyindedir. Kırşehir ilinin iklim verilerine göre deneme yılında nispi nem %60.1 iken uzun yıllar ortalama nispi nem %62.2'dir. Deneme döneminde yağış ortalaması 54.5 kg/m² iken, uzun yıllar aylık toplam yağış 377.3 kg/m² olarak gerçekleşmiştir. Sıcaklık değerlerine göre ise deneme döneminde ortalama sıcaklık 11.9 °C iken, uzun yıllar aylık ortalama sıcaklık 11.4 °C olarak gerçekleşmiştir.

Çıkış yapan bitkiler seçiminde tam bir rast geleliğin sağlanabilmesi için numaralandırılmış ve etiketlenmişlerdir. Örnekleme çalışmaları üç farklı dönemde gerçekleştirilmiştir. Erken vejetatif gelişme (1. dönem), çiçeklerin görülmeye başladığı zaman (2. dönem) ve erken bakla doldurma aşaması (3. dönem). Her aşamada 15 bitki dikkatli bir şekilde tarladan alınarak laboratuara getirilmiş ve yaprak örneklerinin burada ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Yapraklar alınıp dikkatli bir şekilde temizlendikten sonra yaprak alanı ölçer vasıtasıyla alan ölçümleri yapılmıştır.

Yaprak örnekleri her örnekleme zamanı için farklı yerlerden alınarak tahminlemenin başarısının artırılması istenmiştir. Birinci uygulamada bitkinin birinci ve ikinci boğumundaki yapraklar, ikinci uygulamada önceden belirlenen alt, orta ve en üst yapraklar, üçüncü uygulamada ise rastgele olarak alınan yapraklarda değerlendirmeler yapılmıştır. Yaprak alanı büyümesinin tahmin edilmesinde Richards matematiksel büyüme modeli, karşılaştırma ölçütü olarak ta belirleme katsayısı ile hata kareler ortalaması kullanılmıştır. Elde edilen verilerin analizinde STATISTICA 6.0 V istatistik paket programı kullanılmıştır.

Söz konusu model; “ $Y_t = A \cdot (1 \pm B \cdot \exp(-k \cdot t))^m$ ” şeklindedir.

Modelde;

Y_t: t. zamanda gözlenen alanı,

A: yaprağın alabileceği en üst alanı,

B: nispi büyüme oranını,

k: büyüme hızını ifade etmektedir. Modelde yer alan **m** parametresi ise büküm parametresi olarak ifade edilmektedir. Yani matematiksel olarak fonksiyonu sıfır yapan nokta olarak tanımlanmaktadır. Büyümenin en yüksek olduğu dönem aynı zamanda büyümenin azalmaya başladığı dönem olarak kabul edilmektedir. Büküm noktası parametresi bu noktayı bize vermesi açısından önemlidir. Karşılaştırma ölçütü olarak ta belirleme katsayısı ile hata kareler ortalaması kullanılmıştır. Belirleme katsayısı en yüksek ve hata kareler ortalaması en düşük olan model en başarılı model olarak değerlendirmeye alınmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar Çizelge 1’de gösterilmektedir. Çizelge 1 incelendiğinde genel olarak çiçeklenme öncesinde yapılan ölçümlerin daha başarılı olduğu görülmektedir. Birinci ekim zamanında ortalama belirleme katsayısı 91.45 ve Hata Kareler Ortalaması 30.62 iken, ikinci ekim zamanında 82.32 ve 43.87, üçüncü ekim zamanında ise 72.70 ve 56.75 olarak gerçekleşmiştir. Ekim zamanı geciktikçe bitkilerin yapraklarında yapısal değişikliklerin zaman içerisinde artması nedeniyle modelin tanımlamadaki başarısı düşme göstermiş olabilir. Bu nedenle özellikle üçüncü ekim zamanında en düşük belirtme katsayısı ve en yüksek hata değeri bulunmuştur. Bitkiler fizyolojik olarak geç ekim şartlarına tepkileri daha belirgin olmaktadır. Özellikle geç ekim verimi düşürdüğü gibi verime etki eden karakterlerin yapısal olarak geriye gitmelerine de neden olmaktadır. Ekim zamanının mümkün olduğunca erken yapılması verimi ve verime etki eden karakterleri de olumlu etkilemektedir. Elde edilen bu sonuçlara göre erken ekilen fasulye bitkilerinde model tanımlamasındaki başarı oranının yüksekliği erken ekimin önemli bir etken olduğunu göstermektedir.

Ekim zamanının ilerlemesiyle birlikte yaprak alanının miktarının önemli ölçüde arttığı görülmüştür. 20 Mayıs’ta ekilen fasulyelerde en düşük yaprak alanına rastlanırken, 1 Mayıs’ta ekilen fasulyelerde ise en yüksek yaprak alanı tespit edilmiştir. Dönemler kendi içlerinde değerlendirildiğinde genel olarak bütün zamanlarda çiçeklenme zamanında en yüksek yaprak alanına rastlanmıştır. Çiçeklenme

sonrasında yapılan ölçümlerin değerlerinin düşük olması aynı zamanda yapılan tahminlemenin başarısını da düşürmüştür. Yaprak örneklerinin alındığı yerler bakımından ise en yüksek değer ve en iyi tahminleme rastgele alınan yapraklarda olmuştur. En kötü tahminleme ise birinci ve ikinci boğumdan alınan yaprak örneklerinde olmuştur.

Birinci ekim zamanı olan 1 Mayıs tarihinde çiçeklenme öncesi belirleme katsayısı 93.94 iken, çiçeklenme döneminde 93.13 ve çiçeklenme sonrası ise 87.27 olarak gerçekleşmiştir. Yine bu zamanda örnekleme hata kareler ortalaması değerleri ise sırasıyla 24.78, 29.27 ve 37.82 olarak belirlenmiştir. Birinci ekim zamanında özellikle çiçeklenme öncesi yapılan tahminlemenin daha başarılı olduğu görülmektedir. Buna karşın çiçeklenme sonrasında yapılan tahminlemenin başarısı ise azalmaktadır. Çiçeklenme öncesinde yapılan örneklemeelerde ise rastgele alınan örneklerdeki tanımlama başarısı diğer örneklerden daha iyi tanımlama göstermiştir.

İkinci ekim zamanında birinci ekim zamanına benzer sonuçlar elde edilmiştir. Çiçeklenme öncesinde 86.38, çiçeklenme döneminde 84.02 ve çiçeklenme sonrasında ise 76.57 belirleme katsayılarına sahip olurlarken, sırasıyla 39.38, 40.83 ve 51.12’lik hata kareler ortalaması değerlerine sahip olmuşlardır. Örnekleme şekli olarak bakıldığında ise rastgele alınan yaprak örneklerinde 87.52’lik bir tanımlama başarısı görülmüştür.

Üçüncü ekim zamanında her ne kadar tanımlama konusunda birinci ve ikinci zamandakine benzer sonuçlar ortaya çıksa da tanımlama başarılarının genel olarak çok düştüğünü görmek mümkündür. Birinci ekim zamanındaki yüksek tanımlama başarısı ve düşük hata kareler ortalaması değerleri üçüncü zamanda oldukça düşme göstermiştir. Bütün bu sonuçlar ekim zamanının önemini bizlere göstermektedir. Ayrıca örnekleme yapılacağı zaman çiçeklenme öncesinde örneklemenin yapılması gerektiği, diğer zamanlarda yapılacak olan örneklemin başarı şansının oldukça azalacağını göstermektedir. Bununla birlikte hangi zamanda yapılırsa yapılsın rastgele örnekleme yapılmasının güvenilir sonuçlar verdiğini göstermektedir.

Sıcaklık yükseldikçe çiçeklenme oranı hızla artmakta ve bitki generatif döneme yeterince büyümeden girmektedir. Kuru madde, verimin en önemli belirleyicisi olması nedeniyle sıcaklık artışı ile oluşan stres kuru madde birikiminin de sınırlanmasına neden olmakta ve böylece zaman ilerledikçe büyüme ve gelişme yavaşlamaktadır (Legocka ve ark., 2015).

Çizelge 1. Yunus 90 bitkisinde yaprak alanı tahminlerinin başarı durumu

Ekim Zamanı	Örnekleme Zamanı	Örnekleme Şekli	Ölçülen Yaprak Alanı (mm ²)	Tahmin Edilen Yaprak Alanı (mm ²)	Karşılaştırma Ölçütleri	
					R ²	HKO
1 Mayıs	Çiçeklenme Öncesi	Birinci ve İkinci Boğumdan	7.63	7.81	92.14	27.12
		Alt. Orta ve Üst Yapraklardan	7.49	7.68	93.27	26.85
		Rastgele Yaprak Alma	7.74	7.64	96.41	20.38
		Ortalama	7.62	7.71	93.94	24.78
	Çiçeklenme	Birinci ve İkinci Boğumdan	6.84	7.11	91.34	33.84
		Alt. Orta ve Üst Yapraklardan	6.71	7.06	92.79	31.06
		Rastgele Yaprak Alma	6.88	7.01	95.26	22.90
		Ortalama	6.81	7.06	93.13	29.27
	Çiçeklenme Sonrası	Birinci ve İkinci Boğumdan	5.92	6.24	84.33	41.26
		Alt. Orta ve Üst Yapraklardan	5.84	6.18	87.41	37.11
		Rastgele Yaprak Alma	5.91	6.09	90.08	35.08
		Ortalama	5.89	6.17	87.27	37.82
Genel Ortalama			6.77	6.98	91.45	30.62
10 Mayıs	Çiçeklenme Öncesi	Birinci ve İkinci Boğumdan	7.02	7.54	85.64	40.01
		Alt. Orta ve Üst Yapraklardan	6.96	7.52	85.97	41.37
		Rastgele Yaprak Alma	6.12	7.41	87.52	36.75
		Ortalama	6.70	7.49	86.38	39.38
	Çiçeklenme	Birinci ve İkinci Boğumdan	6.91	7.55	82.37	42.44
		Alt. Orta ve Üst Yapraklardan	6.77	7.46	84.60	40.39
		Rastgele Yaprak Alma	6.80	7.40	85.09	39.67
		Ortalama	6.83	7.47	84.02	40.83
	Çiçeklenme Sonrası	Birinci ve İkinci Boğumdan	6.68	7.32	74.52	54.16
		Alt. Orta ve Üst Yapraklardan	6.48	7.21	77.12	51.22
		Rastgele Yaprak Alma	6.36	7.18	78.07	47.99
		Ortalama	6.51	7.24	76.57	51.12
Genel Ortalama			6.68	7.40	82.32	43.78
20 Mayıs	Çiçeklenme Öncesi	Birinci ve İkinci Boğumdan	6.57	7.15	74.68	55.31
		Alt. Orta ve Üst Yapraklardan	6.48	7.14	77.22	52.18
		Rastgele Yaprak Alma	6.54	7.05	78.07	48.75
		Ortalama	6.53	7.11	76.66	52.08
	Çiçeklenme	Birinci ve İkinci Boğumdan	6.28	6.95	71.02	58.48
		Alt. Orta ve Üst Yapraklardan	6.15	6.85	71.85	57.26
		Rastgele Yaprak Alma	6.21	6.78	72.36	61.03
		Ortalama	6.21	6.86	71.74	58.92
	Çiçeklenme Sonrası	Birinci ve İkinci Boğumdan	5.84	6.54	67.84	63.24
		Alt. Orta ve Üst Yapraklardan	5.68	6.48	70.01	58.11
		Rastgele Yaprak Alma	5.77	6.42	71.29	56.43
		Ortalama	5.76	6.48	69.71	59.26
Genel Ortalama			6.17	6.82	72.70	56.75

Büyümenin verim üzerindeki bu önemli etkisi nedeniyle özellikle çiçeklenme döneminde bitkinin belirli bir vegetatif aksam oluşturması ve generatif olarak üretime geçebilmesi için yeteli büyüklüğe ulaşması istenir (Scully and Wainess, 1988). Vegetatif büyüme süresi ile bitki boyu üzerine çevre koşullarının önemli etkisi vardır (Koinov ve Radkov, 1979). Bitkinin farklı gelişme dönemlerindeki sıcaklık, nem, gün uzunluğu, ışık

yoğunluğu gibi iklim faktörleri değişeceğinden kuru madde miktarında da değişiklikler olmaktadır (Davis and Fraizer, 1966). Çevre faktörlerinin fasulye bitkilerinin gelişmesindeki etkisi burada da gözlenmiş ve ekim zamanı geciktikçe bitki büyüme ve gelişmesinde de düzensizlikler başlamıştır. Bunun sonucu olarak ta büyümenin matematiksel olarak tanımlanma oranı ekim zamanı ilerledikçe düşmüştür.

Kaynaklar

- Acosta, G.J.A. and Rosales, S.R. 1989. Biomass and its components in indeterminate bean varieties. p. 97-106. In: G.J.A. Acosta (ed.). Improving resistance to environmental stress in beans through genetic selection for carbohydrate partitioning, water use efficiency and efficiency of biological nitrogen fixation.
- Beadle, C.L. 1993. Growth analysis. In, Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A Field and laboratory Manual. (Eds: D.O Hall, J.MO. Scurlock, H.R. Bolhor-Nordenkamp). pp: 36-46, London.
- Behr, V., Hornick, J.L., Cabarau, J.F., Alvarez, A. and Istasse, L. 2001. Growth patterns of Belgian Blue replacement heifers and growing males in commercial farms. *Livestock Production Science*, 71: 121-130.
- Brown, J.E., Fitzhung, H.A. and Cartwright, T.C. 1976. A comparison of nonlinear models for describing weight-age relationships in cattle. *Journal of Animal Science*, 42: 810-818.
- Davis, D.W. and Fraizer, W.A. 1966. Inheritance of some growth habit components in certain types of bush lines of *Phaseolus vulgaris* L. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 88: 384- 392.
- Dong, S., Scagel, C.F., Ghang, L., Fuchigami, L. and Rygievureaz, P.T. 2001. Soil temperature and plant growth stage influence nitrogen uptake and amino acid concentration of apple during early spring growth. *Tree Physiology*, 21(8):541-547.
- Granados, A.R., Ortega, D.M. ve Zarate, L.G. 1987. Dry weight and nitrogen content in plant organs and their influence on bean yield and seed protein content. *Revista Chapingo*, 11-12 (54-55): 47-52.
- Karadavut, U., Palta, Ç., Tezel, M. ve Aksoyak, Ş. 2011. Yonca (*Medicago sativa* L.) Bitkisinde Bazı Fizyolojik Karakterlerin Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6 (2) :8-16.
- Karadavut, U., Şahin, A., Taşkın, A. ve Akılı, A. 2014. Japon Bildircinlarında (*Coturni x coturnix japonica*) Büyümenin Tek ve Çok Aşamalı Analizlerinin Seleksiyon Kriteri Olarak Kullanılabilme Olanaklarının Araştırılması. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1 (4): 539–546.
- Kobayashi, K. and Salam, M.U. 2000. Comparing simulated and measured values mean squared deviation and its components. *Agronomy Journal*, 92: 345-352.
- Koinov, G. and Radkov, P. 1979. The effect of cultivar and ecological conditions on yield and quality of *Phaseolus vulgaris*. *Rasteniev'dni Nauki*, 16 (9/10):5-16.
- Legocka, J., Sobieszczuk-Nowicka, E. and Wojtyła, L. 2015. Lead-stress induced changes in the content of free, thylakoid- and chromatin-bound polyamines, photosynthetic parameters and ultra-structure in greening barley leaves. *Journal of Plant Physiology*, 186-187, 15-24.
- Scully, B. and Wainess, J.G. 1988. Ontogeny and yield response of common and tepary beans to temperature. *Agronomy Journal*, 80 (6): 921-925.
- Sözen, Ö., Özçelik, H. ve Bozoğlu, H. 2013. Orta Karadeniz Bölgesi'nden Toplanan Fasulye Genotiplerinin Karakterizasyonu. Ekoloji 2013 Sempozyumu, Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ.
- Sözen, Ö., Özçelik, H. ve Bozoğlu, H. 2014. Orta Karadeniz Bölgesi'nden Toplanan Yerel Kuru Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinde Morfolojik Varyabilitenin İstatistiksel Analizi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(1): 34-41.
- Wallace, D.H., Gniffke, P.A., Masaya, P.N. and Zobel, R. 1991. Photoperiod, temperature and genotype interaction effects on days and notes required for flowering of bean. *Journal of American Soc. for Hort. Science*, 116 (3): 534-543.

Salt Stress Response of Sunflower Breeding Lines Developed After Wide Hybridization

¹Roumyana VASSILEVSKA-IVANOVA*, ¹Lydia SHTEREVA, ²Ira STANCHEVA, ²Maria GENEVA

¹Department of Applied Genetics and Biotechnology,

²Department of Plant Mineral Nutrition and Water Relation

Institute of Plant Physiology and Genetics, Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev str., Bl. 21, 1113
Sofia, Bulgaria

*Corresponding author: ru_vas_bg@yahoo.com

Received: 07.11.2015

Received in Revised Form: 30.06.2016

Accepted: 10.07.2016

Abstract

Response of sunflower germplasms viz. cultivated sunflower *H. annuus* and two breeding lines *H. annuus* × *T. rotundifolia* and *H. annuus* × *V. encelioides* developed after wide hybridization were used for identification of salt tolerant sunflower genotypes at the seedling growth stage. Two levels of salinity stress (100 and 200 mM NaCl) were created and performances were monitored against a control. Physiological and biochemical stress, determining parameters such as root and shoot lengths, fresh weight, and antioxidant enzyme activities superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPO), and ascorbate peroxidase (APX) were compared between seedlings of all three genotypes. The results indicated that all three genotypes had similar responses at different NaCl concentrations for seedling growth parameters studied which decreased with increasing salinity. The data obtained on antioxidant enzymes such as CAT, SOD, GPO, and APX have shown significant differences among examined genotypes. Such differential responses of the enzymatic antioxidant systems of the tested sunflower genotypes with different origin put in evidence that the contrast between these genotypes in terms of salt tolerance exists. Of the three genotypes examined, hybrid line *H. annuus* × *V. encelioides* followed by line *H. annuus* × *T. rotundifolia* were more salt-tolerant as compared to the cultivated cultivar *H. annuus* cv 1114.

Key words: Antioxidant enzymes, *Helianthus annuus* L., intergeneric hybridization, interspecific hybridization, *Tithonia rotundifolia*, *Verbesina encelioides*

Abbreviations: SOD (Superoxide dismutase); CAT (Catalase); GPO (Guaiacol peroxidase); APX (Ascorbate peroxidase); DPPH (2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl); PEG (Polyethylene glycol-6000); F₁ (First generation hybrid); BC (Backcross generation); cms (Cytoplasmic male sterility).

Introduction

Salinization of soils is one of the main abiotic stresses in nature that limits plant productivity involving an inhibition of growth and development, reduction in photosynthesis, respiration and protein synthesis in sensitive species (Meloni et al., 2003; Chinnusamy et al., 2005; Ashraf et al., 2008; Ahmad et al., 2008; Ahmad and Prasad, 2012; Tuteja et al., 2012). Like other abiotic stresses, salt stress also leads to oxidative stress through an increase in reactive oxygen species (ROS), such as superoxide (O₂•⁻), hydrogen peroxide (H₂O₂) and hydroxyl radicals (OH•) (Alscher et al., 1997; Mittler, 2002). ROS are

regarded as the main source of damage of cells under biotic and abiotic stress causing lipid peroxidation, protein denaturing and DNA disorders (Mittler, 2002). During salt stress, plants adapt to oxidative stress eliminating or reducing ROS by accumulation certain protective solutes like proline, glycine, betaine, polyols, trehalose etc. (Sakamoto and Murata, 2002; Beak and Skinner, 2003; Ahmad et al., 2010; Gill and Tuteja, 2010). Also, an antioxidant protective system that includes both nonenzymatic metabolites (ascorbate, glutathione, α-tocopherol, carotenoids and phenolic) and antioxidant enzymes (superoxide dismutase, different specific

peroxidases, catalase and enzymes of ascorbate-glutathione cycle) has been reported to exist (Sharma et al., 2012).

Helianthus annuus is classified as moderately tolerant to salinity (Steduto et al., 2000); seed productivity is unaffected by salinity up to EC 4.8 dS m⁻¹ (\approx 50 mM NaCl) in the saturation soil extract and declines by approximately 5% per unit increase in salinity thereafter (Flagella et al., 2004). It has been found that salinity induces a number of adverse effects on growth, yield and some physiological and biochemical processes taking place within the sunflower plant tissues (Ashraf and Tufail, 1995, Muralidharudu et al., 1999, Akram and Ashraf, 2011; Shahbaz et al., 2011, Gaballah et al., 2012). In Bulgaria, sunflower is widely grown and ranks first in terms of importance among oil crops. There has been considerable interest in the developing plant varieties with improved salt tolerance and agronomic inputs. Besides conventional breeding techniques, wide (interspecific and intergeneric) hybridization is also used as an alternative for improvement of desired characters in agricultural crops. Breeding progress resulting from wide hybridization in sunflower is well documented (Breton et al., 2010; Breton et al., 2012; Vassilevska-Ivanova et al., 2013; Kaya, 2014; Kantar et al., 2014).

Although previous researches discussed wide hybridization in sunflower as one of the most important strategies having the potential to combine useful traits of both parents that could not be achieved by crossing within a single species (Faure et al. 2002; Röncke et al. 2004; Breton et al. 2010; Breton et al. 2012; Vassilevska-Ivanova et al. 2013; Vassilevska-Ivanova et al. 2014), so far there has been no side-by-side comparison of hybrid plants with regard to their origin on salt stress. Therefore, we have analyzed the behavior of three different sunflower genotypes—cultivated *H. annuus* and two advanced lines developed after intergeneric hybridization with species of related genera *Verbena* and *Tithonia* in the early developmental stages under experimental salt stress conditions. The response of sunflower plants was characterized with reference to salt stress on growth parameters, antioxidant enzyme activities such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPO), and ascorbate peroxidase (APX).

Materials and Methods

Reagents: All chemicals used were of analytical grade. All of them were obtained from Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA) and Merck (Darmstadt, Germany).

Plant materials, growth conditions and stress treatments

Three sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes with diversified genetic background were chosen on the basis of speculation of the potential of wild *Helianthus* species to impact the adaptation of the introgressed hybrids under salinity conditions. Seeds of *H. annuus* L. cultivar 1114 and two advanced intergeneric lines *H. annuus* \times *Tithonia rotundifolia* and *H. annuus* \times *Verbena encelioides* were used in the study. These genotypes were developed at the Institute of Plant Physiology and Genetics, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria following a research program using the potential of wide hybridization for producing and evaluating new sunflower germplasms. The intergeneric line *Helianthus* \times *Verbena* originated from pollination of cytoplasmic male sterile (cms) line HA89 (female), a public oilseed sunflower inbred maintainer line released by US Department of Agriculture—Agricultural Research Service, with bulked pollen from wild annual *Verbena encelioides* (male). The cms line L 1234 of *H. annuus*, released by Dobrudza Institute of Wheat and Sunflower, Bulgaria was pollinated with bulked pollen from *T. rotundifolia*. The populations of both *V. encelioides* and *T. rotundifolia* species were grown from seeds originally obtained from the Botanical Garden of Lisbon, Portugal. The crosses were made by conventional hybridization method. Each experiment was carried out on flower heads which had been protected from foreign pollen by bagging. First generation hybrid plants were verified using morphological and cytological methods, and F₁ hybrids were back-crossed to the common sunflower to obtain BC₁ and BC₂. The main agronomic and morphological characteristics of these plants as well as their inheritance were described in our previous works (Vassilevska-Ivanova et al. 1999; Vassilevska-Ivanova and Tcekova, 2002). Seeds from advanced plant generations were produced after self-pollination under a bag. They were stored dry in paper bags at 5 °C for at least 9 months before the experiments and were non-dormant.

Phenotypic study of salinity tolerance at seedling stage

The genotypes were screened for salt tolerance at seedling stage in hydroponic system using the standard protocol as follow: twenty-five seeds of each genotype were pretreated with 5% sodium hypochlorite for 15 min and then germinated in rolled moistened paper towels in darkness (25 \pm 1°C) as previously described

(Vassilevska-Ivanova et al., 2000). After germination, when cotyledons fully emerged, the healthy and uniform seedlings were transferred to 600 mL plastic beakers filled with half-strength Hoagland's solution (Hoagland and Arnon, 1950) and grown in a controlled growth chamber "Forma Scientific" model 3744 at 25 ± 2 °C with a 16-h light ($250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and 8-h dark photocycle. The nutrient solution was salinized by adding crude salt to half-strength Hoagland's solution to obtain desired experimental concentration (100 and 200 mM). The salinity stress period created by NaCl was 3 days. Each set of experiments was performed three times.

At the end of the experiment (14 days), the plants were harvested. For phenotypic observation like shoot and root length as well as their fresh weight were recorded in both normal (control) and salinized conditions.

Estimation of enzyme activity

Enzyme extracts were prepared by homogenizing plants tissue in a pre-chilled mortar in 20 ml chilled extraction buffer (pH 7.8) contained 100 mM K_2HPO_4 , 5 mM EDTA, 2% Polyclar AT, 1mM PMSF (phenyl methyl sulfonyl fluoride). Extracts were then centrifuged at 12 000 g for 30 min at 4°C. Enzyme assays were conducted immediately following extraction.

Superoxide dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1) was measured by photochemical method described by Giannopolitis and Ries (1977). Assays were carried out under illumination. Reaction mixture (total volume of 3.0 ml) contained the following parameters: 2.35 ml 50 mM Na_2HPO_4 ; 0.10 ml 33 μM p-nitro blue tetrazolium chloride, 0.30 ml 10 mM L-methionine, 0.20 ml 0.66mM Na_2EDTA and 0.05 ml 3.3 μM riboflavin. One unit of SOD activity was defined as the amount of enzyme required to cause 50% inhibition of the rate of p-nitro blue tetrazolium chloride reduction at 560 nm.

Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) activity was assayed in a method following Beers and Sizer (1952) with minor modifications. The following reaction mixture (total volume of 3.0 ml) was used: 2.77 ml 0.05 M Na_2HPO_4 (pH 7.0) containing 0.1 mM EDTA; 0.20 ml enzyme extract; 0.03 ml 3% H_2O_2 . In the blank sample 0.03 ml d. H_2O instead of H_2O_2 were added. Activity was determined by following decomposition of H_2O_2 (extinction coefficient, $39.4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) at 240 nm. The enzyme activity was expressed in catalytic units- $\text{mmol H}_2\text{O}_2 \text{ mL}^{-1} \text{ min}^{-1}$ per mg protein.

Guaiacol peroxidase (GPO) (EC 1.11.1.7) activity was determined according to Urbanek et al. (1991). Reaction mixture (total reaction volume

of 3 ml) contained 2.8 ml quaiacol, 0.1 ml enzyme extract and 0.1 ml 2% H_2O_2 . Blank sample contained 0.1 ml extraction buffer instead of H_2O_2 . The oxidation of guaiacol in the presence of H_2O_2 was measured as the increase in absorbance recorded at 470 nm. The enzyme activity was expressed as $\text{nmol H}_2\text{O}_2 \text{ mg protein}^{-1} \text{ min}^{-1}$ (Plewa et al. 1991).

Ascorbate peroxidase (APX) (EC 1.11.1.1) activity was determined measured according to the method of Nakano and Asada (1981). Total volume of 3 ml reaction mixture was used. One ml of reaction mixture contained a 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0), 0.5 mM ascorbic acid, 0.1 mM H_2O_2 and 200 μM of enzyme extract. The following ratio between the components was complied: 2.8 ml buffer: 0.05 ml ascorbic acid: 0.1 ml enzyme extract: 0.05 ml H_2O_2 . The concentration of oxidized ascorbate was calculated by the decrease in absorbance at 290 nm. Enzyme activity was quantified using the molar extinction coefficient for ascorbate ($2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), and was expressed as moles of ascorbate oxidized per milligram of protein per minute (McKersie and Leshem 1994).

Soluble protein content was determined by the method of Bradford (1976) using bovine serum albumin as a standard.

Statistical analysis

Twenty plants were raised for each treatment and all the experiments were repeated twice. Data were subjected to one-way ANOVA analysis of variance for comparison of means, and significant differences were calculated according to Fisher LSD test at the 5% level using a statistical software package (Statgraphics Plus, version 5.1 for Windows). Data were reported as means \pm standard error. Standard errors were represented as vertical bars, which were the mean of three values (n=3), and similar letters in figures represent non-significant differences among the treatments within each genotype. The figures were performed with the OriginPro 8 SRO, Company OriginLab Corporation program package.

Results and Discussion

Effect of salt stress on seedling growth in the three sunflower genotypes

The results revealed that the root and shoot length as well as the fresh weight were strongly affected by salt treatments. Increased NaCl concentration caused a decrease in these characters as the response to salinity varied among genotypes. The data presented in Table 1 indicate clearly that average length of shoots and roots as well as their fresh weight significantly decrease

with increasing sodium chloride concentrations. Decrease in fresh weight of root was more pronounced as compared to shoot in all NaCl treatment in all three sunflower genotypes.

However, this decrease was more prominent in *H. annuus* cv 1114 and *H. annuus* × *T. rotundifolia* genotypes.

Table 1. Effects of salt stress on root and shoot growth responses (mean length per seedling in cm) and fresh weight (g per plant) of cultivated sunflower *H. annuus* cv. 1114 and two intergeneric lines *H. annuus* × *Tithonia rotundifolia* and *H. annuus* × *Verbesina encelioides*; percentage control values are given in parenthesis.

Treatment (NaCl)		Genotypes		
		<i>H. annuus</i> cv 1114	<i>H. annuus</i> × <i>T. rotundifolia</i>	<i>H. annuus</i> × <i>V. encelioides</i>
		Length, cm		
Root	0	20.9 (100) ± 1.85 ^a	18.2 (100) ± 2.06 ^a	21.2 (100) ± 2.12 ^a
	100 mM	16.9 (80.8) ± 1.71 ^b	15.5 (85.2) ± 1.50 ^{ab}	19.6 (92.4) ± 1.82 ^{ab}
	200 mM	11.9 (56.9) ± 1.27 ^c	12.4 (68.1) ± 1.45 ^c	17.0 (80.2) ± 1.44 ^{bc}
Shoot	0	15.8 (100) ± 2.08 ^a	11.2 (100) ± 1.15 ^a	9.8 (100) ± 1.42 ^a
	100 mM	12.8 (81.0) ± 1.58 ^{ab}	7.4 (66.1) ± 0.95 ^b	8.4 (85.7) ± 1.13 ^{ab}
	200 mM	10.6 (67.1) ± 1.24 ^{bc}	5.9 (52.7) ± 0.72 ^c	7.3 (74.5) ± 0.83 ^{bc}
		Fresh weight (g per plant)		
Root	0	0.9813 ± 0.03 ^a	0.8010 ± 0.04 ^a	0.4796 ± 0.01 ^a
	100 mM	0.8143 ± 0.04 ^b	0.6539 ± 0.02 ^b	0.3969 ± 0.01 ^b
	200 mM	0.3480 ± 0.04 ^c	0.2916 ± 0.03 ^c	0.2164 ± 0.01 ^c
Shoot	0	0.8597 ± 0.08 ^a	0.6992 ± 0.04 ^a	0.3629 ± 0.03 ^a
	100 mM	0.7163 ± 0.05 ^b	0.3987 ± 0.02 ^b	0.3102 ± 0.01 ^b
	200 mM	0.4964 ± 0.04 ^c	0.3015 ± 0.01 ^c	0.1969 ± 0.01 ^c

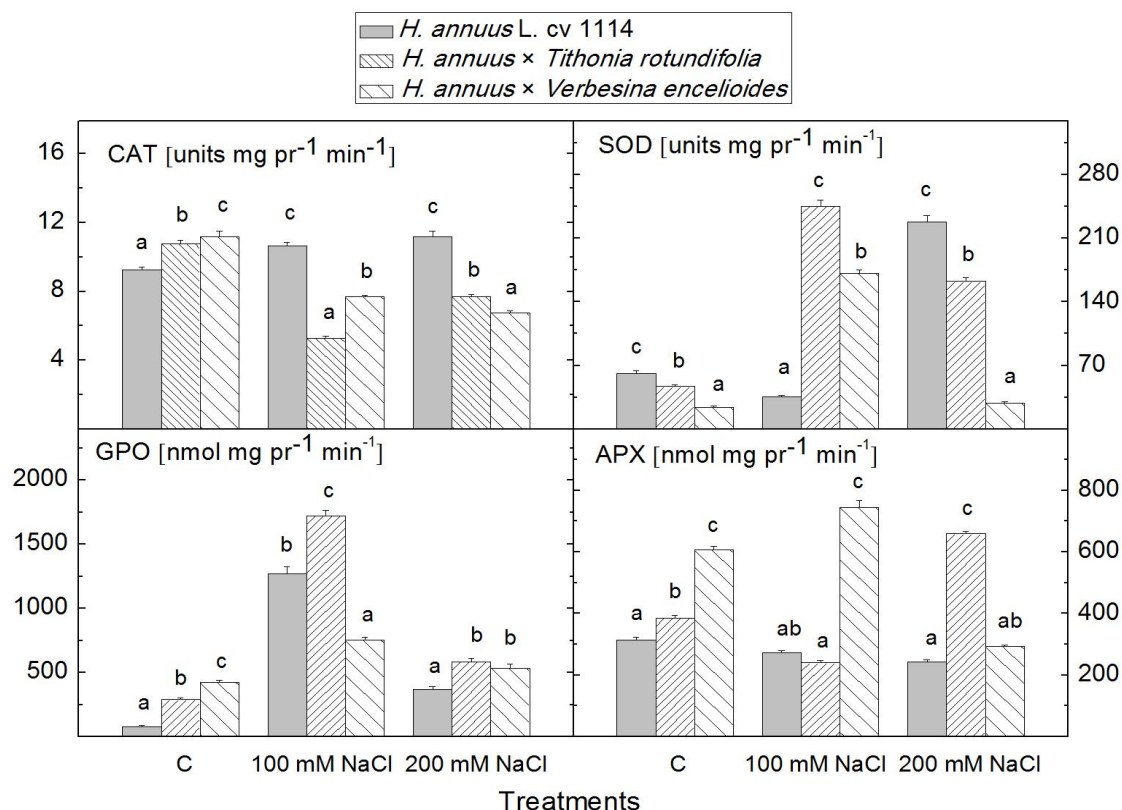


Figure 1. Activity of antioxidant enzymes in the leaves of cultivated sunflower *H. annuus* cv. 1114 and two intergeneric lines *H. annuus* × *Tithonia rotundifolia* and *H. annuus* × *Verbesina encelioides* at different salt concentrations.

Determination of the level of CAT, SOD, GPO, and APX in the three sunflower genotypes after NaCl treatment

Figure 1 shows the effect of salinity stress on the activity of antioxidant enzymes participating in the scavenging of ROS in examined sunflower genotypes. In both intergeneric lines *H. annuus* × *V. encelioides* and *H. annuus* × *T. rotundifolia*, catalase (CAT) activity in the leaves of unstressed plants was significantly higher than in *H. annuus* cv 1114 (Fig. 1). Under salinity conditions CAT activity in *H. annuus* significantly increased. CAT activity, on the other hand, decreased in both intergeneric lines in response to salt stress. Leaf-CAT activity from stressed plants of both lines *H. annuus* × *T. rotundifolia* and *H. annuus* × *V. encelioides* lines was lower than in the control (Figure 1).

SOD that catalyzes the conversion of the superoxide anion to H₂O₂, performs the first step in the removal of ROS (Rout and Shaw, 2001). In the present study, we observed a differential response in SOD activity in the all three sunflower genotypes (Fig. 1). Total SOD activity mostly increased in salt stressed plants; but it was higher in the control treatment in cultivated sunflower than in the intergeneric lines. *H. annuus* cv 1114 exhibited an 4-fold increase in SOD activity at 200 mM NaCl and about 6 and 3.5 increase, respectively, at 100 and 200 mM NaCl in *H. annuus* × *T. rotundifolia*. In *H. annuus* × *V. encelioides*, maximal increase of SOD activity as a result of salt treatment was measured at 100 mM NaCl.

Guaiacol peroxidase (GPO) activity increased under salt stress in all the genotypes (Fig. 1). The greatest increase was established in hybrid line *H. annuus* × *T. rotundifolia* after treatment with 100 mM NaCl (Fig. 1). Ascorbate peroxidase (APX) is another important enzyme that is effective in ascorbate-glutathion cycle. APX activities showed a decrease in cultivated genotype cv 1114 under salt stress (Fig. 1). There was an increase in APX activity in *H. annuus* × *V. encelioides* line at 100 mM NaCl compared with its control level (Figure 1).

Salinity (NaCl) adversely affected the seedling growth parameters of sunflower seedlings. In the present study, the root and shoot length as well as fresh weight were decreased in all three sunflower genotypes subjected to 100 and 200 mM NaCl compared with measurements from control plants. At particular growth stage, sunflower plants grown in saline conditions exhibited water-deficient symptoms: depressed root and shoot length, and root fresh production (Table 1). The deleterious effects of NaCl on these growth characters were caused by osmotic reduction of water absorption (Maas et al., 1977)

and by specific toxic effects of sodium and chloride ions. The results of the current investigation are consistent with the generally accepted idea that osmotic stress reduces growth of plant tissue (Rauf et al. 2012). Similar results were reported in soybean (Hosseini et al., 2002), in wheat (Almansouri et al., 2001, Rauf et al., 2010), in rice (Jamil et al., 2012), in hyacinth (Koksal et al, 2014) and many other species. Growth decreases was attributed to reductions in the shoots and roots length and their fresh weight as significant genetic differences were found among three genotypes. Hybrid line *H. annuus* × *V. encelioides* was found to be the most tolerant to salinity. This finding might suggest the presence of salt tolerance qualities in the wild relative of sunflower, *V. encelioides*, that could lead to an increase in salt tolerance in progeny derived from intergeneric crosses. However, additional data would be required to support this interpretation.

The results obtained on antioxidant enzymes such as CAT, SOD, GPO and APX have shown significant differences among examined genotypes treated with different NaCl concentrations. Increased SOD and GPO were observed, which showed that these were major enzymes in scavenging cellular H₂O₂ (Vranova et al., 2002). Stimulating effect of NaCl on SOD activity has been reported for many other plant species, particularly the salt-tolerant ones (Dionisio-Sese and Tobita, 1998, Rout and Shaw, 2001, Jebara et al., 2005; Kim et al., 2005; Hadiye et al., 2007; Fedina et al., 2009; Zagorchev et al. 2014). The highest GPO activity was recorded in the leaves of *H. annuus* × *T. rotundifolia* (Fig. 1c) where the activity of CAT was low. It might be suggested that in this genotype with increased GPO activity peroxy radicals were accumulated. The CAT activity after treatment with NaCl in different sunflower genotypes decreased as compared to the control treatment. The only exception was genotype *H. annuus* cv 1114 in which the CAT activity slightly increased with the increased NaCl concentration (Fig. 1a). Our results are in agreement with the findings of Lee et al. (2001), who reported that in the rice the activity of CAT generally decreases in response of NaCl treatment. The current data showed that the activity of APX was reduced under salt stress (100 mM) in both genotypes *H. annuus* × *T. rotundifolia* and *H. annuus* cv 1114 but significantly increased in *H. annuus* × *V. encelioides* line (Fig. 1d). However, similarly increased APX level was found in *H. annuus* × *T. rotundifolia* line subjected to 200 mM salt stress. These results could be due to the differences of sunflower genotypes included in the study, as supported by Malenčić et al. (2004), who

reported that sunflower genotypes expressed different antioxidant systems in response of stress treatments.

In conclusion, the data here strongly suggest that a number of physiological and biochemical features of the sunflower plants, such as shoot and root length, fresh weight and the enzymatic antioxidant (CAT, SOD, GPO, and APX) systems are directly affected by the NaCl - mediated stress. Although three genotypes show similar reactions to salinity, the intergeneric hybrid line *H. annuus* × *V. encelioides* was less affected in respect of the growth parameters. With regard to parameters, concerning the antioxidant defense of the stress (SOD, GPO, and APX), intergeneric lines *H. annuus* × *V. encelioides* and *H. annuus* × *T. rotundifolia* indicated better protection to salinity. Current results revealed that salinity induced responses mostly depended on the genetic potential of the plants and therefore, wide hybridization (interspecific and intergeneric) could be consider as an useful tool for creation new sunflower germplasms using as a source of favorable traits the wild *Helianthus* species and species from related generation.

References

- Ahmad, P., Sarwat, M. and Sharma, S. 2008. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *J Plant Biol* 51(3): 167-173.
- Ahmad, P., Jaleel, C.A., Salem, M.A., Nabi, G. and Sharma, S. 2010. Roles of Enzymatic and non-enzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Crit Rev Biotechnol* 30(3): 161-175.
- Ahmad, P. and Prasad, M.N.V. 2012. Environmental adaptations and stress tolerance in plants in the era of climate change. Springer Science + Business Media, New York.
- Akram, N.A. and Ashraf, M. 2011. Improvement in growth, chlorophyll pigments and photosynthetic performance in salt-stressed plants of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by foliar application of 5-aminolevulinic acid. *Agrochimica* 55(2): 94-104.
- Almansouri, M., Kinet J.M. and Lutts, S. 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Plant and Soil* 231(2): 243-254.
- Alscher, R.G., Donahue, J.L. and Cramer, C.L. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. *Physiol Plant* 100(2): 224-233.
- Ashraf, M. and Tufail, M. 1995. Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *J Agron Crop Sci.* 174: 351-362.
- Ashraf, M., Athar, H.R., Harris, P.J.C. and Kwon, T.R. 2008. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Adv Agron* 97: 45-110.
- Beak, K.H. and Skinner, D.Z. 2003. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. *Plant Sci* 65: 1221-1227.
- Beers Jr., R.F. and Sizer, I.W. 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem* 195: 133-140.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the estimation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
- Breton, C., Serieys, H., Berville, A., 2010. Gene transfer from wild *Helianthus* to sunflower: topicalities and limits. *OCL* 27: 104-114.
- Breton, C., Gil, A., Wargnier, J., Serieys, H. and Berville, A. 2012. Transfer of architectural traits from perennial *Helianthus mollis* Lam. to sunflower (*H. annuus* L.) and localization of introgression. *Euphytica* 186: 557-572.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A. and Zhu, J.K. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Sci* 45: 437-448.
- Dionisio-Sese, M.L. and Tobita, S. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Sci* 135 (1), 1-9.
- Faure, N., Serieys, H., Berville, A. and Cazaux, E. 2002. Occurrence of partial hybrids in wide crosses between sunflower (*Helianthus annuus*) and perennial species *H. mollis* and *H. orgyalis*. *Theo. Appl Genet* 104: 652-660.
- Fedina, I.S., Nedeva, D. and Çiçek, N. 2009. Pre-treatment with H₂O₂ induces salt tolerance in barley seedlings. *Biol Plant* 53(2): 321-324.
- Flagella, Z., Giuliani, M.M., Rotunno, T., Di Caterina, R. and De Caro, A. 2004. Effect of saline water on oil yield and quality of a high oleic sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrid. *Europ J Agron* 21 (2): 267-272.
- Gaballah, M.S., Shaaban, S. and Aboelleil, A.A. 2012. The role of antioxidants in improving sunflower cultivars' performance grown under saline conditions. *Intern J Acad Res* 4(6): 33-36.
- Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K. 1977. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol* 59 (2): 309-314.

- Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Bioch* 48: 909-930.
- Hediye, S.A., Türkan, İ. and Takio, S. 2007. Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt tolerant *Plantago maritima* and salt sensitive *Plantago media*. *Physiol Plant* 131 (3): 399-411.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. 1950. The water culture method for growing plants without soil. *Calif Agr Exp Sta Circular* 347: 1-39.
- Hosseini, M.K., Powell, A.A. and Bingham, I.J. 2002. Comparison of the seed germination and early seedling growth of soybean in saline conditions. *Seed Sci Res* 12 (3): 165-172.
- Jamil, M., Bashir, S., Anwar S, Bibi, S., Bangash, A., Ullah, F. and Rha, E.S. 2012. Effect of salinity on physiological and biochemical characteristics of different varieties of rice. *Pak J Bot.* 44: 7-13.
- Jebara, S., Jebara, M., Limam, F. and Aouani, M.E. 2005. Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *J Plant Physiol* 162 (8): 929-936.
- Kantar, M.B., Betts, K., Michno, J.M., Luby, J.J., Morrell, P.L., Hulke, B.S. and Wyse, D.L. 2014. Evaluating an interspecific *Helianthus annuus* × *Helianthus tuberosus* population for use in a perennial sunflower breeding program. *Field Crops Res* 155: 254-264.
- Kaya, Y., 2014. Sunflower. In: Alien Gene Transfer in Crop Plants, Achievements and Impacts, v. 2-Springer, 281-315.
- Kim, S.Y., Lim, J., Park, M.R., Kim, Y.J., Park, T.I., Seo, Y.W. and Yun, S.J. 2005. Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *J Biochem and Mol Biol* 38(2): 218.
- Koksal, N., Kulahlioglu, I., Ertargin, E. and Torun, A.A. 2014. Relationship between salinity stress and ion uptake of hyacinth (*Hyacinthus orientalis*). *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri* 6(6): 578-583.
- Lee, D.H., Kim, Y.S. and Lee, C.B. 2001. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). *J. Plant Physiol.* 158(6): 737-745.
- Maas, E.V. and Hoffman, G.J. 1977. Crop salt tolerance-current assessment. *J of the irrigation and drainage division* 103(2): 115-134.
- Malenčić, D.J., Vasić, D., Popović, M. and Dević, D. 2004. Antioxidant systems in sunflower as affected by oxalic acid. *Biol Plant* 48(2): 243-247.
- Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A. and Cambraia, J. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environ Exper Bot* 49(1): 69-76.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci* 7: 405-410.
- Muralidharudu, Y., Ravishankar, G., Hebbara, M. and Patil, S.G. 1999. Genotypic variation in sunflower (*Helianthus annuus*) for salt tolerance. *Indian J Agric Sci* 69(5); 362-365.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 22: 867-880.
- Plewa, M.J., Smith, S.R. and Wagner, E.D. 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Res* 247: 57-64.
- Rauf, S., Adil, S., Naveed, A. and Munir, H. 2010. Response of wheat species to the contrasting saline regimes. *Pak J Bot* 42: 3039-3045.
- Rauf, S., Shahzad, M., da Silva, J.A.T. and Noorka, I.R. 2012. Biomass partitioning and genetic analyses of salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *J. Crop Sci. and Biotechnol.* 15 (3): 205-217.
- Rönicke, S., Hahn, V., Horn, R., Grone, I., Brahm, L., Schnabl, H. and Friedt, W. 2004. Interspecific hybrids of sunflower as a source of *Sclerotinia* resistance. *Plant Breed* 123: 152-157.
- Rout, N.P. and Shaw, B.P. 2001. Salt tolerance in aquatic macrophytes: possible involvement of the antioxidative enzymes. *Plant Sci.* 160 (3): 415-423.
- Sakamoto, A. and Murata, N. 2002. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. *Plant, Cell & Environ*, 25: 163-171.
- Shahbaz, M. and Zia, B. 2011. Does exogenous application of glycinebetaine through rooting medium alter rice (*Oryza sativa* L.) mineral nutrient status under saline conditions? *J. Appl. Bot. and Food Quality* 84 (1): 54-60.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessaraki, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage and antioxidative defense mechanism in plants under stressful

- conditions. *J Bot Article ID 217037*, pp. 26, doi:10.1155/2012/217037.
- Steduto, P., Albrizio, R., Giorio, P. and Sorrentino, G. 2000. Gas-exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity. *Environ and Exp Bot* 44 (3): 243-255.
- Tuteja, N., Gill S.S. and Tuteja, R. 2012. Front Matter. In *Improving Crop Productivity in Sustainable Agriculture*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany. doi: 10.1002/9783527665334.fmatter
- Urbanek, H., Kuzniak-Gebarowska, E. and Herka, K. 1991. Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. *Acta Physiol Plant* 13: 43–50.
- Vassilevska-Ivanova, R., Tcekova, Z. and Lidansky, T. 1999. Intergeneric hybridization of cultivated sunflower *Helianthus annuus* L. with *Tithonia rotundifolia* Blake. *Compt Rend Acad Bulg Sci* 52 (1-2): 93-96.
- Vassilevska-Ivanova, R., Lidansky, T. and Tcekova, Z. 2000. Observations on the seedling growth in some wild *Helianthus* genotypes. *Compt Rend Acad. Bulg Sci.* 53: 77-80.
- Vassilevska-Ivanova, R. and Tcekova, Z. 2002. An Attempt for Hybridization *Helianthus* × *Verbesina*. *Compt Rend Acad Bulg Sci* 55(9), 99.
- Vassilevska-Ivanova, R., Kraptchev, B., Stancheva, I. and Geneva, M. 2013. A compact sunflower line produced after cross *Helianthus annuus* × *Verbesina encelioides*. *Central European J Biol* 8 (5): 492-498.
- Vassilevska-Ivanova, R., Kraptchev, B., Stancheva, I., Geneva, M., Iliev, I. and Georgiev, G. 2014. Utilization of related wild species (*Echinacea purpurea*) for genetic enhancement of cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Turk J. Agr. and For.* 38(1): 15-22.
- Vranova, E., Inze, D. and Van Breusegem, F. 2002. Signal transduction during oxidative stress. *J Exp Bot* 53: 1227-1236.
- Zagorchev, L., Kamenova, P., Assenov, B., Abumhadi, N., Todorovska, E. and Odjakova, M. 2014. Profile of antioxidant enzymes in two Bulgarian barley cultivars at early growth stage, differing in salt stress response. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri* 6(6): 811-816.

Su Ürünleri Sektörünün Rekabet Gücünün Analizi: Rusya Örneği

¹Güçgeldi BASHIMOV*, ²Ahmet AYDIN

¹Niğde Üniversitesi, SBE İşletme Anabilim Dalı, 51240, Niğde, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi, Finike Meslek Yüksekokulu, Su Ürünleri Programı, 07740, Antalya, Türkiye

*Sorumlu yazar: guyc55@gmail.com

Geliş Tarihi: 07.11.2015

Düzeltilme Geliş Tarihi: 30.06.2016

Kabul Tarihi: 30.06.2016

Özet

Su ürünleri sektörü Rusya'nın ekonomisinde önemli rol oynamaktadır. Su ürünleri sektörü, Rusya için önemli bir gelir ve istihdam kaynağıdır. Bu çalışmanın temel amacı Rusya'nın su ürünleri sektörünün rekabet gücünü analiz etmektir. Çalışmada açıklanmış karşılaştırmalı üstünlükler (AKÜ) ve Lafay indekslerinden yararlanılmıştır. Araştırma 2001-2014 dönemini kapsamakta olup, analiz aşamasında kullanılan veriler Uluslararası Ticaret Merkezi'nin veri tabanından elde edilmiştir. Analiz sonucuna göre Rusya su ürünleri sektöründe karşılaştırmalı dezavantaja sahiptir.

Anahtar kelimeler: Dış ticaret, rekabet, Rusya

A Competitiveness Analysis of Fishery Sector: A Case Study of Russia

Abstract

Fishery sector plays a very important role in Russian economy. It provides income, employment and other contributions to economic development. The objective of this study is to analyze the competitiveness of Russia's fishery sector. In study, Revealed Comparative Advantage (RCA) and Lafay indexes were calculated. The data was obtained from INTRACEN database. The analysis shows that Russia has a comparative disadvantage in fishery sector in during the period 2001-2014.

Key words: Foreign trade, competition, Russia

Giriş

Su ürünleri sektörü üretim, işleme, muhafaza ve taşıma gibi ekonomik faaliyetler sonucu milyonlarca insana istihdam sağlamaktadır. Dünya genelinde su ürünlerinin üretim ve ticaretinin yukarı yönlü bir seyir izlemesi bu sektörde istihdam edilen kişi sayısının artmasına olanak sağlamıştır. 1990 yılından bu yana sektördeki istihdam dünya nüfusundan daha hızlı bir oranda artış göstermiş ve günümüzde 60 milyon kişiye istihdam sağlanmaktadır (FAO, 2014). Bununla birlikte su ürünleri, besleyici özelliği nedeniyle insan sağlığı ve beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Günümüzde su ürünleri sektörü yarattığı istihdam ve gelir hacmi ile tüm dünyada çok büyük ekonomik değere sahip sektörlerden biridir (Turan ve ark., 2006; Anonim, 2013a; Saygı ve ark., 2015).

Su ürünleri sektörü, Rusya gibi zengin su kaynaklarına sahip ülkelerin ekonomisinde önemli rol oynamaktadır. Rusya'nın 12 denize kıyısı olup, toplam kıyı uzunluğu ise 37653 km'dir (Tribiloustova, 2005). Rusya dünya su ürünleri üretiminde önemli bir paya sahip ülkelerden biridir. Sovyetler Birliği zamanında Rusya, su ürünleri üretimi bakımından Çin ve Japonya'dan sonra dünyanın en büyük üçüncü ülkesiydi. Ancak Sovyetler Birliğinin dağılmasıyla birlikte su ürünleri sektörüne gereken önem verilmemiş ve bunun sonucunda da su ürünleri üretimi ve ticareti önemli düzeyde gerilemiştir. Oysa su ürünleri üretimi ve tüketimi ulusal gelirin artırılması ve gıda güvenliğinin sağlanması açısından çok önem arz etmektedir. Günümüzde Rusya dünya su ürünleri üretiminde 7. sırada ve su ürünleri ihracatında ise 11. sırada yer almaktadır (FAO, 2008).

Bu çalışmada Rusya su ürünleri sektörünün rekabet gücü belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmanın ilerleyen bölümlerinde konu ile ilgili çalışmalar, veri seti ve araştırma yöntemi hakkında bilgiler sunulmuştur. Daha sonra Rusya su ürünleri sektörünün mevcut durumu değerlendirilmiştir. Son olarak da Balassa ve Lafay tarafından geliştirilen indeksler yardımıyla su ürünleri sektörünün rekabet gücü analiz edilmiş ve yorumlanmıştır.

Bugün su ürünleri ihracatı birçok ülkenin ekonomik hayatında önemli rol oynamaktadır. Dolayısıyla su ürünleri sektörünün dış ticaret yapısını ve rekabet gücünü belirlemeye yönelik olarak birçok çalışma yapılmıştır. Bu bölümde su ürünleri sektörünün rekabet gücü düzeyini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalardan bazıları hakkında kısa bilgiler sunulmaktadır.

Kijboonchoo ve Kalayanakupt, (2003) çalışmalarında 1982-1998 dönemi için Tayland'ın konserve ton balığı ihracatının küresel piyasadaki karşılaştırmalı üstünlüğünü ortaya koymaya çalışmışlardır. Araştırmada Balassa'nın Açıklanmış Karşılaştırmalı Üstünlükler (AKÜ) indeksini kullanmışlardır. İncelenen dönemde Tayland'ın konserve ton balığı ticaretinde karşılaştırmalı üstünlüğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Polymeros ve ark., (2005) yapmış oldukları çalışmalarında AKÜ indeksini kullanarak Akdeniz ülkelerinden İtalya, Yunanistan, Fransa, İspanya ve Portekiz'in su ürünleri sektöründeki rekabet gücünü analiz etmişlerdir. Araştırma sonucunda söz konusu ülkelerin özellikle taze ve dondurulmuş balık ürünlerinde karşılaştırmalı üstünlüğe sahip oldukları tespit edilmiştir.

Gopal ve ark., (2009) Hindistan balık ihracatının rekabet gücünü Balassa'nın AKÜ indeksi ile Vollrath'ın geliştirdiği indeksleri kullanarak analiz etmişlerdir. Araştırma sonucunda Hindistan'ın balık ihracatında karşılaştırmalı üstünlüğe sahip olmadığı tespit edilmiştir.

Kuldilok ve ark., (2013) Tayland'ın ton balığı ihracatındaki rekabet gücünü analiz etmişlerdir. Çalışmada AKÜ indeksi kullanılmıştır. Araştırma bulgularına göre Tayland'ın ton balığı ihracatında karşılaştırmalı üstünlüğe sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Aydın ve ark., (2014) Karadeniz ülkelerinin (Türkiye, Rusya, Bulgaristan, Gürcistan, Ukrayna ve Romanya) su ürünleri sektöründeki rekabet gücünü AKÜ indeksini kullanarak analiz etmişlerdir. Araştırma sonucunda Karadeniz ülkelerinin su ürünleri sektöründe rekabet gücüne sahip olmadıklarını tespit etmişlerdir.

Rani ve ark., (2014) Hindistan akvaryum endüstrisinin ihracat performansını AKÜ indeksini

kullanarak 1991-2009 dönemi için analiz etmişlerdir. Araştırma bulgularına göre akvaryum balıkçılığına ait AKÜ indeks değeri incelenen dönemde dalgalı bir trend izlemektedir. Analiz bulgularına göre son yıllarda AKÜ indeks değerinde önemli düzeyde bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Çalışmanın verilerini makro düzeydeki ikincil veriler oluşturmaktadır. Çalışmada, Uyumlaştırılmış Mal Tanım ve Kod Sistemi kullanılmıştır. HS 2 haneli ürün sınıflandırması içinde yer alan ve 03 kodlu "Balıklar, kabuklu hayvanlar, yumuşakçalar ve suda yaşayan diğer omurgasız hayvanlar" ürün grubuna ait dış ticaret verileri kullanılmıştır. Su ürünlerine ait dış ticaret verileri Uluslararası Ticaret Merkezi'nin web sitesinden (www.intracen.org.) derlenmiştir. Araştırma 2001-2014 dönemini kapsamaktadır.

Çalışmada, Rusya su ürünleri sektörünün rekabet gücünün belirlenmesinde Balassa tarafından geliştirilen Açıklanmış Karşılaştırmalı Üstünlükler (AKÜ) ve Lafay indeksleri kullanılmıştır. AKÜ indeksi bir ülkenin güçlü ve zayıf ihracatçı sektörlerini belirlemeye yönelik çalışmalarda kullanılmaktadır (Aiginger, 2000). Balassa'nın AKÜ indeksi aşağıdaki şekilde formüle edilmektedir:

$$AKÜ_{ij} = (X_{ij}/X_i)/(X_{wj}/X_w)$$

Burada, X_{ij} i ülkesinin j malı ihracatını, X_i i ülkesinin toplam ihracatını, X_{wj} j malının dünya toplam ihracatını ve X_w toplam dünya ihracatını ifade etmektedir. Eğer indeks değeri birden büyükse o ülkenin ilgili sektörde karşılaştırmalı üstünlüğe sahip olduğu söylenir. Eğer indeks değeri birden az ise ülkenin ilgili sektörde karşılaştırmalı dezavantaja sahip olduğu söylenir (Balassa, 1965).

Rusya su ürünleri sektörünün rekabet gücünün belirlenmesinde kullanılan diğer bir indeks ise Lafay indeksidir. Lafay indeksi şu şekilde formüle edilmektedir (Savin ve Winker, 2009):

$$LFI_{ij} = 100 \left[\frac{X_{ij} - M_{ij}}{X_{ij} + M_{ij}} - \frac{\sum_{j=1}^N (X_{ij} - M_{ij})}{\sum_{j=1}^N (X_{ij} + M_{ij})} \right] \frac{X_{ij} + M_{ij}}{\sum_{j=1}^N (X_{ij} + M_{ij})}$$

Burada X ve M sırasıyla i ülkesinin j malında yaptığı ihracat ve ithalatını, N ise ticarete konu olan malları göstermektedir. Eğer Lafay indeks değeri pozitif (negatif) ise o ülkenin ele alınan mal grubunda karşılaştırmalı avantaja (dezavantaja) sahip olduğu söylenir (Zaghini, 2005).

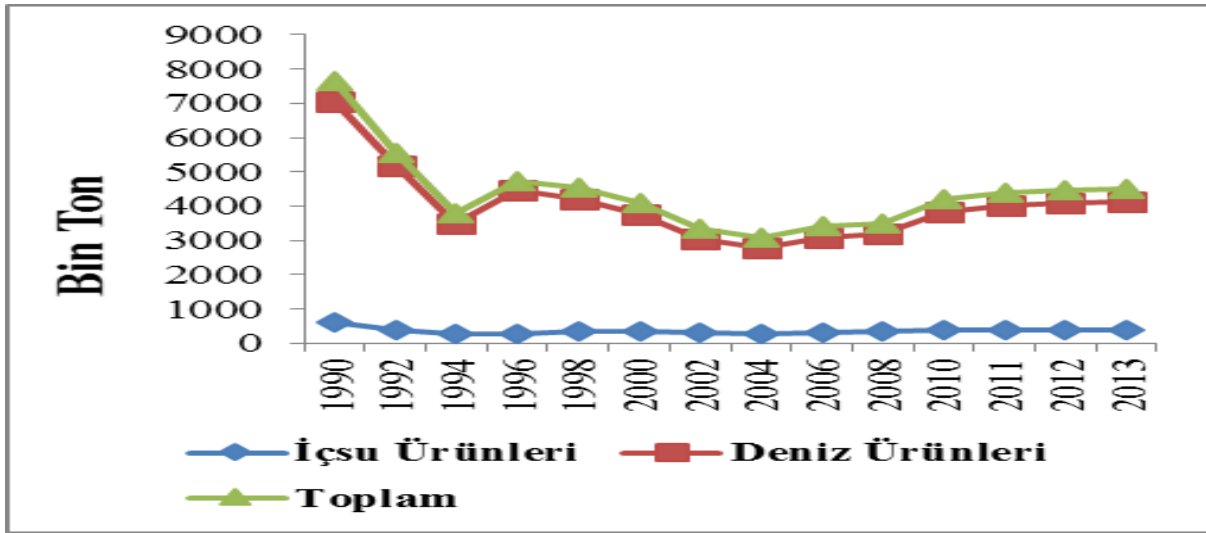
Bulgular ve Tartışma

Rusya su ürünleri sektörünün mevcut durumu

Rusya'nın su ürünleri üretimi 2013 yılı itibarıyla 4.5 milyon tondur. Rusya'da su ürünlerinin %8.7'si iç sulardan ve %91.3'ü ise

denizlerden elde edilmektedir. Rusya'da deniz balıklarının avcılıkla üretiminde %65'lik pay ile en büyük payı Uzakdoğu Havzası almaktadır. Uzakdoğu Havzası Rusya'nın en önemli balık havzasıdır. 2013 yılında Uzakdoğu Havzasında toplam 2.8 milyon ton balık ve diğer deniz ürünleri avcılık yoluyla elde edilmiştir. Ekonomik değere sahip en önemli balık türleri arasında Alaska Mezgiti, Ringa ve Pasifik Somonu bulunmaktadır. Uzakdoğu Havzasından sonra önemli balık havzaları arasında Kuzey Havzası ve Batı Havzası yer almaktadır (Anonim, 2014). Rusya su ürünleri

sektörü açısından ikinci derecede öneme sahip havzalardan biri de Kuzey Havzasıdır. Kuzey Havzasının su ürünleri üretimindeki payı %13'dür. Kuzey Havzasında su ürünleri üretimi 2010-2013 yılları arasında %21 oranında bir artış göstermiştir. Batı Havzasında 2013 yılında 40 bin ton balık avcılık yoluyla elde edilmiştir. Bu miktar bir önceki yıllara karşılaştırıldığında %15 oranında daha azdır. Bununla birlikte Azak-Karadeniz ve Hazar Havzaları da balık avcılığında önemli bir yere sahiptir (Anonim, 2014; Matishov ve ark., 2012).



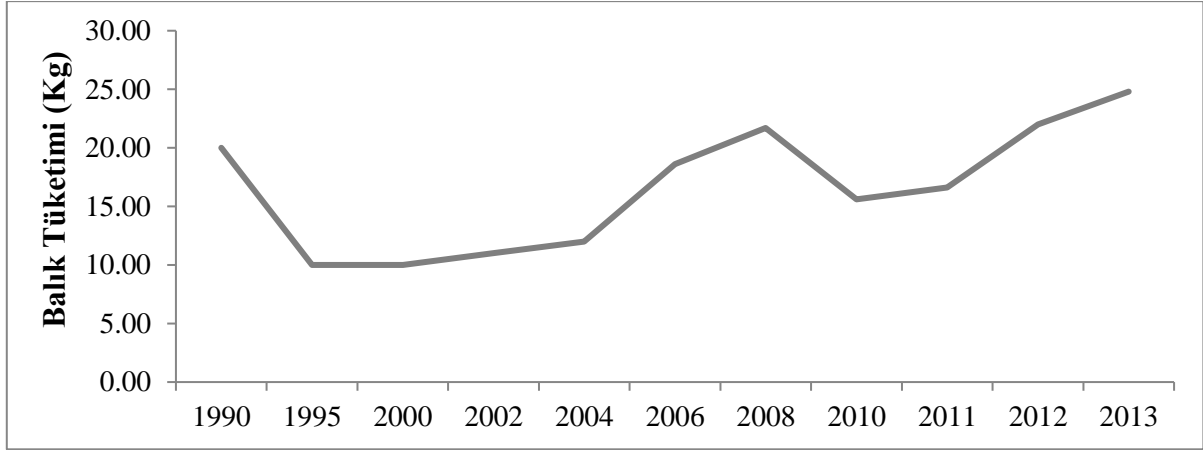
Şekil 1. Rusya'da su ürünleri üretiminin yıllara göre değişimi

Rusya geniş su kaynaklarına sahip olmasına rağmen, son 20 yılda Rusya'nın su ürünleri üretimi önemli düzeyde gerilemiştir. Özellikle Sovyetler Birliği'nin dağılmasıyla birlikte ülkede yaşanan ekonomik, siyasi ve çevresel nedenlerden dolayı su ürünleri üretimi oldukça gerilemiştir. Örneğin, 1990 yılında Rusya'nın toplam su ürünleri üretimi 8 milyon ton civarında iken, 2013 yılında ise bu miktar 4.5 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Yani 1990-2013 döneminde su ürünleri üretimi %41 oranında gerilemiştir (FAO, 2015).

Balık ve diğer deniz ürünleri besleyici özelliği nedeniyle beslenme açısından iyi bir gıda kaynağını oluşturmaktadırlar. Rusya İstatistik Kurumu'nun verilerine göre ülkede kişi başına yıllık ortalama balık tüketimi 24 kg olup, bu ortalama dünya ortalamasından fazladır (19.2 kg). Rusya'da balık tüketim alışkanlığı son on yılda dalgalı bir seyir izlemektedir. Balık fiyatları ve hane halkı geliri balık

tüketim alışkanlığı üzerinde en önemli etkili faktörlerdir. Ülkede en çok tüketilen balık türleri arasında mezgit, ringa, somon, uskumru, alabalık gibi balıklar ilk sırada gelmektedir. Rusya'da balık ve deniz ürünlerinin yaklaşık %90'ı perakende kanalları aracılığıyla satılmaktadır (Anonim, 2013b).

Rusya, dünya su ürünleri üretiminde olduğu gibi su ürünleri ticaretinde de önemli bir paya sahip ülkelerden biridir. Rusya su ürünlerini hem ihraç eden hem de ithal eden bir ülkedir. Bugün Rusya'nın dünya balık ve deniz ürünleri ihracatındaki payı %2.5'dir. Rusya'nın su ürünleri ihracatı 2001 yılında 390 milyon dolar iken, 2014 yılında 2,8 milyar dolara ulaşmıştır. 2001-2014 döneminde su ürünleri ihracatı 6 kattan fazla artış göstermiştir. Rusya su ürünleri ihracatının %65'ini dondurulmuş balıklar oluştururken, %19'unu kabuklu hayvanlar ve %12'sini balık filetoları oluşturmaktadır (INTRACEN, 2015).



Şekil 2. Rusya'da yıllık kişi başına balık tüketimi

Rusya dünyanın önemli bir su ürünleri ihracatçısı iken aynı zamanda da önemli bir ithalatçı ülkesidir. Rusya'nın su ürünleri ithalatı 2001-2014 döneminde yaklaşık olarak 11 kat artış göstererek 210 milyon dolardan 2.5 milyar dolara ulaşmıştır. Rusya su ürünleri ithalatının %75'ini dondurulmuş balıklar, balık filetoları ve kabuklu hayvanlar oluşturmaktadır. İncelenen dönemde Rusya'nın su ürünleri ihracatı sürekli bir artış gösterse de ithalatın hızla artması sonucu su ürünleri dış ticareti 2003-2008 yılları arasında önemli düzeyde bir açık vermiştir. Özellikle küresel ekonomik krizin yaşandığı 2007 ve 2008 yıllarında

Rusya su ürünleri dış ticareti büyük bir açık vermiştir. 2009 yılından itibaren ise dış ticaret dengesinde iyileşme göze çarpmaktadır. Zira su ürünleri ihracatı ithalattan daha hızlı bir artış göstermiştir. Rusya su ürünleri sektörünün en önemli pazarları arasında yakın ve komşu ülkeler olan Kuzey Kore, Çin, Japonya, Beyaz Rusya, Kazakistan gibi ülkeler oluşturmaktadır. Rusya'nın su ürünleri ithalatında önde gelen ülkeler ise Norveç, Çin, Vietnam, Kanada, Beyaz Rusya gibi ülkeler gelmektedir (Romanova ve Tikhonov, 2015).

Çizelge 1. Rusya su ürünleri dış ticareti

Yıl	İhracat (Milyon \$)	İthalat (Milyon \$)	Denge (Milyon \$)
2001	390	209	181
2002	383	312	71
2003	408	411	-3
2004	326	642	-316
2005	456	956	-500
2006	526	1203	-677
2007	517	1730	-1213
2008	471	2029	-1558
2009	1708	1692	16
2010	2156	2012	144
2011	2378	2300	78
2012	2508	2379	129
2013	2819	2863	-44
2014	2827	2518	309

Kaynak: INTRACEN veri tabanı

Su ürünleri sektörünün rekabet gücü

Bu bölümde Rusya su ürünleri sektörünün uluslararası piyasadaki rekabet gücü analiz edilmiştir. Analiz aşamasında AKÜ ve Lafay indeksleri kullanılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 2'de sunulmaktadır. Analiz sonucuna göre 2001-2014 döneminde Rusya su ürünleri sektöründe karşılaştırmalı dezavantaja sahiptir. Rusya'nın su

ürünleri sektörüne ait AKÜ indeks değeri 1'in altında bir değer almaktadır. Bu da Rusya'nın su ürünleri sektöründe rekabet gücüne sahip olmadığını göstermektedir. Su ürünleri sektörüne yönelik hesaplanan Lafay indeks değeri de Rusya'nın su ürünleri sektöründe karşılaştırmalı dezavantaja sahip olduğunu göstermektedir. Analiz sonuçları incelendiğinde 2001-2008 döneminde

Rusya'nın su ürünlerine ait AKÜ indeks değerinde bir azalma görülmektedir. 2009 yılında AKÜ indeks değerinde bir artış görülmekte, ancak 2011 yılından itibaren indeks değerinde azalma gözlemlenmektedir.

Rusya su ürünleri üretim alanları bakımından önemli bir potansiyele sahiptir. Ancak bu potansiyelini yeteri kadar değerlendirememektedir. Özellikle Sovyetler Birliği'nin dağılması ile birlikte başlayan siyasi ve ekonomik krizler sonucu diğer sektörler gibi su ürünleri sektörü de önemli düzeyde gerilemiştir. Su ürünleri sektörünün karşılaştığı önemli sorunlar

arasında ürün kalitesinin düşük olması, üretim teknolojilerinin eski olması, kapasite kullanım oranlarının düşük olması, lojistik altyapı eksiklikleri gibi sorunlar başta gelmektedir. Ayrıca sektördeki paydaşlar arasında görülen iletişim ve koordinasyon eksikliği de su ürünleri sektörünün gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir (Semenova, 2011; Fedorova, 2015). Tüm bunlara rağmen son 10 yılda Rusya'nın su ürünleri üretim ve ihracat performansında önemli bir iyileşme görülmektedir. Rusya son yıllarda katma değeri yüksek ürünlerin üretimini artırarak küresel rekabet ortamındaki konumunu giderek güçlendirmektedir.

Çizelge 2. Su ürünleri sektörüne ait rekabet gücü indeks değerleri

Yıl	AKÜ	LFI
2001	0.57	-0.05
2002	0.53	-0.13
2003	0.48	-0.17
2004	0.31	-0.28
2005	0.34	-0.32
2006	0.33	-0.30
2007	0.30	-0.33
2008	0.22	-0.30
2009	0.99	-0.20
2010	0.99	-0.16
2011	0.87	-0.14
2012	0.90	-0.13
2013	0.95	-0.18
2014	0.96	-0.15

Kaynak: INTRACEN verileri kullanılarak hesaplanmıştır.

Sonuç ve Öneriler

Son 30 yılda dünya su ürünleri ticareti hızlı bir şekilde genişleme göstermiştir. Özellikle Doğu Bloku ülkelerinde uygulanmakta olan sosyalist sistemin parçalanması ile birlikte bu ülkelerde dışa açık liberal politikaların uygulanması küresel su ürünleri ticaretinin gelişmesine yeni bir ivme kazandırmıştır. Su ürünleri sektörü ekonomiye sağladığı katkılarından dolayı tüm ülkelerde sosyo-ekonomik açıdan stratejik bir öneme sahiptir. Özellikle denize kıyısı olan ülkelerde su ürünleri sektörü önemli bir gelir ve geçim kaynağıdır.

Rusya'nın su ürünleri sektörünün uluslararası rekabet gücünün belirlenmesine yönelik yapılan analizin sonucuna göre Rusya'nın su ürünleri sektöründe rekabet gücüne sahip olmadığı anlaşılmaktadır. Ancak incelenen dönemde Rusya'nın su ürünleri sektöründeki rekabet gücünün giderek arttığı görülmektedir. Rusya'nın küresel piyasadaki rekabet gücünün artırılması için katma değeri yüksek ürünlerin ihracattaki payının artırılması, lojistik ve tedarik zincirlerinin etkin hale getirilmesi önem arz etmektedir. Sektörün rekabet gücünün artırılması için ihracata dayalı

devlet teşvik politikalarının etkin bir şekilde uygulanması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Aginger, K. 2000. Specialization of European manufacturing, *Austrian Economic Quarterly*, 2: 81-92.
- Anonim, 2013a. Su Ürünleri ve Balıkçılık Sektör Raporu, ORKA Yayını.
- Anonymous, 2013b. Inside Russia: The fish and seafood trade, Market Indicator Report, Agriculture and Agri-Food Canada.
- Anonim, 2014. Rusya'da ve dünyada su ürünleri yetiştiriciliğinin pazar araştırması, IAC OAO Razvitiye.
- Aydın, A., Byashimov, G. ve Yaykaşlı, M. 2014. Karadeniz ülkelerinin rekabet gücü analizi: su ürünleri sektörü örneği, *Alinteri Zirai Bilimler Dergisi*, 26 (1): 32-37.
- Balassa, B. 1965. Trade liberalisation and "Revealed" comparative advantage, *The Manchester School of Economics and Social Studies*, 33 (2): 99-123.

- INTRACEN, 2015. International Trade Centre Web Page [Erişim: 10.10.2015]
- FAO, 2008. Russian Federation: Review of the Fishery Sector, FAO REPORT SERIES: N.12.
- FAO, 2014. Report highlights growing role of fish in feeding the World, <http://www.fao.org/news/story/en/item/231522/icode/> [Erişim: 29.06.2016]
- FAO, 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations Web Page [Erişim: 12.10.2015]
- Fedorova, V.A. 2015. Possibilities and problems of development of fishing industry in Russia, *International Journal of Applied and Fundamental Research*, 5 (3): 478-482.
- Gopal, N., Jeyanthi, P., Geethalakshmi, V. and Unnithani G.R. 2009. Indian finfish exports-an analysis of export performance and revealed comparative advantage, *Agricultural Economics Research Review*, 22 (2): 291-297.
- Kijboonchoo, T. and Kalayanakupt, K. 2003. Comparative advantage and competitive strength of Thai canned tuna export in the World market: 1982-1998, *ABAC Journal*, 23 (1): 19-33.
- Kuldilok, K.S., Dawson, P.J. and Lingard, J. 2013. The export competitiveness of the tuna industry in Thailand, *British Food Journal*, 115 (3): 328-341.
- Matishov, G.G., Balykin, P.A. and Ponomareva, E.N. 2012. Russia's fishing industry and aquaculture, *Herald of the Russian Academy of Sciences*, 82 (1): 55-62.
- Polymeros, K., Tsakiridou, E. and Mattas, K. 2005. Assessing the competitiveness of EU Mediterranean fisheries and aquaculture industries, European Association of Agricultural Economicists, 95th Seminar, 9-10 Aralık, Roma, İtalya.
- Rani, P., Immanuel, S. and Kumar, N.R. 2014. Ornamental fish exports from India: performance, competitiveness and determinants, *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 1 (4): 85-92.
- Romanova, A.S. and Tikhonov, S.L. 2015. Market analysis of fish and fish products, *Agrarian Bulletin of the Urals*, 1 (131): 80-85.
- Savin, I. and Winker, P. 2009. Forecasting Russian foreign trade comparative advantages in the context of a potential WTO accession, *Central European Journal of Economic Modelling and Econometrics*, Issue: 2: 111-138.
- Saygi, H., Bayhan, B. ve Hekimoğlu, M.A. 2015. Türkiye'nin İzmir ve Ankara İllerinde Su Ürünleri Tüketimi, *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(5): 248-254.
- Semenova, S.A. 2011. Modern Rusya'da balıkçılık sektörü: mevcut durumu, sorunlar ve gelişme imkânları, *Journal of Murmansk State Technical University*, 14 (1): 110-116.
- Tribiloustova, E. 2005. Fishery industry profile-Russia, FAO/GLOBEFISH Research Programme, Vol. 80. Rome.
- Turan, H., Kaya, Y. ve Sönmez, G. 2006. Balık Etinin Besin Değeri ve İnsan Sağlığındaki Yeri, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23 (1/3): 505-508.
- Zaghini, A. 2005 Evolution of trade patterns in the new EU member states, *Economics of Transition*, 13 (4): 629-658.

Akhisar-Gölmarmara Yöresi Bağ Topraklarının Verimlilik Düzeylerinin Belirlenmesi

¹Harun ÇOBAN*, ²Aytekin DEĞİRMENÇİ, ¹Nurdan ZİNCİRCİOĞLU

¹Celal Bayar Üniversitesi, Akhisar Meslek Yüksekokulu, Manisa

²Akhisar Ziraat Odası, Manisa

*Sorumlu yazar: harun.coban@cbu.edu.tr

Geliş Tarihi: 23.11.2015

Düzeltilme Geliş Tarihi: 30.05.2016

Kabul Tarihi: 30.05.2016

Özet

Bu araştırma Akhisar-Gölmarmara yöresi bağ topraklarının verimliliğini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, 0-30 cm ve 30-60 cm olmak üzere iki derinlikten toplam 50 adet toprak örneği alınmıştır. Toprak örneklerinde bazı fiziksel ve kimyasal analizler (pH, toplam tuz (%), CaCO₃ (%), organik madde (%), bünnye, P, K, Ca, Na, Fe, Mn, Zn ve Cu) yapılmıştır. Analiz sonuçları referans değerleriyle karşılaştırılarak toprakların fiziksel ve kimyasal özellikleri ile bağların beslenme durumları incelenmiştir. Yapılan toprak analizi sonucunda pH bakımından hafif alkalin (ortalama değer: 7.49), yörenin eriyebilir toplam tuz (%) açısından tuzsuz (ortalama değer: 0.022), CaCO₃ (%) açısından düşükten kireçli' ye (ortalama değer: 4.17), organik madde (%) açısından çok düşük (ortalama değer: 1.03), toprak bünnyesi olarak kumlu-tınlı yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, toprak analizlerinin sonucu olarak; alınabilir fosfor (ortalama değer: 10.72 ppm) ve potasyum (ortalama değer: 197.62 ppm); kalsiyum (ortalama değer: 2362.5 ppm) ve demir (ortalama değer: 4.075) orta seviyeden yeterli seviyeye ve mangan (ortalama değer: 8.60 ppm) ve çinko (ortalama değer: 0.62 ppm) yetersiz seviyede ve bakır (ortalama değer: 1.515 ppm) aşırı seviyede olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Bağ, toprak verimliliği, makro ve mikro elementler

Determination of Soil Fertility Status of Vineyard in Akhisar-Gölmarmara Districts

Abstract

This investigation was carried out to determine of soil fertility status of vineyard in Akhisar-Gölmarmara districts. For this purpose, the total 50 soil samples were taken from two different depths as 0-30 cm and 30-60 cm. In the soil samples, some physical and chemical analysis (pH, total soluble salt (%), CaCO₃ (%), organic matter (%), texture, P, K, Ca, Na Fe, Mn, Zn, and Cu) were analyzed. The nutritional status of the vineyards were studied by comparing the analysis results of physical and chemical properties of soils with reference values. A general evaluation of the soil samples showed that in terms of samples pH values were slightly alkaline (mean value: 7.49) and in term of total soluble salt (%) the samples were non-saline (mean value: 0.022), in term of CaCO₃ (%) samples varied from low to limy (mean value: 4.17), in terms of organic matter (%) of the samples contained very low (mean value: 1.03) and in term of the soil texture groups; from loamy-sandy were determined. Also, as a result of the soil analysis; it was determined that the content of available phosphorus (mean value: 10.72 ppm), potassium (mean value: 197.62 ppm), calcium (mean value: 2362.5 ppm) and iron (mean value: 4.075 ppm) were generally from medium to sufficient levels, and manganese (mean value: 8.60 ppm), zinc (mean value: 0.62 ppm) were deficient levels, and copper (mean value: 1.515 ppm) were excessive levels.

Key words: Vineyard, soil fertility, macro and micro elements

Giriş

Ülkemiz üretim ve alan bakımından dünyanın önemli bağıcılı ülkeleri arasında yer almaktadır. 2014 yılı verilerine göre ülkemizde 4622959 da bağ alanında toplam 4185126 ton yaş üzüm üretimi

yapılmaktadır. Bu üretimin 2170634 tonu sofralık, 1613833 tonu kurutmalık ve 400659 tonu ise şaraplık olarak değerlendirilmektedir (TÜİK, 2014). Sofralık üretimin büyük bir kısmı, kurutmalık üretimin ise tamamına yakını Ege Bölgesinde

yapılmaktadır. Bölgede en yaygın yetiştirilen üzüm çeşidi Sultani çekirdeksizdir (Çoban, 2002). Sultani çekirdeksiz üzüm yetiştiriciliği Manisa, Denizli ve İzmir illerinde yoğunlaşmış olup, sofralık yaş üzüm ihracatımız 240083 ton'a ulaşmıştır. İller arasında Türkiye bağ alanlarının %15,3'üne, üzüm üretiminin ise %33,8'ine sahip olan Manisa ilinde bağ alanları hızla bir artış göstermekte özellikle Gölarmara ilçesinde bu artış son on yılda % 174 oranında artarak 23200, Akhisar da ise 20000 dekara ulaşmıştır (Anonim, 2016).

Bağcılıkta verim ve kalitenin artırılması; toprak tipine uygun anaç seçimi, hastalık ve zararlılarla mücadele, budama ve sulama gibi teknik ve kültürel önlemlerin yanında, özellikle etkili bir gübreleme programının uygulanması ile sağlanabilir (Viets ve ark., 1973; Winkler ve ark., 1974; Kovancı

ve Atalay, 1977). Gübre programları hazırlanmasının ilk aşamasını topraktaki mevcut besin elementi içeriğinin ortaya konulması çok önemlidir (Konuk ve Çolakoğlu, 1986; Atalay ve Anaç, 1991). Bu açıdan, ülkemiz de birçok kültür bitkilerinin yetiştirildiği bölgelerin beslenme durumlarını ortaya koyan çok sayıda araştırma yapılmıştır (Atalay, 1977, 1978; Brohi ve Aydeniz, 1987; Aktaş ve Karaçal, 1988; İrget ve Atalay, 1992; Aydın ve Çoban, 2002; Çoban, 2008; Özen ve Önder, 2014; Ateş ve Turan, 2015). Ancak Akhisar-Gölarmara ilçelerinin bağ topraklarının beslenme durumlarını ortaya koyan spesifik bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışma, Akhisar-Gölarmara ilçelerinin bağ alanlarının topraklarının kimyasal ve fiziksel özellikleri, bağ toprakların verimlilik durumunu ortaya koymak amacı ile yürütülmüştür.

Çizelge 1. Toprak örneklerinin alındıkları yerler

Akhisar		Gölarmara	
Örnek no	Alındığı merkez	Örnek no	Alındığı merkez
1	Beyoba	13	Merkez
2	Beyoba	14	Merkez
3	Beyoba	15	Merkez
4	Beyoba	16	Merkez
5	Sazoba	17	Kemikdere
6	Sazoba	18	Kemikdere
7	Sazoba	19	Kemikdere
8	Akselendi	20	Tiyenli
9	Akselendi	21	Tiyenli
10	Akselendi	22	Tiyenli
11	Akselendi	23	Deynekler
12	Akselend	24	Deynekler
		25	Deynekler

Materyal

Araştırma materyali bağ tarımının yoğun olarak yapıldığı Manisa'nın Akhisar [Beyoba (4), Sazoba (3), Akselendi (5)] ve Gölarmara [Merkez (4), Kemikdere (3), Tiyenli (3), Deynekler (3)] ilçelerinin Yuvarlak çekirdeksiz üzüm çeşidinin yetiştirildiği 25 farklı bağdan 0-30 cm ve 30-60 cm iki farklı derinlikten alınan toplam 50 adet toprak örneği oluşturmaktadır. Akhisar (38°55'05'', 27°50'15'') ve Gölarmara (38°43'0,0012'', 27°55'0,0048'') ilçelerine ait GPS koordinatlarına olup, toprak örneklerinin alındığı bağların yerleri ve bu bağlarla ilgili bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir.

Yöntem

Araştırmada toprak örnekleri 0-30 ve 30-60 cm olmak üzere iki farklı derinlikten alınmıştır. Jackson (1958)'e göre analize hazır hale getirilen toprak örneklerinde toprak reaksiyonu, Jackson (1962)'e; CaCO₃ Çağlar (1958)'a; organik madde, modifiye edilmiş Walkey Black (1974) yöntemine göre; eriyebilir total tuz ve bünye Soil Survey Staff

(1951)'e göre belirlenmiştir. Toprak örneklerinde alınabilir P, Chapman ve Pratt (1961)'e göre Bingham yöntemiyle, değişebilir K (ppm), Ca (ppm) ve Mg (ppm), Thomas (1982)'a göre 1 N Amonyum Asetat ile ve yarıyıllı mikro elementler, DTPA Lindsay ve Norvel (1978)'in yöntemleri ile elde edilen süzükler, Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrede Kacar (1995)'e göre belirlenmiştir.

Araştırma yöresindeki 25 farklı bağ'dan iki farklı derinlikten (0-30; 30-60 cm) alınan toplam 50 adet toprak örneğine ait sonuçlarda temel tanımlayıcı istatistik analizler uygulanmış, örneklere ait analiz sonuçları sınır değerlerine göre değerlendirilerek, toprak örneklerinin dağılımı ve oranları yüzde olarak hesaplanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Toprakların fiziksel ve kimyasal özellikleri

Alınan toprak örneklerinin bazı kimyasal ve fiziksel ve özelliklerine ilişkin analiz sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Toprak örneklerinin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri

Örn. no	pH		Toplam tuz (%)		CaCO ₃ (%)		Organik madde (%)		Bünye	
	0-30 cm	30-60 cm	0-30 cm	30-60 cm	0-30 cm	30-60 cm	0-30 cm	30-60 cm	0-30 cm	30-60 cm
1	7.5	7.7	0.05	0.03	0.80	0.80	1.01	0.99	Tınlı	Tınlı
2	8.3	8.3	0.02	0.01	2.88	2.16	0.94	0.82	Kumlu	Kumlu
3	7.8	7.7	0.02	0.01	1.65	1.60	1.45	1.20	Tınlı	Tınlı
4	7.1	7.0	0.03	0.02	0.40	0.40	1.09	1.00	Tınlı	Tınlı
5	8.0	8.0	0.02	0.03	6.41	6.00	1.84	1.48	Tınlı	Tınlı
6	7.5	7.3	0.03	0.02	4.81	4.56	1.43	1.35	Tınlı	Tınlı
7	6.9	6.9	0.05	0.04	2.40	2.24	1.10	1.00	Kumlu-Tınlı	Kumlu
8	7.3	7.3	0.01	0.03	1.60	2.80	1.25	0.88	Kumlu	Kumlu-Tınlı
9	7.5	7.5	0.02	0.03	6.00	4.40	1.13	0.91	Kumlu-Tınlı	Tınlı
10	7.6	7.5	0.02	0.02	4.00	3.80	0.50	0.46	Tınlı	Tınlı
11	7.8	7.6	0.02	0.02	4.50	4.15	1.10	1.00	Tınlı	Tınlı
12	7.8	7.8	0.01	0.01	4.80	4.75	0.91	0.88	Tınlı	Tınlı
13	7.7	7.7	0.03	0.03	0.80	0.75	0.90	0.85	Kumlu-Tınlı	Kumlu
14	7.1	7.0	0.02	0.02	0.40	0.40	1.50	1.38	Tınlı	Tınlı
15	7.2	7.2	0.02	0.02	1.20	3.20	1.30	0.90	Tınlı	Tınlı
16	7.2	7.1	0.02	0.01	0.80	2.40	1.80	0.80	Kumlu-Tınlı	Kumlu
17	7.5	7.4	0.05	0.04	0.80	1.90	1.40	1.00	Tınlı	Tınlı
18	7.9	7.7	0.04	0.04	23.24	25.80	1.90	1.55	Tınlı	Tınlı
19	7.7	7.6	0.02	0.02	14.00	16.40	1.00	0.87	Tınlı	Tınlı
20	7.8	7.5	0.01	0.01	2.80	2.70	0.50	0.25	Kumlu	Kumlu
21	7.5	7.5	0.02	0.02	3.70	3.50	0.70	0.45	Kumlu	Kumlu
22	7.4	7.4	0.02	0.03	1.90	2.04	0.90	0.78	Kumlu-Tınlı	Kumlu
23	7.2	7.2	0.00	0.03	2.00	4.80	1.40	0.50	Kumlu	Kumlu
24	7.3	7.3	0.03	0.02	2.30	2.40	1.20	0.65	Tınlı	Tınlı
25	7.4	7.4	0.02	0.01	5.20	5.35	1.00	0.45	Tınlı	Tınlı
Mak.	8.3	8.3	0.05	0.04	23.2	25.8	1.9	1.55	-	-
Min.	6.9	6.9	0.01	0.01	0.4	0.4	0.5	0.25	-	-
Ort.	7.52	7.46	0.024	0.02	3.97	4.37	1.17	0.89	-	-

pH

Alınan toprak örneklerinin her iki derinlik de pH değerleri 6.9-8.3 arasında değişim göstermiştir. Elde edilen bu pH verileri Kacar (1995) göre sınıflandırıldığında; 0-30 cm derinlikten %24'ü nötr (pH:6.6-7.3), %60'ı hafif alkalin (pH:7.4-7.8) ve %16'sı orta alkalin (pH:7.9-8.4); 30-60 cm derinlikten alınan örneklerin ise; %28'i nötr, %60'ı hafif alkalin ve %12'si orta alkalin grubu oluşturduğu gözlenmiştir. Bağcılık için en uygun toprak reaksiyonunun 6-8 arasında değerler olduğunu çok sayıda araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Winkler ve ark., 1974; Vogt ve Götz, 1987; Coombe ve Dry, 1988, Çelik, 1988). Buna göre incelenen toprak örneklerinin genelde belirtilen sınırlar içerisinde olması bu bölgede toprak reaksiyonunun bağ yetiştiriciliği açısından sorun oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Çözünabilir toplam tuz (%)

Örneklemeye yapılan bağ topraklarının çözünabilir toplam tuz kapsamı 0-30 cm

derinlikte %0.01-0.05 arasında, 30-60 cm derinlikte ise %0.01-0.04 arasında değişmektedir. İki derinlikteki çözünabilir toplam tuz içerikleri sorun oluşturan sınır değerinin (<0.15) altında olduğu belirlenmiştir. Bu açıdan ilgili araştırma alanında çözünabilir toplam tuz, bağ yetiştiriciliği açısından probleminin bulunmadığı saptanmıştır. Bu sonuçlar, Aydın ve Çoban (2002), Çoban (2008) ve Özen ve Önder (2014)' araştırmacıların bulgularıyla uyum göstermektedir.

CaCO₃ (%)

0-30 cm derinlikten alınan örneklerde CaCO₃ kapsamı, % 0.4-23.2; 30-60 cm derinlikten alınan örneklerde ise % 0.8-25.8 arasındadır. Evliya (1960) göre, 0-30 cm derinlikteki örneklemeye bağ topraklarında % 52'si kireççe fakir (%CaCO₃<2.5), % 28'i kireçli (CaCO₃:2.5-5.0), % 20'si kireççe zengin (CaCO₃: 5.0-10.0); 30-60 cm derinlikten alınan örneklerde ise; % 40'ı kireççe fakir, % 36'sı kireçli, % 24'ü kireççe zengin olduğu belirlenmiştir. Araştırma yöremizin de yer aldığı Gediz havzası topraklarında

çok sayıda araştırmacı çalışmış kireç bakımından elde ettiğimiz oranlara yakın sonuçlar bulmuşlardır (Atalay, 1978; Atalay ve Anaç, 1991; Aydın ve Çoban, 2002; Çoban, 2008; Özen ve Önder, 2014).

Organik madde (%)

Örnekleme yapılan bağ topraklarının organik madde içerikleri 0-30 cm derinlikte %0.50-1.90 arasında, 30-60 cm derinlikte ise % 0.25-1.55 arasındadır. Her iki derinlikte toprak örneklerinde Walkey (1947)' göre; organik madde % 2'den az olarak belirlendiğinden humusça fakir özelliğe sahiptir. Araştırma alanı içerisindeki bağ topraklarında gübre programlarında organik gübre uygulamalarının gözden kaçırılmaması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Bünye

Bağcılık için en uygun toprak tekstürü kumlu-tınlı ve tınlı olması birçok araştırmacı tarafından ifade edilmiştir (Winkler ve ark., 1974; Çelik, 1988; Çoban, 2008). Araştırmada incelenen toprak örneklerinin her iki derinlikte de kumlu-tınlı ve tınlı bünye ye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu verilere göre, toprak bünyesi açısından araştırma bölgesi bağ topraklarında herhangi bir sorun görülmemektedir. Bölgede bağ alanları her geçen gün artması bu savi desteklemektedir.

Toprakların bazı makro ve mikro element içerikleri

Alınan toprak numunelerinin bazı makro ve mikro element içerikleri Çizelge 3 ve 4'de verilmiştir.

Fosfor (P) (ppm)

Toprak örneklerinin yarıyıllık P kapsamı birinci derinlikte 3.6-45.3 ppm, ikinci derinlikte ise 2.9-39.1 ppm arasında değişmektedir. Toprak örneklerinin alınabilir P kapsamı Fregoni (1984) göre değerlendirildiğinde 0-30 cm derinlikten alınan toprak örneklerinin %36'sının fosforca fakir (2.5-8 ppm); %60'nın yeterli (8-25 ppm), %4'nün yüksek (25-80 ppm) durumda olduğu belirlenmiştir. İkinci derinlikte alınabilir fosfor içerikleri ise daha düşük değerlerdedir.

Potasyum (K) (ppm)

0-30 cm derinlikten alınan bağ topraklarının alınabilir K kapsamı 67-467 ppm, 30-60 cm derinlikten alınan toprakların ise 51-445 ppm arasında değişim göstermektedir. 0-30 cm derinlikteki toprakların %24'ü alınabilir K açısından fakir (50-140 ppm), %68'i yeterli (140-370 ppm), %8'i yüksek (370-1000 ppm) seviyede bulunmuştur (Fregoni, 1984). İkinci derinlikten alınan toprak örneklerinin alınabilir potasyum durumu %44'ü fakir, %52'si yeterli, %4'ü ise yüksek olarak saptanmıştır. Benzer sonuçlar, aynı havza içinde

yapılan araştırma sonuçları ile uyum göstermektedir (Atalay, 1977, 1988; Kovancı ve Atalay, 1977, Çoban, 2008).

Kalsiyum (Ca) (ppm)

Alınan toprak örneklerinin 0-30 cm derinlikte Ca değerleri 2563-4631 ppm arasında değişirken ikinci derinlikte ise 2050-4319 ppm arasında değişmektedir. 0-30 cm derinlikte örneklerin % 60'ı alınabilir. Ca açısından yeterli (1150-3500 ppm), % 40'ı ise çok yüksek (3500-10000 ppm) seviyesindedir (Fregoni, 1984).

30-60 cm derinlikte de benzer değerler olması dikkat çekicidir. Aktaş ve Karaçal (1988)'da Kırıkkale ve Delice ilçeleri bağlarında Ca kapsamının toprak derinliği boyunca belirgin bir değişiklik göstermediğini saptamışlardır.

Demir (Fe) (ppm)

0-30 cm derinlikten alınan toprak örneklerinde alınabilir Fe 2.05-9.23 ppm; 30-60 cm derinlikte ise 1.1-9.23 ppm arasındadır. 0-30 cm derinlikte ki toprakların alınabilir demir kapsamı Lindsay ve Norvel (1978) sınır değerlerine göre sınıflandırıldığında, % 68'i yeterli seviyede (0.2-4.5 ppm), % 32'si yüksek (>4.5) seviyede olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar, İrget ve Atalay (1992), Aydın ve Çoban, (2002) ve Çoban (2008) araştırma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Çinko (Zn) (ppm)

0-30 cm derinlikten alınan örneklerde Zn içeriği 0.97-3.71 ppm; 30-60 cm derinlikte ise 0.76-2.89 ppm arasında değişmektedir. 0-30 cm derinlikten alınan örneklerin % 64'ü Zn açısından noksan (0.2-0.7 ppm), % 36'sı ise yeterli (0.7-2.4 ppm), arasında tespit edilmiştir. 30-60 cm derinlikte ise % 88'i noksan, % 12'i yeterli seviyede bulunmaktadır (Viets ve ark., 1973). Gediz havzası alluvial toprakların besin elementi durumunu inceleyen birçok araştırmacı havza topraklarının çoğunluğunda çinkonun noksan düzeyde olduğunu bildirmişlerdir (Atalay, 1977, 1978; Atalay ve Anaç, 1991, İrget ve Atalay, 1992; Aydın ve Çoban, 2002; Aydın ve ark., 2007, Çoban, 2008).

Mangan (Mn) (ppm)

0-30 cm derinlikten alınan örneklerde Mn içeriği; 2.35-8.76-ppm; 30-60 cm derinlikte ise 2.27-6.23 ppm arasındadır. Mn kapsamı genelde 0-30 cm derinlikte % 48'i (<4 ppm) çok yetersiz, % 52'i (4-14 ppm) yetersiz seviyede olduğu saptanmıştır (Fregoni, 1984). 30-60 cm derinlikte ise % 80'ni çok yetersiz, % 20 'si ise yetersiz olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, Atalay (1977), Atalay ve Anaç (1991), Aydın ve ark., (2007), Çoban (2008), Sönmez ve ark., (2013)'nin araştırma sonuçları ile uyum halindedir.

Bakır (Cu) (ppm)

Örneklerin Cu içerikleri 0-30 cm'de 0.97- 3.71 ppm; 30-60 cm derinlikte ise 0.76-2.89 ppm arasında değişmektedir. Her iki derinlikten alınan toprakların tamamının alınabilir Cu açısından yeterli (>0.2 ppm) olduğu görülmektedir (Viets ve ark.,

1973). Toprakların alınabilir bakır kapsamı genelde 0-30 cm derinlikten 30-60 cm derinliğe doğru düşme göstermiştir. Birçok araştırmacı benzer sonuçları bulmuştur (Atalay, 1977; Atalay ve Anaç, 1991; Aydın ve Çoban, 2002; Çoban, 2008; Sönmez ve ark., 2013).

Çizelge 3. Toprak örneklerinin makro element analiz sonuçları

Örnek no	P (ppm)		K (ppm)		Ca (ppm)	
	0-30 cm	30-60 cm	0-30 cm	30-60 cm	0-30 cm	30-60 cm
1	8.10	20.40	90.0	144.0	4631	3840
2	12.2	7.60	437.0	276.0	4449	4000
3	9.5	8.10	329.0	189.0	3930	3420
4	10.4	9.2	67.0	51.0	3654	2986
5	11.9	10.7	336.0	313.0	2889	2389
6	11.5	10.1	312.0	296.0	2600	2120
7	45.3	39.1	367.0	310.0	2750	2050
8	10.3	6.2	467.0	230.0	3840	3769
9	10.2	35.0	384.0	445.0	4498	4319
10	13.0	12.1	195.0	123.0	2735	2210
11	15.0	14.0	198.0	122.0	2845	2360
12	11.8	10.2	115.0	101.0	4297	4138
13	22.4	20.6	248.0	205.0	3458	2980
14	5.9	4.2	150.0	124.0	3520	2994
15	10.5	5.3	160.0	182.0	3860	3569
16	15.6	7.1	162.0	130.0	2834	2378
17	11.5	8.3	189.0	145.0	2890	2410
18	4.7	2.9	204.0	178.0	3490	3000
19	6.3	5.2	161.0	146.0	2563	2256
20	5.7	4.9	128.0	114.0	3984	3456
21	6.3	5.5	165.0	148.0	2760	2450
22	4.8	3.3	125.0	110.0	3680	3100
23	5.0	4.3	120.0	109.0	3421	2980
24	3.6	2.9	174.0	140.0	3200	2160
25	4.2	3.6	146.0	121.0	3288	2100
Mak.	45.3	39.1	467	445	4631	4319
Min.	3.6	2.9	67	51	2563	2050
Ort.	11.028	10.432	217.16	178.08	1788	2937.36

Sonuç ve Öneriler

Akhisar-Gölmarmara bölgesindeki topraklar bağcılık açısından değerlendirildiğinde; kumlu-tınlı ve tınlı bünye, hafif alkalin pH, orta kireçli ve düşük organik maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, araştırma toprakları orta seviyede fosfor ve potasyum; yeterli seviyede kalsiyum ve demir, aşırı bakır; yetersiz seviyede mangan ve çinko besin elementi içerdikleri saptanmıştır.

Buna göre yöre bağlarında gübreleme programı oluşturulurken analiz sonuçlarına göre oluşturulmalıdır. Özellikle bazı mikro elementler açısından (Zn, Mn) yöre bağlarında ciddi sorunlar ortaya çıkabileceği ve bu eksikliklerin

giderilmesinde yaprak gübrelemenin önemli olduğu görülmektedir. Ancak çoklu-element içeren yaprak gübreleri yerine eksiklik görülen elementlerin yoğun olduğu yaprak gübrelerinin kullanılması önerilir. Ayrıca yöre bağlarında yaygın olan ölü kol ve mildiyö hastalıklarına karşı yoğun olarak bakırlı preparatların kullanılması üzüm ve yörede önemli ticari gelir oluşturan salamuralık asma yaprağı ticaretinde kalıntı sorunu oluşturabilir. Bakırlı preparatların kullanımı azaltma açısından bu hastalıkları önlemede kültürel önlemler (erken kış budaması, yeşil budama gibi) göz ardı edilmemesi gerekir.

Çizelge 4. Toprak örneklerinin mikro element analiz sonuçları

Örnek no	Na (ppm)		Fe (ppm)		Zn (ppm)		Mn (ppm)		Cu (ppm)	
	0-30 cm	30-60 cm	0-30 cm	30-60 cm	0-30 cm	30-60 cm	0-30 cm	30-60 cm	0-30 cm	30-60 cm
1	69	53	9.23	8.02	0.59	1.22	4.40	3.24	1.19	1.54
2	20	17	3.40	1.10	0.45	0.36	2.48	2.29	2.64	0.87
3	24	19	3.36	1.45	0.62	0.55	4.39	3.70	3.29	2.89
4	63	55	5.80	3.20	0.61	0.51	8.76	6.23	1.79	1.34
5	51	43	4.32	4.01	0.64	0.48	4.80	4.50	1.10	0.99
6	56	49	4.14	3.98	0.58	0.46	4.50	3.91	1.21	1.00
7	21	19	4.36	4.10	0.48	0.39	5.30	4.80	3.71	1.54
8	37	21	2.05	1.73	0.44	0.36	3.91	3.65	1.60	0.78
9	110	119	2.16	2.63	1.48	1.42	4.31	3.33	1.54	1.03
10	100	96	2.67	2.05	1.85	1.67	5.20	4.90	1.65	1.27
11	106	97	2.76	2.12	1.35	1.20	4.20	3.87	1.54	1.10
12	15	13	8.44	6.10	0.27	0.15	4.30	3.65	2.99	0.98
13	42	31	7.92	6.98	1.53	1.48	3.61	3.24	0.97	0.76
14	64	47	8.21	7.94	0.34	0.20	2.35	2.27	2.47	1.20
15	41	26	2.12	1.87	0.59	0.38	3.85	3.71	1.32	1.10
16	97	89	2.56	2.10	0.62	0.42	4.14	3.78	1.24	1.12
17	47	34	2.81	2.32	0.46	0.28	3.71	3.47	1.15	0.86
18	56	39	7.25	6.89	1.50	1.32	3.15	2.88	1.86	1.43
19	67	49	5.23	4.87	0.56	0.48	4.28	3.52	1.26	1.12
20	22	19	3.18	1.56	0.52	0.44	2.66	2.45	2.54	1.10
21	55	41	4.45	4.21	0.51	0.34	4.30	3.55	1.98	1.00
22	52	43	5.34	4.61	0.38	0.20	2.56	2.28	1.21	0.85
23	57	45	3.22	1.80	0.44	0.28	2.78	2.38	1.96	1.20
24	58	46	3.88	2.20	1.24	1.10	3.78	3.44	2.20	1.34
25	56	44	4.20	3.10	0.98	0.56	2.86	2.35	1.86	1.24
<i>Mak.</i>	<i>110</i>	<i>119</i>	<i>9.23</i>	<i>8.02</i>	<i>1.85</i>	<i>1.67</i>	<i>8.76</i>	<i>6.23</i>	<i>3.71</i>	<i>2.89</i>
<i>Min.</i>	<i>15</i>	<i>13</i>	<i>2.05</i>	<i>1.1</i>	<i>0.27</i>	<i>0.15</i>	<i>2.35</i>	<i>2.27</i>	<i>0.97</i>	<i>0.76</i>
<i>Ort.</i>	<i>55.44</i>	<i>46.16</i>	<i>4.52</i>	<i>3.64</i>	<i>0.64</i>	<i>0.65</i>	<i>4.02</i>	<i>13.20</i>	<i>1.86</i>	<i>1.19</i>

Kaynaklar

- Atalay, İ.Z. 1977. İzmir ve Manisa bölgesi çekirdeksiz üzüm bağlarında bitki besini olarak azot, fosfor, potasyum, kalsiyum ve magnezyumun toprak-bitki ilişkilerine dair bir araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:345, İzmir, 159 s.
- Atalay, İ.Z. 1978. The petiole and leaf blade relationships for the determination of phosphorus and zinc status of vineyards. *VITIS*, 17: 147-151.
- Atalay, İ.Z. 1988. Relations entre pétiole et limbe de la feuille pour détermination du niveau de P dans des vignes a raisin Sang Pépins Thompson. *Fertilisant et Agriculture*, 97: 15-20.
- Aktaş, M. ve Karaçal, İ. 1988. Kırıkkale ve Delice ilçelerinde Hasan dede çeşidi üzüm yetiştirilen bağların beslenme durumlarının belirlenmesi. *Doğa Tarım ve Ormanlık Dergisi*, 12, (3): 291-304.
- Anonim, 2016. (www.tarim.gov.tr) (Erişim Tarihi: 23.05.2016)
- Atalay, İ.Z. ve Anaç, D. 1991. Salihli bağlarının beslenme durumunun toprak ve bitki analizleri ile incelenmesi. Tübitak Proje No: TOAG-659, 34 s.
- Ateş, K. ve Turan, V. 2015. Bingöl İli Merkez İlçesi Tarım Topraklarının Bazı Özellikleri ve Verimlilik Düzeyleri. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 2: 108-113.
- Aydın, Ş. ve Çoban, H. 2002. Ege Bölgesi'nde Bağların Beslenmesi. Türkiye V. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu Bildirileri, (Cappadocia) Nevşehir, s. 176-182.
- Aydın, Ş. Yağmur, B. Hakerler, H. and Çoban, H. 2007. Effects of Different Types and Levels of Zinc Sulphate Applications in Vineyard (*Vitis vinifera L.*) in a Semi-arid Environment. *Asian Journal of Chemistry*, 19, (1): 555-563.
- Brohi, A.R. ve Aydeniz, A. 1987. Tokat ilinde yetiştirilen narince ve çavuş üzüm

- çeşitlerinin bitki besin kapsam durumu. *Tokat Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3, (1): 27-58.
- Chapman, H.D. and Pratt, P.F. 1961. *Methods of Analysis for Soils, Plant and Waters*. University Of California, Division of Agricultural Sciences, USA, pp. 1-30.
- Coombe, B.G. and Dry, P.R. 1988. Viticulture. "Alınmıştır: Grapevine Nutrition (ed) Robinson J.B. Winetitles, Australia, pp. 178-200.
- Çağlar, K.Ö. 1958. *Toprak Bilgisi*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 10, Ankara. s. 231-238.
- Çelik, S. 1988. *Bağcılık*. Anadolu Matbaa, Tekirdağ, s. 367-380.
- Çoban, H. 2002. Dünyada ve Türkiye’de Çekirdeksiz Kuru Üzümün Genel Durumu ve Manisa. *Celal Bayar Üniversitesi Manisa Araştırmaları Dergisi*, 2: 241-248.
- Çoban, H. 2008. Investigation to Determine Fertility status in A Semi-Arid Environment of Agricultural Areas, Turkey. *RJC Rasayan Journal of Chemistry*, 1 (1): 158-165.
- Evlia, H. 1960. Kültür bitkilerinin beslenmesi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No:36, s. 292-294.
- Fregoni, M. 1984. Nutrient Needs in Wine Production. Nutrient Balances and Fertilizer Needs in Temperate Agriculture. 18th Colloquium of the International Potassium Institute, Bern, pp. 319-332.
- İrget, M. E. ve Atalay, İ. Z. 1992. Menemen Bağlarının Demir, Çinko ve Mangan Durumunun Toprak ve Bitki Analizleri ile İncelenmesi. Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt: 2, İzmir, s. 487-492.
- Jackson, M. L. 1958. Soil chemical analysis. Prentice hall, Inc. Englewood cliff’s. N. J. USA: 498.
- Jackson, M. L. 1962, Soil Chemical Analysis, Prentice Hall of Private Limited, New Delhi, USA.
- Kacar, B. 1995. *Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri I*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları, No:3, Ankara.
- Kovancı, İ. ve Atalay, İ.Z. 1977. Çal Bağlarında Makro Besin Elementi ve Toprak Bitki İlişkileri. *Bitki*, 4, (2): 192-212.
- Konuk, F. ve Çolakoğlu, H. 1986. Gediz Ovası Çekirdeksiz Üzüm Bağlarında Makro Besin Elementleri, Toprak-Bitki İlişkileri ile Bağların Beslenme Durumu. Tarış Araştırma ve Geliştirme Müdürlüğü, Proje No:001, İzmir.
- Lindsay, W.L. and Norvel, W.A. 1978. Development of DTPA Soil Test For Zinc, Iron, Manganase and Copper, *Soil Sci. Soc. of Amer. Journal*, 42; 421-428.
- Özen, M. ve Önder, S. 2014. Ege Bölgesi Bağ Alanlarına Ait Toprakların Bazı Fiziksel Özelliklerinin İncelenmesi. *Türk ve Tarım Doğa Bilimleri Dergisi*, 1: 1101-1102.
- Soil Survey Staff. 1951. *Soil survey manuel*. Agricultural research administration united states department of Agriculture. Handbook, 18, pp. 340-377.
- Sönmez, F. Uyak, C. ve Tüfekçi, Ş. 2013. Siirt ve İlçelerinde Yetiştirilen Yerel Üzüm Çeşitlerinin Beslenme Sorunlarının Yaprak ve Toprak Analizleri ile Belirlenmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3, (3): 73-78.
- Thomas, G.W. 1982. Exchangable Cations, Agronomy Monography, No:9, A.S.A.-S.S.S.A., Madison, Wisconsin, USA, pp. 159-169.
- TUİK, 2014. Bölgesel İstatistikler. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu <http://tuikapp.tuik.gov.tr/Bolgesel/> (Erişim tarihi: 10.08.2014).
- Viets, F.W. Grand, and Lindsay, L. 1973. Testing soils for zine, copper manganese and Iron, "Alınmıştır: *Soil testing and Plant analysis*. (ed) Walsh L.M. and Beaton J.O, Soil Sci. Soc. of Amer. Inc. Madison Wisconsin, USA, pp. 153 - 172.
- Vogt, E. und Götz, B. 1987. *Weinbau*. Verlag Eugen Ulmer, in Germany, pp. 82-85.
- Walkey, B.A. 1974. *An Examination of Methods for Determining Organic Carbon and Nitrogen in Soils*, Agriculture Science, England, pp. 25-30.
- Winkler, A.J. Cook, J.A. Kliewer, W.M. and Lider, L.A. 1974. *General viticulture*. University of California Press, Berkeley, ISBN: 0-520-02591-1, pp. 456-478.

İvesi Koyunlarında Mitokondriyal 16S rRNA Gen Bölgesi Polimorfizmlerinin PCR-RFLP Yöntemiyle İncelenmesi

¹Selahattin KIRAZ*, ²Oğuz AĞYAR

¹Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Şanlıurfa

²Adıyaman Üniversitesi, Kahta Meslek Yüksekokulu, Adıyaman

*Sorumlu yazar: skiraz73@gmail.com

Geliş Tarihi: 28.12.2015

Düzeltilme Geliş Tarihi: 31.03.2016

Kabul Tarihi: 04.04.2016

Özet

İvesi koyunlarının mitokondriyal 16S ribozomal RNA gen polimorfizmi, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak çalışılmıştır. Şanlıurfa'daki İvesi koyunlarından genomik DNA izole edilmiştir. Mitokondriyal 16S ribozomal RNA geninin bir kısmı amplifiye edilmiştir. Amplifiye edilen fragment 1470 bp uzunluğundadır. PCR ürünleri *Sau3AI*, *DdeI*, *DraI*, *Hae III*, *HinfI* kesme enzimleri ile kesilmiştir ve bu enzimlerin kesim paternleri belirlenmiştir. *Sau3AI*, *DdeI* ve *HinfI* kesimleri iki farklı patern göstermiştir (A ve B). PCR-RFLP analizi ile toplam 4 birleşik haplotip sayısı tespit edilmiş olup, popülasyonda haplotip farklılık 0.578 olarak bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: İvesi, mtDNA, 16S rRNA, PCR-RFLP

Investigation of Polymorphism in Mitochondrial 16s rRNA Gene of Awassi Sheep by PCR-RFLP Method

Abstract

The polymorphism of mitochondrial 16S ribosomal RNA gene of Awassi sheeps was studied by using PCR-RFLP method. Genomic DNA was isolated from Awassi sheep in Şanlıurfa. A fragment of mitochondrial 16S ribosomal RNA gene was amplified. The amplified fragment was found 1470 bp. PCR products were digested with *Sau3AI*, *DdeI*, *DraI*, *HaeIII*, *HinfI* restriction enzymes, and its restriction pattern was determined. *Sau3AI*, *DdeI* and *HaeIII* digestions contained two pattern, A and B. RFLP analysis revealed a total of four composite haplotypes. The estimated haplotype diversity within populations was found as 0.578%.

Key words: Awassi, mtDNA, 16S rRNA, PCR-RFLP

Giriş

Türkiye'de 31.140.244 baş koyun varlığı bulunmaktadır (TÜİK, 2014). Türkiye'de üretilen süt miktarının %5.8'i (973 619 ton), et miktarının %10.6'sı (97 344 ton), deri miktarının %55'i koyunlardan (4.541.122 adet) elde edilmektedir (TÜİK, 2012). Türkiye'de İvesi (koyun varlığı içindeki payı: %1.6) önemli bir yerli koyun ırkıdır. İvesi koyunlarının asıl anavatanı ve yayılma alanı Fırat ve Dicle nehirleri arasında kalan Mezopotamya Bölgesidir. Türkiye'de Gaziantep, Şanlıurfa ve Hatay illeri olmak üzere Güneydoğu Anadolu Bölgesine yayılmıştır. Vücut yapısı beyaz yapağı ile örtülüdür. Baş, boyun ve ayaklar kahverengi, kirli sarı yada siyah renklidir (Kaymakçı, 2007).

Ökaryotik hücrelerde nükleusda bulunan DNA'ya ek olarak az miktarda sitoplazmik DNA'ya rastlanmaktadır. Bu sitoplazmik DNA'lar hayvanların mitokondrilerinde bulunmakta olup çift sarmal ve halkasal yapıdadır. Memeli mitokondriyal DNA (mtDNA)'sı 16-19 kb arasında değişmektedir. Koyunlarda (*Ovis aries*) mitokondriyal genom; protein kodlayan 13 bölge (sitokrom c oksidaz kompleksi I, II ve III altbirimleri, ATPaz kompleksi 6 ve 8 altbirimleri, NADH dehidrojenaz 1, 2, 3, 4L, 4, 5 ve 6 ile sitokrom b), 2 ribozomal RNA bölgesi (12S rRNA, 16SrRNA), kontrol bölgesi (D-loop) ve 22 çeşit tRNA bölgelerinden oluşmakta olup 16640 bp uzunluğundadır (Hiendleder ve ark., 1998). mtDNA mutasyon oranı, nükleer DNA'dan 10 kez daha

hızlıdır (Brown ve ark., 1979). mtDNA maternal kalıtım yolu izler, haploiddir, rekombinasyon yoktur (Awise, 1994). Mitokondriyal DNA, populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitlilik ile filogenetik ilişkilerin araştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Nei, 1987; Zhang ve Shi, 1992).

Mitokondriyal DNA (mtDNA) filogenetik ilişkilerin araştırılmasının yanında özellikle 16S rRNA gen bölgesi PCR-RFLP analizi et ve et ürünlerinde tür veya orjinin belirlenmesi çalışmalarında yaygın

olarak kullanılmaktadır (Mitani ve ark., 2009; Sarri ve ark., 2014; Saika ve ark., 2015).

Türkiye, Dünya’da endemik veya lokal bitki ve hayvan türleri bakımından biyoçeşitlilik zengini ülkeler arasında gösterilmektedir. Bununla beraber özellikle yerli hayvan gen kaynaklarımızın genetik çeşitliliği moleküler tekniklerle belirlenmelidir. Çalışmada, Şanlıurfa yöresi ivesi ırkı koyunlarda mitokondriyal 16S rRNA gen bölgesinin polimorfizm PCR-RFLP yöntemi kullanılarak polimorfizm belirlenmeye çalışılmıştır.

Çizelge 1. Kesme enzimleri ve tanıma bölgeleri

Kesme enzimleri	Tanıma bölgeleri	16S rRNA geninde tanıma bölgelerinin pozisyonları
<i>Sau3AI</i>	5'...GATC...3' 3'...CTAG...5'	315, 493, 1240, 1253, 1340, 1407
<i>HaeIII</i>	5'...GGCC...3' 3'...CCGG...5'	513, 912, 980, 1489, 1569
<i>HinfI</i>	5'...GANTC...3' 3'...CTNAG...5'	795, 1301
<i>DraI</i>	5'...TTTAAA...3' 3'...AAAATTT...5'	314, 390, 429, 1197
<i>DdeI</i>	5'...CTNAG...3' 3'...GANTC...5'	236, 1087, 1410

Materyal ve Yöntem

Örnek toplama ve DNA ekstraksiyonu

Araştırmanın hayvan materyalini, Şanlıurfa ve yöresinde yetiştirilen İvesi koyunları oluşturmuştur. Seçilen hayvanların birbirlerine akraba olmamasına dikkat edilmiştir. DNA izolasyonu için 32 koyundan kıl örnekleri toplanmıştır. Kıl örnekleri, doğrudan temas ve kontaminasyonu önlemek için eldivenlerle hayvanların üst sırt kısmından çekilerek toplanmıştır. Her bir hayvan için toplanan kıl örnekleri özel kilitli poşetlere konularak, etiketlenilip laboratuvara ulaştırılincaya kadar muhafaza edilmiştir. Çalışma sahasında ırk tespitinde, Kaymakçı (2007) tarafından belirtilen dış görünüş özellikleri dikkate alınmıştır.

DNA izolasyonu öncesi kıl örnekleri etanol ile temizlenmiştir. Daha sonra fiziksel olarak parçalama için örnekler eppendorf tüpü içerisinde sıvı azot ile dondurularak homojenizatörden geçirilmiştir. Daha sonra örneklerden standart fenol/kloroform yöntemiyle (Sambrook ve ark., 1989) DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA %1’lik agaroz jelde yürütülmüş ve etidiyum bromür ile boyanarak UV ışığı altında DNA’nın varlığı tespit edilmiştir.

PCR-RFLP analizi

Mitokondriyal 16S rRNA gen bölgesini çoğaltmak için gerekli ileri; 5'- CCA AAA TCT CCC ACT CTC CAG -3' ve geri; 5'- CTC TTG TCC TTT CGT ACT GGG -3' primerlerin dizaynı, koyun için referans

sekans (RefSeq: NC_001941) kullanılarak yapılmıştır. PCR reaksiyon karışımı; 1.0 µl kalıp DNA (~50 ng/µl), 5.0 µl 10X PCR buffer, 1.0 µl forward Primer (10 pmol/µl), 1.0 µl reverse Primer (10 pmol/µl), 1.0 µl dNTP mix (1 nM), 1.5U *Taq* polimeraz (5U/µl) ve dH₂O ile toplam karışım 50 µl’ye tamamlanmıştır. PCR reaksiyon şartları; ön denatürasyon için 95 °C’de 4 dakika ve tek döngü, denatürasyon için 94 °C’de 60 sn, yapışma için 59 °C’de 60 sn, uzama için 72 °C’de 2 dakika ve bu aşamalar için 30 döngü, son uzama için 72 °C’de 10 dakika tek döngü olarak ayarlanmıştır.

PCR ürünleri *Sau3AI*, *DdeI*, *DraI*, *HaeIII* ve *HinfI* kesme enzimleri (Çizelge 1) ile kesilmiştir. Kesme reaksiyonu; 1.0 µl enzim, 2.0 µl buffer, 1.0 µl BSA, 3.0 µl PCR ürünü ve 7.0 dH₂O ile toplam karışım 14 µl’ye tamamlanmıştır. Örnekler 37 °C’de bir gece bekletildikten sonra %2’lik agaroz jelde yürütülmüştür.

Verilerin değerlendirilmesi

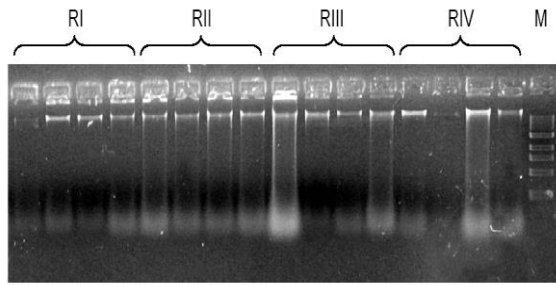
Mitokondriyal 16S rRNA gen bölgesi PCR-RFLP analizleri sonucunda jel görüntüleri değerlendirilerek veri seti oluşturulmuştur. Daha sonra kesim paternleri göz önünde bulundurularak klasik genotiplendirme ile kombine haplotipler belirlenmeye çalışılmıştır. Haplotip frekansları ve haplotip farklılık (*h*: haplotype diversity, Nei, 1987) değerleri belirlenmiştir. Populasyonlar arası Nei’nin (1972) genetik uzaklık değerleri ve UPGMA

dendogramı POPGENE 3.2 (Yeh ve ark., 1987) paket programı kullanılarak belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

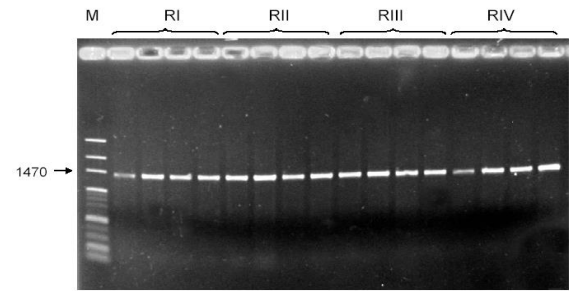
Şanlıurfa yöresindeki İvesi koyunlarından toplanan kıl örneklerinden DNA izole edilmiştir (Şekil 1). DNA örneklerinden PCR ile mitokondriyal 16S ribozomal RNA gen bölgesinin amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 2). Burada 1574 bp uzunluğundaki gen bölgesinin 1470 bp'lik kısmı çoğaltılmıştır.

PCR ile mitokondriyal 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonundan sonra PCR ürünleri



Şekil 1. Koyun DNA'ları, M:marker (1 kb ladder)

Sau3AI, *DdeI*, *DraI*, *HaeIII* ve *HinfI* kesme enzimleri ile kesilmiştir ve ilgili enzimlerin kesim paternleri Şekil 3'te verilmiştir. İlgili enzim bakımından kesim paternlerine göre jel görüntüleri değerlendirilmiştir (A ve B olarak) ve RFLP profiline göre kesim paternleri Çizelge 2'de verilmiştir. Burada sırasıyla, *Sau3AI* enzimi A paterni için 747, 302 ve 178, B paterni için 747, 480, 302 ve 178, *DdeI* enzimi A paterni için 851, 323 ve 224, B paterni için 1470, *DraI* enzimi A paterni için 768, 356 ve 283, *HaeIII* enzimi A paterni için 502, 501 ve 399, *HinfI* enzimi A paterni için 783, 506 ve 181, B paterni için 783, 253, 181 bp uzunluklarında fragmentler gözlenmiştir.



Şekil 2. Mitokodriyal 16S rRNA gen bölgesi, M:marker (100 bp ladder)

Çizelge 2. Kesme enzimleri ile elde edilmiş paternler, fragment büyüklükleri: bp

<i>Sau3AI</i>		<i>DdeI</i>		<i>DraI</i>	<i>HaeIII</i>	<i>HinfI</i>	
A	B	A	B	A	A	A	B
747	747	851	1470	768	502	783	783
302	480	323		356	501	506	253
178	302	224		283	399	181	181
	178						

Çizelge 3. Haplotip kodlar, birleşik haplotipler, bölgelere göre haplotip sayıları ve frekansları, haplotip çeşitliliği

Haplotip kodu	Birleşik haplotipler	Haplotip frekansı %
H1	AAAAA n = 18	56.25
H2	BAAAA n = 2	6.25
H3	AAAAB n = 2	6.25
H4	ABAAA n = 10	31.25
Haplotip çeşitliliği (H)		0.578

Çizelge 4. Haplotipler arası genetik uzaklıklar

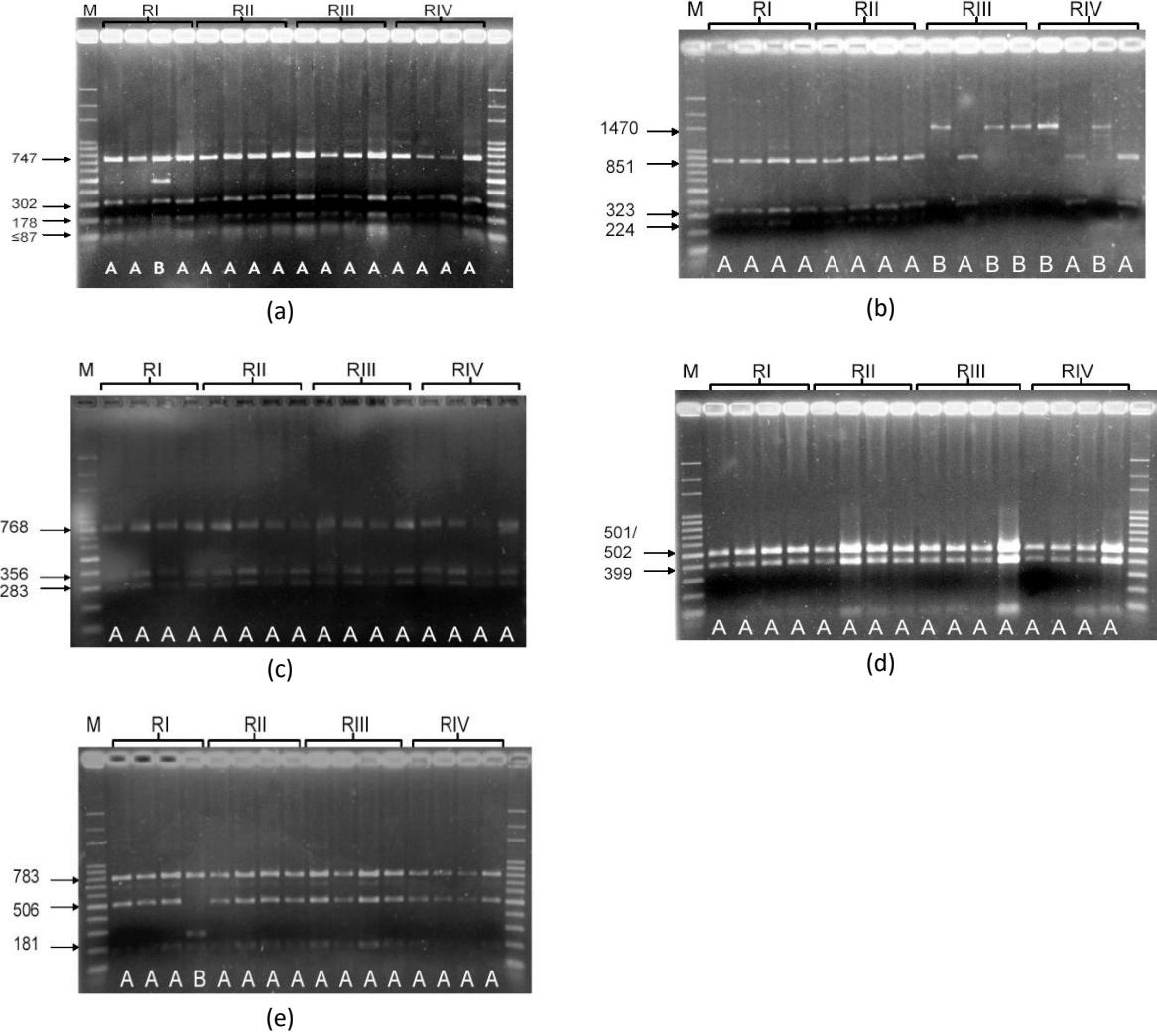
Haplotip	H1	H2	H3
H2	0.0007		
H3	0.0007	0.0014	
H4	0.0020	0.0027	0.0027

PCR-RFLP analizi sonucunda 32 hayvanda 4 birleşik haplotip belirlenmiştir. Haplotip sayıları, haplotip frekansları, gen farklılıkları (gene diversity)

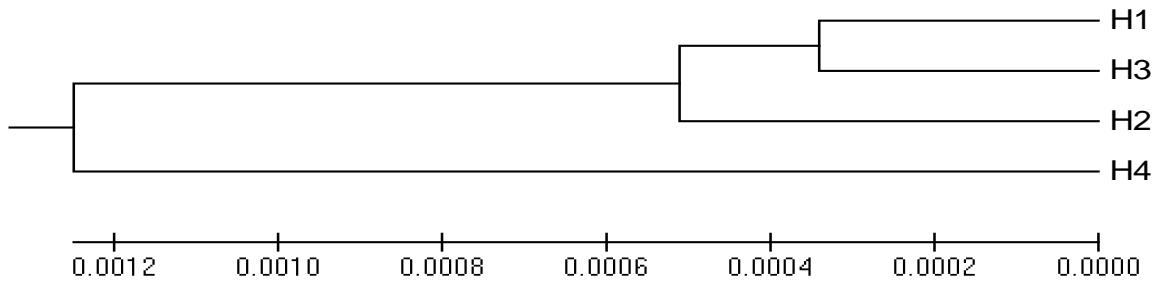
ve haplotip farklılıklar (haplotype diversity) Çizelge 3'te verilmiştir. Çizelge 3'te görüldüğü gibi haplotip çeşitliliği bakımından; AAAAA (%56.25)

haplotipinden 18, BAAAA (%6.25) ve AAAAB (%6.25) haplotipinden 2, ABAAA (%31.25) haplotipinden 10 adet gözlenmiştir. Çizelge 3'te de görüleceği gibi haplotip çeşitliliği 0.578 olarak tespit edilmiştir. İvesi haplotipleri arasında genetik uzaklıklar Çizelge 4'te

verilmiştir. Haplotipler arasında genetik uzaklıklar 0.0007-0.0027 arasında tespit edilmiştir. Ayrıca, genetik uzaklıklara göre oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 3. Mitokondriyal 16S rRNA gen bölgesi (a) *Sau3AI* (b) *DdeI* (c) *DraI* (d) *HaeIII* (e) *HinfI* PCR-RFLP profilleri, M:marker (100 bp ladder)



Şekil 4. İvesi 16S rRNA haplotiplerine ait filogenetik ağaç

Sonuç ve Öneriler

PCR-RFLP yöntemi ile gruplar arasındaki gen ve haplotip farklılık ve genetik uzaklığı saptamak için 5 kesme enzimi kullanılmış ve toplam 4 haplotip gözlenmiştir. Haplotipler arası genetik uzaklık değerleri incelendiğinde İvesilerin genetik olarak birbirlerine yakın oldukları söylenebilir. Bununla birlikte oluşturulan filogenetik ağaç bu durumu desteklemektedir.

Moleküler belirteçler (mtDNA sekanslama veya RFLP varyasyon), populasyonlarda özellikle genetik farklılaşmanın tespit edilmesinde kullanışlı metotlardır (Avice, 2000). Ayrıca, mitokondriyal genom populasyonlarda filogenetik ilişkileri anlamak için büyük veri içerir (Gray ve ark., 1999). Bu nedenle polimorfik bölgelerden alınan veriler ile tespit edilen haplotip bilgileri genetik ilişkileri incelemek için kaynak sağlar. Bu çalışmada *Sau3AI*, *Ddel* ve *Hinfl* enzimleri ile farklı kesim paternlerinin (A, B) görülmesi, 16S rRNA geninin filogenetik çalışmalar için kullanılabileceğinin göstergesi olabilir.

Sonuç olarak, mitokondriyal 16S rRNA gen bölgesi PCR-RFLP analizi ile Şanlıurfa yöresi ivesi koyunlarında polimorfizm belirlenmeye çalışılmıştır. Bununla beraber, İvesi koyunlarında ilgili gen bölgesi bakımından DNA dizi analizleri yapılarak daha spesifik moleküler filogenetik analizler yapılabilir.

Kaynaklar

- Avice, J.C., 1994. *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman & Hall, New York.
- Avice, J.C. 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*, Harvard University Press, Cambridge, USA.
- Brown, W.M., George, M. Jr. and Wilson, A.C. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(4): 1967-1971.
- Gray, M.W., Burger, G. and Lang, B.F. 1999. Mitochondrial evolution, *Science*, 283: 1476-1481.

- Hiendleder, S., Lewalski, H., Wassmuth, R., and Ke, A., 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major ovine haplotype. *Journal of Molecular Evolution*, 47(4): 441-448.
- Kaymakçı, M. 2007. *Koyun yetiştiriciliği El Kitabı*. TİGEM. Ankara.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106: 283-292.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Mitani, T., Akane, A., Tokiyasu, T., Yoshimura, S., Okii, Y., and Yoshida, M. 2009. Identification of animal species using the partial sequences in the mitochondrial 16S rRNA gene. *Legal Medicine*, 11: 49-5450.
- Saikia, D.P. Kalita, D.J., Borah, P., Sarma, S., Nagendra, N.B. and Dutta, R. 2015. Differentiation of sheep and goat species by PCR-RFLP of mitochondrial 16S rRNA gene. *Journal of Animal Research*, 5: 213-217.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., 1989. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Sarri, C., Stamatis, C., Sarafidou, T., Galara, I., Godosopoulos, V., Kolovos, M., Liakou, C., Tastsoglou, S. and Mamuris, Z. 2014. A new set of 16S rRNA universal primers for identification of animal species. *Food Control*, 43: 35-41.
- TUİK, 2012. *Hayvansal üretim istatistikleri*, www.tuik.gov.tr
- TUİK, 2014. *Hayvansal üretim istatistikleri*, www.tuik.gov.tr
- Yeh, F., Yang, R.C. and Boyle, T. 1987. POPGENE (v. 1.32): Microsoft Windows-based freeware for Population Genetic Analysis.
- Zhang Y.P. and Shi L.M. 1992. Mitochondrial DNA polymorphisms in animals: a review. *Zoological Research*, 13 (3): 289-298.

Siyah Alaca Buzağılarda Büyüme Performansı ve Yaşama Gücü

¹Tugay AYAŞAN*, ¹Hatice HIZLI, ¹Ali ASARKAYA, ¹Mehdi A. COŞKUN

¹Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 01321 Adana-Türkiye

*Sorumlu yazar: tayasan@gmail.com

Geliş Tarihi: 25.01.2016

Düzeltilme Geliş Tarihi: 30.05.2016

Kabul Tarihi: 01.06.2016

Özet

Bu çalışma, 2011-2015 yılları arasında Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Hacıali İşletmesinde yetiştirilen Siyah Alaca buzağılarda; buzağılama yılı, buzağılama yaşı, mevsim ve cinsiyetin; doğum, sütten kesim (2.5 ay) ve 6. aydaki canlı ağırlıklara ve yaşama gücüne olan etkisini saptamak için yapılmıştır. Buzağıkların ortalama doğum, sütten kesim ve 6. aylık canlı ağırlıkları sırasıyla 45.11, 93.40 ve 144.86 kg olarak bulunmuştur. Buzağılama yılı, buzağılama yaşı ile cinsiyetin doğum ağırlığı üzerine olan etkisi önemli ($P<0.01$); mevsimin etkisi ise önemsiz bulunmuştur. Sütten kesim ağırlığı üzerine buzağılama yılı, buzağılama yaşı ve mevsimin etkisi önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Buzağıkların 6. ay canlı ağırlıkları üzerine ise buzağılama yılı, buzağılama yaşı ve mevsimin etkisi önemli ($P<0.01$); cinsiyetin etkisi de önemsiz bulunmuştur. Buzağıkların sütten kesimde ve 6. aydaki yaşama gücü oranları sırasıyla %96.34 ve %83.33 olarak bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Siyah alaca, buzağı, performans, yaşama gücü

Growth Performance and Survival Rate Traits in Holstein Calves

Abstract

This study was evaluate body weights and survival rates at birth, weaning (2.5 months of age) and to determine effects of calving year, calving age, season and sex on those traits in Holstein calves raised in East Mediterranean Agricultural Research Institute Hacıali Farm between 2011 and 2015 years. Body weights of calves at birth, weaning and 6 months of age were 45.11, 93.40 and 144.86 kg respectively. The effects of calving year, calving age and sex were significant on birth weight ($P<0.01$); but season did not significant on birth weight. Calving year, calf age and season on weaning age weight were significant ($P<0.01$). The effects of calving year, calving age and season were significant on 6 months of weight of calves ($P<0.01$) but sex was not significant. It was found that survival rates of calves at weaning and 6 months of age were %96.34 and %83.33.

Key words: Holstein, calf, performance, survival rate

Giriş

Süt sığırcılığı işletmelerinde amaç, yılda bir canlı buzağı elde etmek ve buzağı kayıplarının mümkün olduğunca azaltılmasına yönelik çalışmalar yapmaktır. Bunları yaparken de buzağı bakım ve beslenmesine etki eden faktörlerin bir bütün olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Buzağı kayıplarıyla ilgili olarak büyümenin ilk ölçütü olarak doğum ağırlığı ve ona etki eden faktörlerin ele alınması önem arz eder. Çeşitli yazarlar, gerek doğum ağırlığı gerekse de yaşama gücünün cinsiyet, ananın yaşı, ananın vücut ağırlığı, çiftlik, buzağılama mevsimi vb. faktörlerden etkilendiğini

bildirmişlerdir (Kaygısız, 1998; Koçak ve ark. 2007; Bayrıl ve Yılmaz, 2010; Yüceer ve Özbeyaz, 2010).

Aksakal ve Bayram (2009), doğum ağırlığı üzerine etki eden faktörlerin buzağılama yılı, buzağılama mevsimi, çiftlik sistemi (organik veya organik olmayan), buzağıkların cinsiyeti, doğum tipi (tek, ikiz) ve doğum sırası olduğunu ifade ederken; Abera ve ark (2012)'da benzer olarak tropik koşullar altında yetiştirilen buzağıkların büyüme ölçütlerinin; buzağığın genotipi, doğum yılı, bakım ve besleme koşullarından etkilendiğini bildirmişlerdir.

Ayaşan ve ark (2015b), buzağılama yılı, buzağılama yaşı ve cinsiyetin doğum ağırlığı üzerine

olan etkisini önemli ($P<0.01$); mevsimin etkisini ise önemsiz bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar sütten kesim ağırlığı üzerine incelenen tüm faktörlerin etkisini önemli bulurken ($P<0.01$); buzağuların 6.ay canlı ağırlıkları üzerine buzağılama yılı, buzağılama yaşı ve mevsimin etkisini önemli ($P<0.01$); cinsiyetin etkisini ise önemsiz olarak saptamışlardır.

Bayou ve ark (2015), buzağuların büyümesi üzerine genetik olmayan faktörlerin etkisinin önemli olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar hayvanların çok çeşitli stresle (sıcaklık, parazit, hastalık, kötü bakım ve besleme) karşı karşıya kaldıklarını; bunların olumsuz etkilerinin büyüme performansı üzerine etkili olduğunu da ifade etmişlerdir. Yaylak ve ark (2015) ise Siyah Alaca buzağuların canlı ağırlık, canlı ağırlık kazancı ve sütten kesim ağırlığını etkileyen bazı çevresel faktörleri araştırdıkları çalışmalarında; buzağılama yılı, buzağılama ayı, buzağı cinsiyeti, buzağılama yılı*buzağılama ayı arasındaki etkileşimin buzağuların doğum ağırlığı üzerine olan etkisinin oldukça yüksek olduğunu; ortalama buzağı ağırlığının 39.6 ± 0.15 kg olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışma, 2011–2015 yılları arasında Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Hacıali İşletmesinde yetiştirilen Siyah Alaca buzağılarda buzağılama yılının, buzağılama yaşının, mevsimin ve cinsiyetin, doğum, sütten kesim (75.gün) ve 6. ay canlı ağırlıkları ve yaşama gücüne olan etkilerini tespit etmek için yapılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışma, 2011–2015 yılları arasında Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Hacıali İşletmesinde yetiştirilen Siyah Alaca buzağılarda yürütülmüştür. Araştırmada 2011–2015 yılları arasında işletmede doğan 492 baş buzağıya ait veriler kullanılmıştır. Sütten kesimde 474, 6.ay ağırlığının tespitinde ise 410 baş buzağıya ait verilerden faydalanılmıştır.

Buzağular doğar doğmaz tartılmış; doğumu takip eden 3 gün süre ile buzağular analarıyla birlikte tutularak kolostrum almaları sağlanmıştır. 3. günden sonra işletme bahçesinde, açık alanda, kapalı bireysel buzağı kulübelerine alınarak sütten kesim yaşı olan 75.güne kadar bu kulübelerde barındırılmışlardır. Buzağı bölmelerinde *ad libitum* olarak su, kesif yem ve iyi kalite kaba yem (kuru yonca otu) bulundurulmuştur. Buzağılara 75 gün boyunca süt içirme programı uygulanmıştır.

Buzağılara ilk 3 ay buzağı başlangıç yemi (yapısında 2800 kcal/kg ME; en az %18 ham protein içeren yem), 4-6 ay arasında da buzağı büyüme yemi (yapısında 2700 kcal/kg ME; en az %17 ham protein içeren yem) verilmiştir. Sütten kesimden sonra buzağular, işletmede ayrı bir bölmeye konularak, altıncı ayda canlı ağırlıkları alınmıştır.

Yaşama gücü aşağıdaki formüllere göre hazırlanmıştır:

Sütten Kesimde Yaşama Gücü (%)= (Sütten kesimde canlı kalan buzağı sayısı / Toplam canlı doğan buzağı sayısı x 100)

Altıncı Aydaki Yaşama Gücü (%)= (Altıncı aydaki canlı buzağı sayısı / Toplam canlı doğan buzağı sayısı x 100)

İstatistiksel analizler

Araştırmada elde edilen verilerin istatistik analizleri SPSS 16.0 paket programı kullanılarak buzağılama yılı, buzağılama yaşı, buzağılama mevsimi ve cinsiyet parametrelerinin doğum, sütten kesim ve altıncı aylık canlı ağırlık artışlarının dağılımları, ortalamaları ve varyans analizleri GLM prosedürünün multivariate seçeneği ile alt grup ortalamaları arasındaki farklılığın önemlilik kontrolü Duncan çoklu karşılaştırma testiyle, buzağuların sütten kesim ve 6. aylık yaşama gücü oranlarının gruplar arası farklılıkları Ki-kare testi (χ^2) ile analiz edilmiştir (SPSS, 2007).

Bulgular ve Tartışma

Buzağuların doğum, sütten kesim ve 6. ay canlı ağırlıkları

Araştırmada 2011–2015 yılları arasındaki buzağuların doğum ağırlıkları 43.10–47.57 kg arasında değerler almıştır (Çizelge 1). Araştırmada buzağuların ortalama doğum, sütten kesim ve 6. aylık canlı ağırlıkları sırasıyla 45.11, 93.40 ve 144.86 kg olarak saptanmıştır. Bu çalışmada Siyah Alaca buzağuları için tespit edilen doğum ağırlığının (43.10-47.57), kimi literatür bildiriş değerlerinden (Bardakçioğlu, 2001; Ayyılmaz ve Uzmay, 2010; Bayrıl ve Yılmaz, 2010; Kıyıcı ve Tüzemen, 2012; Yaylak ve ark., 2015) daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Buzağuların doğum ağırlıkları bakım, besleme koşulları ile işletmede çalışan araştırmacıların sık sık değişiklik göstermesi nedeniyle farklı değerler almıştır. Kaygısız ve ark (2012) yıllar itibariyle buzağuların doğum ağırlıklarında meydana gelen dalgalanmaların, iklim koşullarının değişikliği ile çayır meraların durumundan kaynaklanabileceğini ifade etmiştir. Sürüler arası farklılık ırk, genotip ile sürü idaresi farklılıklarıdır.

Yapılan bir çalışmada buzağılama yılının buzağı ağırlığı üzerine olan etkisinin önemsiz olduğu ifade edilirken; fetusun prenatal periyotta anneyi korumasına rağmen, anneyi etkileyen çevresel faktörlerin buzağının doğum ağırlığını pozitif veya negatif yönden etkileyebileceği de tespit edilmiştir (Aksakal ve Bayram, 2009). Abera ve ark., (2012)'da buzağuların doğum ağırlıklarının genetik ve çevresel faktörlerden etkilendiğini ifade etmişlerdir. Literatürde gözükten buzağı doğum ağırlığındaki

farklılıklar, ineklerin doğum öncesi bakım ve beslenmelerindeki farklılıklar nedeniyledir.

Yapılan bir başka çalışmada (Doğan (2014), buzağı doğum ağırlıklarını süttan kesim grubuna göre 5. ve 8.haftalarda sırasıyla 43.14 ± 0.90 kg ve 41.75 ± 0.91 kg olarak bildirmiş olup; bu değerler mevcut araştırmadan daha düşük bulunmuştur. Yine Siyah Alaca buzağılarda 3 farklı süttan kesim zamanının (45.gün; 60.gün ve 75.gün) buzağuların canlı ağırlık, canlı ağırlık kazançları, vücut ölçüleri ile süt maliyetine olan etkilerini tespit etmek amacıyla yapılan başka bir çalışmada (Ayaşan ve ark. 2015a), farklı süttan kesim yaşının buzağuların canlı ağırlık, canlı ağırlık kazancını etkilememiş; erken süttan kesimin, buzağuların vücut ölçütleri ile süt maliyeti üzerine olan etkisi ise önemsiz bulunmuştur.

Bu çalışmada buzağılama yılı, buzağılama yaşı ile cinsiyetin doğum ağırlığı üzerine olan etkisi önemli ($P < 0.01$); mevsimin etkisi ise önemsiz bulunmuştur. Buzağuların doğum ağırlığı üzerine buzağılama yaşının istatistiksel olarak etkisi önemli bulunmuştur. Araştırmada buzağılama yaşı arttıkça doğum ağırlığının da 6. yaş haricinde 7.yaşına kadar arttığı; 8.yaştan itibaren de azalış gösterdiği tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Doğum ağırlıkları buzağılama yaşına göre $37.91-48.07$ kg arasında değişim göstermiştir.

Buzağuların doğum ağırlığı üzerine mevsimin etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Araştırmada ilkbahardaki doğum ağırlıkları 45.44 kg olarak bulunurken; bu değer yazın 45.60 kg, sonbaharda 45.11 kg, kışın da 44.29 kg olarak saptanmıştır. Çalışmada yazın doğan buzağuların doğum ağırlıklarının (45.60 kg), diğer mevsimlere göre daha yüksek olduğu da tespit edilmiştir. Bu araştırmada buzağuların doğum ağırlığı üzerine mevsimin etkisinin istatistiksel olarak önemsiz bulunması bir araştırmacının (Bayrıl ve Yılmaz, 2010) bulgusuyla uyum içerisinde bulunmuştur. Buna karşılık Bilgiç ve Alıç (2004)'ün bulgularıyla da uyum içerisinde bulunmamıştır.

Bardakçioğlu (2001), ilkbahardaki doğum ağırlığının (40.54 g) en yüksek; sonbahardaki doğum ağırlığının ise (39.88 g) en düşük olduğunu ifade etmiştir ($P < 0.001$). Aksakal ve Bayram (2009), mevcut çalışmada elde edilen bulguların tersine, kışın doğan buzağuların (43.70 kg) en yüksek canlı ağırlığa, yazın doğan buzağularında en düşük canlı ağırlığa (40.77 kg) sahip olduklarını tespit etmişlerdir ($P < 0.05$). Kaygısız ve ark., (2012), mevsimin doğum ağırlığı üzerine olan etkisini Polatlı işletmesinde önemli bulurken ($P < 0.05$); Tahirova işletmesinde önemsiz bulmuşlardır.

Buzağuların doğum ağırlıkları üzerine cinsiyetin etkisi önemli bulunmuştur. Araştırmada 225 baş dişi buzağının ortalama doğum ağırlığı 43.68 kg; 267 baş erkek buzağının ortalama doğum

ağırlıkları ise 46.54 kg olarak bulunmuştur. Erkek buzağular, dişi buzağılara göre daha ağır bulunmuş olup, bu farklılık, erkek fetusundaki yüksek androjen konsantrasyonu ile ilişkilendirilebilir (Bakır ve ark. 2004). Doğum ağırlıkları üzerine cinsiyetin etkisinin önemsiz bulunduğunu bildiren Bilgiç ve Alıç (2004), dişilerin canlı ağırlıklarını 37.33 kg, erkeklerin ise 36.17 kg olarak tespit etmiştir. Yapılan 2 farklı çalışmada da dişilerin canlı ağırlıkları sırasıyla 41.28 kg, 37.15 kg olarak bulunurken; erkeklerin canlı ağırlıkları da sırasıyla 43.97 ve 38.23 kg olarak ($P < 0.05$) tespit edilmiştir (Aksakal ve Bayram, 2009; Karabulut ve ark. 2012). Abera ve ark., (2012)'da buzağuların doğum ağırlıkları üzerine ırkın ($P < 0.01$), cinsiyetin ($P < 0.01$), yılın ($P < 0.01$) ve doğum sırasının ($P < 0.05$) etkilerinin istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Kaygısız ve ark., (2012), cinsiyetin doğum ağırlığı üzerine olan etkisinin önemli olduğunu bildirirken, erkeklerin doğum ağırlığının ($38.16-39.07$ kg) dişilerden ($36.86-38.30$ kg) daha yüksek çıktığını da ifade etmişlerdir. Yaylak ve ark., (2015), bizim çalışmada bulunan sonuçtan farklı olarak, cinsiyetin doğum ağırlığı üzerine etkisinin önemsiz olduğunu bildirmişlerdir.

Süttan kesim ağırlığı buzağılama yıllarına göre değişiklik göstermiş, yıllar ilerledikçe süttan kesim ağırlıkları da artış göstermiştir. Süttan kesim ağırlığı üzerine buzağılama yaşının etkisi önemli bulunmuştur. Süttan kesim ağırlıkları, buzağılama yaşına göre farklı değerler alırken; en yüksek süttan kesim ağırlığına 7.yaşta ulaşılmıştır (98.15 kg). Süttan kesim ağırlığı üzerine mevsimin etkisi önemli olup, en yüksek süttan kesim ağırlığı ilkbahar ayında gerçekleşirken (97.13 kg); en düşük süttan kesim ağırlığının kış mevsiminde olduğu görülmüştür (89.02 kg).

Süttan kesim ağırlığı üzerine cinsiyetin etkisi önemsiz bulunmuştur. Dişilerin süttan kesim ağırlıkları 93.36 kg, erkeklerin süttan kesim ağırlıkları ise 93.44 kg olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada süttan kesimde saptanan canlı ağırlık ortalaması (93.40 kg); Bayrıl ve Yılmaz (2010)'un, aynı ırkın buzağuları için bildirdiği değerlerden (65.2 kg) yüksek bulunmuştur.

Buzağuların 6.ay canlı ağırlıkları üzerine buzağılama yılı, buzağılama yaşı ve mevsimin etkisi önemli ($P < 0.01$); cinsiyetin etkisi ise önemsiz bulunmuştur. Altıncı ay canlı ağırlıkları buzağılama yılına göre $139.40-156.17$ kg arasında değişim göstermiştir ($P < 0.05$). Çalışmada saptadığımız 6.ay canlı ağırlık ortalaması (144.86 kg); Kıyıcı ve Tüzemen (2012)'nin elde ettiği 124.90 kg'lık değerden yüksek bulunmuştur.

Sonbahar mevsimi (153.21 kg) ile ilkbahar mevsimindeki (143.64 kg) buzağuların 6. ay canlı ağırlıkları diğer 2 mevsime göre daha yüksek

bulunmuştur ($P<0.05$). Ayaşan ve ark. (2015b), sonbahar mevsiminde doğan buzağuların 6.ay canlı ağırlıklarının en yüksek olduğunu bildirirken (153.86 kg); yazın doğan buzağuların 6.ay canlı ağırlıklarının (135.11 kg) en düşük olduğunu ifade etmişlerdir.

Altıncı ay canlı ağırlıkları, dişilerde 144.65 kg; erkeklerde ise 145.07 kg olarak saptanmıştır

($P>0.05$). Kıyıcı ve Tüzemen (2012), 6 aylık yaştaki dişi Siyah Alaca buzağuların canlı ağırlıklarını 117.7 kg; erkek buzağularınınkini ise 128.9 kg olarak tespit etmiştir. Buna karşılık Ayaşan ve ark. (2015b), dişi buzağuların canlı ağırlıklarını 143.88; erkek buzağuların canlı ağırlıklarını ise 147.85 kg ve istatistiksel farksız olarak saptamışlardır.

Çizelge 1. Siyah Alaca buzağularda, buzağılama yılının, buzağılama yaşının, mevsimin ve cinsiyetin doğum, sütten kesim ve 6. ay canlı ağırlıklarına ait ortalamalar, standart hatalar ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	n	Doğum ağırlığı ortalama \pm st. hata		n	Sütten kesim ağırlığı ortalama \pm st. hata		n	6.ay ağırlığı ortalama \pm st. hata	
Genel	492	45.11 \pm 0.223		474	93.40 \pm 0.637		410	144.86 \pm 1.067	
Buzağılama yılı		**			**			**	
2011	68	46.15ab*	\pm 0.530	63	87.44c	\pm 1.705	61	140.52c	\pm 3.430
2012	22	43.64cd	\pm 1.491	21	88.29c	\pm 2.662	21	142.95bc	\pm 6.723
2013	151	43.10d	\pm 0.413	150	90.58c	\pm 0.891	146	139.40c	\pm 1.529
2014	150	45.09bc	\pm 0.384	144	97.38b	\pm 1.117	141	145.26ab	\pm 1.286
2015	101	47.57a	\pm 0.367	96	103.35a	\pm 1.167	41	156.17a	\pm 2.810
Buzağılama yaşı (yıl)		**			**			**	
2	11	37.91c	\pm 1.880	10	91.80b	\pm 3.126	10	147.10ab	\pm 2.608
3	162	43.13b	\pm 0.384	160	90.18b	\pm 1.141	148	137.97b	\pm 1.477
4	173	45.77ab	\pm 0.349	166	95.09ab	\pm 0.914	150	147.35ab	\pm 1.409
5	76	46.67a	\pm 0.506	73	94.84ab	\pm 1.604	45	147.11ab	\pm 4.475
6	30	45.73ab	\pm 0.569	27	90.30b	\pm 2.638	22	141.82ab	\pm 4.751
7	14	48.07a	\pm 0.963	13	98.15a	\pm 3.160	12	149.75a	\pm 6.733
8	16	47.38a	\pm 1.291	15	96.00ab	\pm 3.764	15	148.20ab	\pm 3.462
9	10	46.30a	\pm 1.300	10	90.80b	\pm 5.670	8	139.75ab	\pm 10.647
Mevsim		**			**			**	
İlkbahar	162	45.44	\pm 0.407	156	97.13a	\pm 1.167	101	143.64b	\pm 2.052
Yaz	62	45.60	\pm 0.772	58	91.12b	\pm 1.730	55	139.69b	\pm 2.887
Sonbahar	95	45.11	\pm 0.466	92	96.33a	\pm 0.956	91	153.21a	\pm 1.805
Kış	173	44.29	\pm 0.335	168	89.02b	\pm 1.053	163	142.90b	\pm 1.605
Cinsiyet		**			**			**	
Dişi	225	43.68	\pm 0.343	217	93.36	\pm 0.832	187	144.65	\pm 1.370
Erkek	267	46.54	\pm 0.275	257	93.44	\pm 0.903	223	145.07	\pm 1.460

*a, b, c: Bir etkenin alt gruplarında farklı harfle işaretli ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($P<0.05$).

Buzağuların sütten kesim ve 6. aya ait yaşama güçleri

Yapılan çalışmada sütten kesim dönemindeki yaşama gücünün belirlenmesi için 474; 6.aydaki yaşama gücünün belirlenmesi için de 410 baş Siyah Alaca buzağı kullanılmıştır. Araştırmada 2011–2015 yılları arasında sütten kesimdeki yaşama gücü yıllara göre değişmekle birlikte %96.34 olarak bulunurken; 6.aydaki yaşama gücü oranı %83.33 olarak saptanmıştır (Çizelge 2).

Bardakçıoğlu (2001), erkek buzağuların 15, 30 ve 60.gündeki yaşama güçlerini sırasıyla %91.3, %88.4 ve %86.9 olarak bildirirken; aynı sıra ile dişilerdeki yaşama gücü oranlarını %90.0, %85.7 ve %84.3 olarak belirtmişlerdir. Özçakır ve Bakır (2003), buzağularda 6. aya kadar yaşama gücünü %96.22 olarak bildirmiş olup, elde edilen bu değer,

çalışmada saptanan %83.33 değerinden yüksek bulunmuştur.

Sütten kesimdeki yaşama gücü üzerine cinsiyetin etkisi önemli bulunmuştur. Dişi buzağuların yaşama gücü %96.44; erkek buzağuların yaşama gücü de %96.25 olarak tespit edilmiştir. Yüceer ve Özbeyaz (2010) ise sütten kesimdeki yaşama gücü oranlarını sırasıyla, erkeklerde % 80.00, 85.71 ve 96.67; dişilerde ise % 87.50, 100.00 ve 91.67 olarak saptamışlardır.

6.aydaki yaşama gücü üzerine buzağılama yılının etkisi önemli bulunmuştur. 2011 yılında %89.70 olan yaşama gücü oranı, bakım şartlarının daha da iyileştirilmesi nedeniyle 2013 yılında %96.69; 2014 yılında da %94.00 olmuştur. 2015 yılında doğan 101 buzağının 96 tanesi sütten kesim çağına gelmiş; bu 96 buzağının ancak 41 tanesi

6 aylık çağa ulaşmıştır. Bu nedenle yaşama gücü %40.60 olarak hesaplanmıştır. 2015 yılındaki gerçek yaşama gücünün hesaplanması için 6 aylık çağa

gelen tüm buzağuların sayısının bilinmesi gerekmektedir.

Çizelge 2. Siyah Alaca buzağularda buzağılama yılının, buzağılama yaşının, mevsimin, cinsiyetin süttten kesim ve 6.ay yaşama gücü üzerine etkileri

Faktörler	Doğumda buzağı sayısı (n)	Sütten kesimde buzağı Sayısı (n)	Sütten kesimde yaşama gücü (%)	χ^2	6.Ayda buzağı sayısı (n)	Sütten kesim 6. ay arası ölüm oranı (%)	6.Ayda yaşama gücü (%)	χ^2
Genel	492	474	96.34		410	13.50	83.33	
Buzağılama yılı				**				**
2011	68	63	92.65		61	3.17	89.70	
2012	22	21	95.45		21	0.00	95.45	
2013	151	150	99.34		146	2.66	96.69	
2014	150	144	96.00		141	2.08	94.00	
2015	101	96	95.05		41		40.60	
Buzağılama yaşı (yıl)				**				**
2	11	10	90.91		10	0.00	90.91	
3	162	160	98.77		148	7.50	91.36	
4	173	166	97.59		150	9.63	86.70	
5	76	73	96.05		45	38.36	59.21	
6	30	27	90.00		22	18.52	73.33	
7	14	13	92.86		12	7.69	85.71	
8	16	15	93.75		15	0.00	93.75	
9	10	10	100.00		8	20.00	80.00	
Mevsim				**				**
İlkbahar	162	156	96.39		101	35.26	62.34	
Yaz	62	58	93.55		55	5.17	88.71	
Sonbahar	95	92	96.84		91	1.09	95.79	
Kış	173	168	97.10		163	2.98	94.22	
Cinsiyet				**				**
Dişi	225	217	96.44		187	13.82	83.11	
Erkek	267	257	96.25		223	13.23	83.52	

Mevsimin 6.aydaki yaşama gücü üzerine olan etkisi önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 6.aydaki yaşama gücü oranı en yüksek, sonbahar mevsiminde elde edilmiştir (%95.79). Koçak ve ark. (2007)'nin buzağılama mevsiminin 6.aydaki yaşama gücü oranı üzerine etkisinin önemsiz olduğunu bildirmesi, çalışmada elde edilen bulguya uyuşmamaktadır. Bu çalışmada Siyah Alaca danalar için tespit edilen yaşama gücü oranları, ilgili literatür bildirişlerinden daha düşük bulunmuştur (Özçakır ve Bakır, 2003; Bayrıl ve Yılmaz, 2010). Hossain ve ark. (2014), sonbahar dönemindeki ölüm oranını (%37.98), kış (%33.03) ve yaz dönemlerindeki (%28.99) ölüm oranlarından yüksek olduğunu belirtmiş olup; ölümlerin temel sebebinin solunum yollarında meydana gelen hastalıklar ve tüberküloz olduğunu ifade etmişlerdir. Sütten kesim ve 6.ay arası ölüm oranı incelendiğinde en düşük ölüm oranı sonbahar mevsiminde olmuştur (Çizelge 2).

İşletmede görülen çeşitli hastalıklar yüzünden ölüm oranı 5 ve 6 yaşındaki hayvanlarda yüksek çıkmıştır. Cinsiyetin, 6.aydaki yaşama gücü üzerine olan etkisi önemli bulunmuştur. Ortalama yaşama gücü %83.32 olarak tespit edilmiştir. Yapılan bir araştırmada, bu çalışmada elde edilen bulguya benzer olarak cinsiyetin 6.aydaki yaşama gücü üzerine olan etkisinin önemli olduğu; erkek buzağuların yaşama gücünün %93; dişi buzağuların ise %95 olduğu ifade edilmiştir (Koçak ve ark. 2007).

Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak, mevcut işletme şartlarında, doğan buzağular başarıyla yetiştirilmiş olup, buzağı bakımı ve damızlık seçimi yapılırken, buzağılama yılı, mevsim gibi çevresel faktörler ile cinsiyetin dikkate alınması, doğumların belli mevsimlerde gerçekleşmesi için kızgınlığın senkronizasyonuna dikkat edilmesi gerektiği tespit edilmiştir.

Kaynaklar

- Abera, H., Abegaz, S. and Mekasha, Y. 2012. Influence of non-genetic factors on growth traits of Horro (Zebu) and their crosses with Holstein Friesian and Jersey cattle. *International Journal of Livestock Production*, 3(7): 72-77.
- Aksakal, V. and Bayram, B. 2009. Estimates of genetic and phenotypic parameters for the birth weight of calves of Holstein Friesian cattle reared organically. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(3):568-572.
- Ayaşan, T., Hızlı, H. ve Ünalın, A. 2015a. Farklı sütten kesim yaşının Siyah Alaca buzağlarının canlı ağırlık artışı, vücut ölçütleri ve süt maliyetine olan etkisi. 9.Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, 3-5 Eylül 2015, sayfa 650-658, Konya.
- Ayaşan, T., Hizli, H., Asarkaya, A. ve Coşkun, M.A. 2015b. Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde yetiştirilen Siyah Alaca buzağlarda büyüme performansı ve yaşama gücü. 9. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi Poster Bildiri, 3-5 Eylül 2015, sayfa 718-725, Konya.
- Ayyılmaz, T. ve Uzman, C. 2010. Ekşitilmiş soğuk süt ikame yemi ve kolostrum karışımı ile büyütülen Siyah Alaca buzağlarda büyüme performansı üzerine bir araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi *Dergisi*, 47(3): 291-302.
- Bakır, G., Kaygısız, A. and Ulker, H. 2004. Estimates of genetic and phenotypic parameters weight in Holstein Friesian cattle. *Pak J. Biol. Sci.* 7: 1221-1224.
- Bardakçioğlu, E. 2001. Bireysel kulübelerde barındırılan Holştayn buzağlarının büyüme ve yaşama gücüne ; doğum ağırlığı, cinsiyet ve doğum mevsiminin etkileri. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi *Dergisi*, 27(2): 439-458.
- Bayou, E., Haile, A., Gizaw, S. and Mekasha, Y. 2015. Evaluation of non-genetic factors affecting calf growth, reproductive performance and milk yield of traditionally managed Sheko cattle in Southwest Ethiopia. *Springer Plus*, 4, 568, <http://www.springerplus.com/content/4/1/568>.
- Bayrıl, T. ve Yılmaz, O. 2010. Kazova Vasfi Diren Tarım İşletmesinde yetiştirilen Siyah Alaca buzağlarda büyüme performansı ve yaşama gücü. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21 (3):169-173.
- Bilgiç, N. ve Alıç, D. 2004. Siyah Alaca buzağlarının doğum ağırlıklarına ait genetik ve fenotipik parametre tahminleri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 10(1):72-75.
- Doğan, Z. 2014. Siyah Alaca buzağlarda farklı sütten kesme yaşının büyüme performansı üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Aydın, 2014.
- Hossain, M.M., Islam, M.S., Kamal, A.H.M., Rahman, A.K.M.A. and Cho, H.S. 2014. Dairy cattle mortality in an organized herd in Bangladesh. *Veterinary World*, 7(5): 331-336, 2014. Available at www.veterinaryworld.org/Vol.7/May-2014/12.pdf.
- Karabulut, O., Mundan, D. ve Sehar, Ö. 2012. Siyah Alaca buzağlarda doğum ağırlığının varyans unsurları ve damızlık değerleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(1):28-34.
- Kaygısız, A. 1998. Altındere Tarım İşletmesinde yetiştirilen Esmer ve Sarı Alaca buzağların doğum ağırlıklarına ilişkin genetik ve fenotipik parametre tahminleri. *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 22(6): 527-535.

Beta-Lactoglobulin and Kappa-Casein Gene Polymorphisms in Two Turkish Holstein Cattle Populations in Turkey[‡]

¹Yasemin GEDİK*, ¹Orhan KAVUNCU

¹Ankara University, Agriculture Faculty, Department of Animal Science, Biometry & Genetic Major
06110, Diskapi, Ankara, TURKEY

*Corresponding author: ygedik@agri.ankara.edu.tr

Received: 25.01.2016

Received in Revised Form: 15.05.2016

Accepted: 16.05.2016

Abstract

Milk protein polymorphisms have intensively been studied in order to determine the possible associations between milk protein genotypes and economically important traits in dairy cattle. The purpose of this study was to estimate the allele and genotype frequencies for β -lactoglobulin (β -LG) and κ -casein (κ -CN) genotypes in two Turkish Holstein cattle herds which have been raised in two different region in Turkey. Genomic DNA samples of 167 Holstein cattle (78 from Bala and 89 from Ceylanpinar) were genotyped for β -LG and κ -CN using by PCR-RFLP method. The frequencies of A allele at β -LG locus were calculated 0.51 ± 0.04 and 0.34 ± 0.03 in Bala and Ceylanpinar farms respectively. Chi-square analysis revealed that both populations were in Hardy-Weinberg equilibrium. The frequencies of A allele in κ -CN locus were calculated 0.80 ± 0.03 for Bala and 0.84 ± 0.02 for Ceylanpinar populations. Bala population was in Hardy-Weinberg equilibrium while Ceylanpinar was not.

Key words: PCR-RFLP, milk protein polymorphism, β -lactoglobulin, κ -casein

Türkiye'deki İki Siyah Alaca Populasyonunda Beta-Laktoglobulin ve Kappa-Kazein Gen Polimorfizmi

Özet

Süt sığırlarında ekonomik öneme sahip özellikler ile süt protein genotipleri arasındaki ilişki nedeniyle süt protein polimorfizmi yoğun olarak çalışılmaktadır. Bu çalışmanın amacı Türkiye'de farklı bölgelerdeki iki farklı Siyah Alaca sürüsünde β -laktoglobulin (β -LG) ve κ -kazein (κ -CN) genotiplerinin belirlenerek allel ve genotip frekanslarının tahmin edilmesidir. 167 Siyah Alaca sığırina (78 Bala ve 89 Ceylanpinar) ait genomik DNA örnekleri PCR-RFLP yöntemi kullanılarak β -LG ve κ -CN genotipleri belirlenmiştir. β -LG A allelinin frekansı Bala populasyonunda 0.51 ± 0.04 ve Ceylanpinar populasyonunda 0.34 ± 0.03 olarak hesaplanmıştır. Ki-kare testleri her iki populasyonun da Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu göstermiştir. κ -CN A allelinin frekansı Bala populasyonunda 0.80 ± 0.03 ve Ceylanpinar populasyonunda 0.84 ± 0.02 olarak hesaplanmıştır. Bala populasyonu Hardy-Weinberg dengesindeyken Ceylanpinar populasyonu dengede değildir.

Anahtar kelimeler: PCR-RFLP, süt protein polimorfizmi, β -laktoglobulin, κ -kazein

Introduction

Studies on milk protein genetic variability have been started almost 50 years ago since the detection of bovine β -lactoglobulin (β -LG) main variants A and B by paper electrophoresis (Ashaffenburg & Drewry 1955, 1957). Milk protein genetic polymorphism has received considerable

research interest because of possible associations between milk protein genotypes and economically important traits in dairy cattle. In the last 15 years, a new impulse has been given to investigations, not only for the well-known influence of milk protein variants on milk properties but also

[‡]: This study has produced from thesis of the first author.

because of the availability of new molecular techniques (Ceriotti et al. 2004).

Bovine milk contains six major proteins that can be classified into two groups; caseins (alpha s1-casein, alpha s2-casein, beta-casein, kappa-casein) and whey proteins (beta-lactoglobulin and alpha-lactalbumin). These proteins are controlled by codominant autosomal genes depending on presence different allelic forms according to Mendelian inheritance. All these proteins have been shown to display genetic polymorphisms caused by some mutations such as deletions or substitutions of one or more bases in the nucleotide sequence of the genes. There have been many reports in the literature describing the relations of these polymorphisms or genetic variants to milk yield, milk composition and cheese yield (Ikonen 2000; Martin et al 2002; Strzalkowska et al 2002; Tsiaras et al 2005; Michalcová & Krupová 2007; Hallén et al 2008).

β -LG, the major protein of bovine milk whey, is found in several genetic variants of which A and B are predominant. The gene encoding β -LG has been mapped on chromosome 11 (BTA 11) in cattle. Two amino acid substitutions, Aspartic acid 64 (GAT)→Glycine (G \underline{G} T) and Valine 118 (GTC)→Alanine (G \underline{C} C), distinguish the B from the A variant. At the DNA level both the A→G and the T→C substitutions give rise to restriction fragment length polymorphisms (RFLP) with *Hph*I and *Hae*III restriction sites occurring in DNA coding for the B variant. Earlier studies have shown that A and B variants of β -LG may affect milk composition and properties. β -LG AA genotype cow's milk contains more β -LG, less casein and fat than β -LG BB cow's milks. Some studies showed that milk produced by β -LG BB genotype cows yielded significantly more cheese than that by AA cows. Moreover some researchers reported that in the presence of β -LG B variant increase resistance to mastitis.

κ -casein (κ -CN) plays an important role in preserving the other caseins from precipitation. The treatment of milk with chymosin (rennin) cleaves κ -casein, resulting in curd formation. κ -casein gene has been mapped on chromosome 6 (BTA 6). Two major genetic variants of κ -CN, A and B, have been identified. Variant A has Threonine (A \underline{C} C) and Aspartic acid (GAT) at positions 136 and 148, respectively. In variant B Threonine is substituted by Isoleucine (A \underline{T} C) and Alanine (G \underline{C} T) substitutes into Aspartic acid. These differences result from a single base substitution in κ -CN gene and two alleles may be distinguished by the presence or absence of *Hind*III restriction site. Furthermore, the change in the GAT coding for Aspartic acid at amino acid position 148 abolishes a *Hinf*I site in the B allele. κ -CN B variant have a

favorable and significant effect on both milk and milk protein yield. Relationships between κ -CN B variant and technological properties have also been reported. κ -CN B variant is associated with shorter renneting time of the milk.

The purpose of this study was to determine genotypic and allelic frequencies of β -LG and κ -CN in Holstein cattle populations reared in Turkey.

Material and Method

A total 167 of blood samples were taken from Holstein cattle reared in Bala (78) and Ceylanpinar (89) Agricultural Enterprises were used as the material in the study. Blood samples were collected by puncture of jugular vein into sterile tubes containing Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). Blood samples were stored in a refrigerator at +4 °C until DNA isolation. The DNA was extracted from white blood cells (leukocytes) by Salting out method. The quality of DNA was checked on 1% agarose gel electrophoresis, and the quantity was measured by using a spectrophotometer at A_{260} / A_{280} nm.

Analysis of β -LG genotype

The primers used for amplification of the β -LG gene were described by Wilkins and Kuys (1992), with the following nucleotide sequence: forward primer (5' ACC TGG AGA TCC TGC TGC AGA AAT G 3') and reverse primer (5' CAT CGA TCT TGA ACA CCG CAG GGA T 3').

In order to amplify 961 bp fragment, a total reaction mix of 25 μ l containing 10 X PCR buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.6 mM of each dNTP, 1pM of each primer, 1 U of taq polymerase and 100 ng DNA was subjected to 30 cycles of 94 °C for 1 min, 61 °C for 30 s and 72 °C for 2.5 min in a Thermal Cycler. The PCR product was restricted by adding 2 U of *Hph*I to 10 μ l of the mix and continuing incubation at 37 °C for 1 h. Then the products analyzed by electrophoresis on 2% agarose gels stained with ethidium bromide.

Analysis κ -CN genotype

κ -CN gene variants were identified according to Pinder et al. (1991) and κ -CN gene was amplified using the following primers: 5' GTG CTG AG(T/C) AGG TAT CCT AG 3' and 5' GTA GAG TGC AAC AAC ACT GG 3'.

In order to amplify 874 bp fragment, a total reaction mix of 20 μ l containing 10 X PCR buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM of each dNTP, 1pM of each primer, 1 U of taq polymerase and 100 ng DNA was subjected to 30 cycles of 95 °C for 1 min, 57 °C for 1 min and 74 °C for 3 min in a Thermal Cycler. The PCR product was restricted by adding 2 U of *Hind*III to 10 μ l of the mix and continuing incubation at 37

°C for 1 h. Then the products analyzed by electrophoresis on 2% agarose gels stained with ethidium bromide.

Results and Discussion

Detection of alleles at the β -LG locus by PCR-RFLP

We have amplified a 961 bp region of the β -LG gene from the junction of exon 2 – intron 2 through to the end of exon 3. In this region non-polymorphic *HphI* site is found within intron 2. The polymorphic site within exon 3 is cut by *HphI* in the B but not in the A allele.

All DNA samples gave the expected 961 bp fragment by amplification with no other DNA being visible under these PCR conditions. On digestion with *HphI*, all samples gave the 741 bp constant fragment plus either a 220 bp fragment (A allele) or a 166 and 54 bp (B allele) or a combination of the three (AB) (Figure 1).

Detection of alleles at the κ -CN locus by PCR-RFLP

We have amplified an 874 bp fragment of the exon 4 of κ -CN gene. In the A allele this contains no site for *HindIII*. The B allele is cleaved by *HindIII* into fragments of 521 and 353 bp. Figure 2 shows results of PCR-RFLP for 9 DNA samples from animals of identified genotype. AA homozygotes showed a single band at the same position as uncut PCR products while BB homozygotes two faster running bands and AB heterozygote animals gave all three bands after digestion with *HindIII*.

Statistical analysis

Gene counting method was used to estimate allele and genotype frequencies of β -LG and κ -CN (Nei 1987). The Chi-square (χ^2) test was used to check whether the populations were in Hardy-Weinberg equilibrium or not. Frequencies of genotypes and alleles of β -LG and κ -CN are shown in Table 1. Previous studies are supporting the findings for these allele and genotype frequencies of Holstein cattle populations (Aleandri et al 1990; Sabour et al 1993; Ron et al 1994; Bobe et al 1999; Bonvillani et al 2000; Öner & Elmacı 2006; Hallen et al 2008).

At the β -LG locus, the most common genotype was AB although AA and BB genotypes were determined in both populations in this study.

Approximately half of the cattle had the heterozygous genotype (AB) for the β -LG locus, with a predominance B allele in Ceylanpinar population. The frequencies of A allele at β -LG locus were calculated 0.51 ± 0.04 and 0.34 ± 0.03 in Bala and Ceylanpinar samples respectively. Expected genotypic frequencies were calculated and then compared with observed frequencies. χ^2 values were calculated as 2.54 and 0.009, suggesting that both populations were in Hardy-Weinberg equilibrium (testing at the 0.05 level of significance).

The most common allele was A at κ -CN locus, and AA genotype was more frequent than BB and AB. The frequencies of A allele in κ -CN locus were calculated 0.80 ± 0.03 for Bala and 0.84 ± 0.02 for Ceylanpinar populations. χ^2 value of 0.004 was calculated, suggesting Bala population was in Hardy-Weinberg equilibrium while χ^2 value of 4.372 showed Ceylanpinar population was not in Hardy-Weinberg equilibrium (testing at the 0.05 level of significance). This unexpected result might be, either due to the sampling error or due to the fact that bull gave his sperm to the cows was in a non-random way. However, even if the mating was non-random, one would still expect bias not only one but also both loci from Hardy-Weinberg equilibrium. Therefore, we could infer that the bias from Hardy-Weinberg equilibrium was due to the sampling error.

Conclusions

In this study we have detected the genotypes and polymorphism of β -lactoglobulin and κ -casein proteins for two Holstein populations from different regions of Turkey. Both populations were found to be polymorphic in two loci. PCR-RFLP technique can be used as a fast, accurate, low cost method independent of age and sex for genotyping of milk protein gene, hence, allowing the selection of animals with the favorable genotypes to improve quantitative and qualitative features of milk.

Further studies looking at the relation of the various yield and quality features of milk with the genetic variation in the milk proteins such as β -lactoglobulin and κ -casein could serve as a selection criterion for milk production in breeding programs.

Table 1. Genotype and allele frequencies

Herd	No. of animals	Genotypes						Allele frequencies			
		β -lactoglobulin			κ -casein			β -lactoglobulin		κ -casein	
		AA	BB	AB	AA	BB	AB	A	B	A	B
Bala	78	17	15	46	50	3	25	0.51	0.49	0.80	0.20
Ceylanpinar	89	10	39	40	65	5	19	0.34	0.66	0.84	0.16

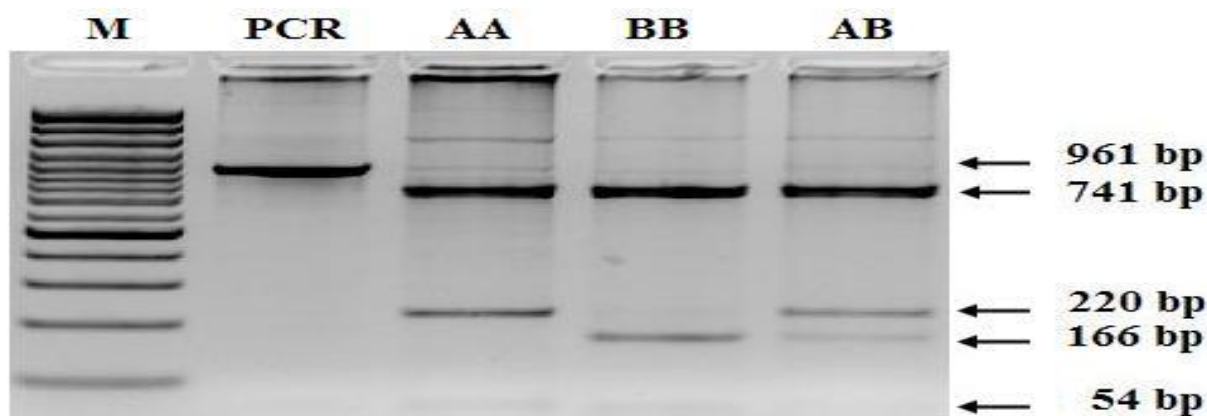


Figure 1. Identification of β -lactoglobulin genotypes on 2% agarose gels by PCR-RFLP (M 100 bp DNA marker)

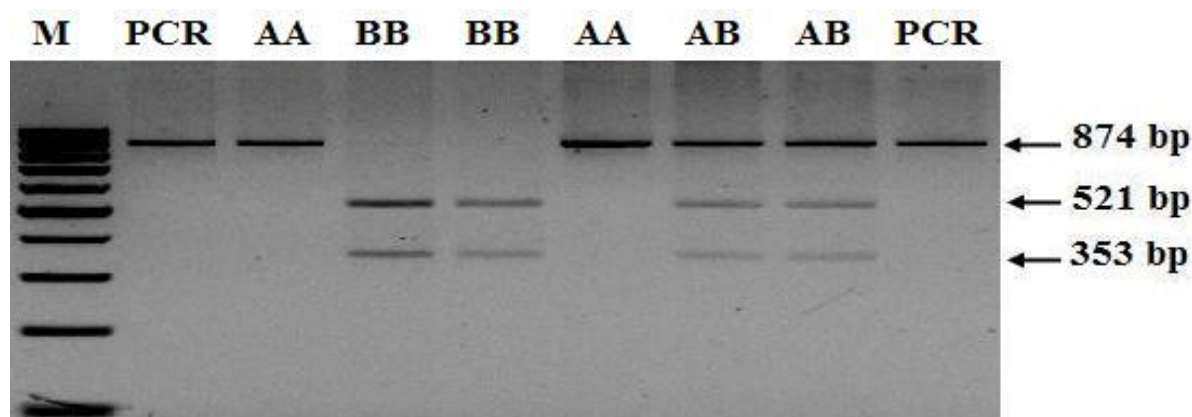


Figure 2. Identification of κ -casein genotypes on 2% agarose gels by PCR-RFLP (M 100 bp DNA marker)

References

- Aleandri, R., Buttazzoni, L.G., Schneider, J.C., Caroli, A. and Davoli, R. 1990. The Effects of Milk Protein Polymorphisms on Milk Components and Cheese-Producing Ability. *Journal of Dairy Science*, 73: 241-255.
- Aschaffenburg, R. and Drewry, J. 1955. Occurrence of different beta-lactoglobulins in cow's milk. *Nature*, 176: 218-219.
- Aschaffenburg, R. and Drewry, J. 1957. Genetics of the β -lactoglobulins of cow's milk. *Nature*, 180: 376-378.
- Bobe, G., Beitz, D.C., Freeman, A.E. and Lindberg, G.L. 1999. Effect of Milk Protein Genotypes on Milk Protein Composition and Its Genetic Parameter Estimates. *Journal of Dairy Science*, 82: 2797-2804.
- Bonvillani, A.G., Di Renzo, M.A. and Tiranti, I.N. 2000. Genetic polymorphism of milk protein loci in Argentinian Holstein cattle. *Genetics and Molecular Biology*, 23 (4): 819-823.
- Ceriotti, G., Marletta, D., Caroli, A. and Erhardt, G. 2004. Milk protein loci polymorphism in taurine (*Bos taurus*) and (*Bos indicus*) populations bred in hot climate. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 121: 404-415.
- Hallén, E., Wedholm, A., Andrén, A. and Lundén, A. 2008. Effect of β -casein, κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on concentration of milk protein variants. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 125: 119-129.
- Ikonen, T. 2000. Possibilities of Genetic Improvement of Milk Coagulation Properties of Dairy Cows. University of Helsinki, Department of Animal Science, Publications, ISBN 952-45-9554-8.
- Martin, P., Szymanowski, M., Zwierzchowski, L. and Leroux, C. 2002. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks. *Reproduction Nutrition Development*, 42: 433-459.
- Michalcová, A. and Krupová, Z. 2007. Influence of composite κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on composition, rennetability and heat stability of milk of cows of Slovak Pied breed. *Czech Journal of Animal Science*, 52 (9): 292-298.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press.
- Öner, Y. and Elmacı, C. 2006. Milk protein polymorphisms in Holstein cattle. *International Journal of Dairy Technology*, 59 (3): 180-182.

- Pinder, S.J., Perry, B.N., Skindmore, C.J. and Savva, D. 1991. Analysis of polymorphism in the bovine casein genes by use of the polymerase chain reaction. *Animal Genetics*, 22: 11-20.
- Ron, M., Yoffe, O., Ezra, E., Medrano J.F. and Weller, J.I. 1994. Determination of Effects of Milk Protein Genotype on Production Traits of Israeli Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 77: 1106-1113
- Sabour, M.P., Lin, C.Y., Keough, A., Mechanda, S.M. and Lee, A.J. 1993. Effects of Selection Practiced on the Frequencies of κ -Casein and β -Lactoglobulin Genotypes in Canadian Artificial Insemination Bulls. *Journal of Dairy Science*, 76: 274-280.
- Strzalkowska, N., Krzyzewski, J., Zwierzchowski, L. and Ryniewicz, Z. 2002. Effects of κ -casein and β -lactoglobulin loci polymorphism, cows' age, stage of lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science Papers and Reports*, 20 (1): 21-35.
- Tsiaras, A.M., Bargouli, G.G., Banos, G. and Boscov, C.M. 2005. Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 88: 327-334.
- Wilkins, R.J. and Kuys, Y.M. 1992. Rapid β -lactoglobulin genotyping of cattle using the polymerase chain reaction. *Animal Genetics*, 23: 175-178.

***Capoeta umbla* (Heckel, 1843) Böbrek Dokusundan Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz Enziminin Safılaştırılması ve Bazı Antibiyotiklerin Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi**

¹Muammer KIRICI*, ²Muhammed ATAMANALP

¹Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, 12000, Bingöl, Türkiye

²Atatürk Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye

*Sorumlu yazar: muammerkirici@hotmail.com

Geliş Tarihi: 18.05.2016

Düzeltilme Geliş Tarihi: 21.06.2016

Kabul Tarihi: 21.06.2016

Özet

Bu çalışmada, metabolizma için oldukça önemli olan glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi (E.C.1.1.1.49; G6PD), *Capoeta umbla* böbrek dokularından saflaştırılmıştır. Saflaştırma işlemi, homojenatin hazırlanması, amonyum sülfat çöktürmesi ve 2',5'-ADP Sepharose 4B afinite kromatografisi yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemler sonucunda, spesifik aktivitesi 11.26 EÜ/mg protein olan enzim, %22.7 verimle 402.14 kat olarak saflaştırılmıştır. Enzim saflığı sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile kontrol edilmiştir. Enzim aktivitesi spektrofotometre ile 340 nm'de Beutler metoduna göre ölçülmüştür. Ayrıca bazı antibiyotiklerin (ampisilin, gentamisin, penisilin G ve sefuroksim sodyum) *C. umbla* böbrek G6PD enzim aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Kullanılan tüm antibiyotiklerin enzim üzerine inhibisyon etkisi tespit edilmiştir. İnhibisyon etkisi gösteren antibiyotikler için IC₅₀ ve K_i değerleri hesaplanmıştır. Sonuç olarak, kullanılan antibiyotikler arasında gentamisinin, enzimi daha fazla inhibe ettiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik, *Capoeta umbla*, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, inhibisyon

Purification of Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase Enzyme from *Capoeta Umbla* Kidney Tissue and Examination of The Effects of Some Antibiotics On Enzyme Activity

Abstract

In this study, glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD; EC 1.1.1.49) enzyme which is of great importance for the metabolism was purified from *Capoeta umbla* kidney tissue. The purification was performed by preparation of homogenates, ammonium sulphate precipitation and 2',5'-ADP Sepharose 4B affinity chromatography. As a result of these procedures, the enzyme having the specific activity of 11.26 EU/mg proteins was purified 402.14-fold with a yield of 22.7 %. Enzyme purification was checked by performing sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Enzyme activity was determined with the Beutler method by using a spectrophotometer at 340 nm. Furthermore, the effects of some antibiotics (ampicillin, gentamicin, penicillin G and sefuroxime sodium) were investigated on *C. umbla* kidney enzyme activity. All used antibiotics indicated the inhibitory effects on the enzyme. IC₅₀ and K_i values were calculated for this antibiotics which show inhibition effects. In conclusion, gentamicin inhibits the enzyme activity more than ampicillin, penicillin G and sefuroxime sodium.

Key words: Antibiotic, *Capoeta umbla*, glucose 6-phosphate dehydrogenase, inhibition

Giriş

Türkiye iç su varlığı yönünden dünya ortalamasının altında olmasına karşın, bulunduğu bölge itibari ile zengin sayılabilecek kaynaklara sahiptir. Doğu Anadolu Bölgesi ise bu bakımdan

daha şanslı bir bölgedir. Mevcut iç su potansiyelinin %35'i ve tür zenginliğinin %20'sine sahiptir (Akyurt ve ark., 1990). Bölgedeki mevcut türlerin yalnızca birkaçı ekonomik anlamda avlanma kompozisyonuna girmekte (alabalık, inci kefali,

yayın, aynalı sazan, siraz (*C. umbla*), karabalık (*C. trutta*) gibi) ve diğer türler üzerinde ciddiyele durulmamaktadır. Mevcut türlerin gerek üretim ve ekonomik potansiyelleri gerekse ekolojik bakımdan önemleri de dikkate alındığında bütün türlerin çalışılmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bununla beraber gelecekte hangi balıkların daha stratejik noktalarda kullanılabilceği henüz bilinmediğinden biyolojik zenginliklerimizin bir bütün olarak ele alınıp çalışılması kaçınılmaz olmaktadır (Güneş, 2007).

Dünyadaki mevcut omurgalı hayvanların % 42'sini oluşturan balıkların, 40000 civarında türü olduğu ve bu sayının %40 gibi büyük bir bölümünü sazangillerin (Cyprinidae) oluşturduğu ileri sürülmektedir (Çelikkale, 1991). Cyprinidae familyasına mensup *Capoeta* cinsi, Güney Çin, Kuzey Hindistan, Afganistan, Türkistan, Aral Gölü, Ortadoğu ve Anadolu'yu içermekte olup çok geniş bir coğrafyada dağılım göstermektedir (Geldiay ve Balık, 1996). Yapılan çalışmalar sonucunda, *C. angorae*, *C. antalyensis*, *C. baliki*, *C. banarescui*, *C. barroisi*, *C. caelestis*, *C. capoeta*, *C. bergamae*, *C. damascina*, *C. ekmekciae*, *C. erhani*, *C. kosswigi*, *C. mauricii*, *C. pestai*, *C. sieboldii*, *C. tinca*, *C. trutta* ve *C. umbla* olmak üzere ülkemiz iç sularında 18 *Capoeta* türü tespit edilmiştir (Çoban ve ark., 2013). Bunlar içinde insanlar tarafından fazlaca tüketilen ve ekonomik değeri yüksek olan türlerden biri *C. umbla*'dır. *C. umbla*, başta Fırat ve Dicle nehir sisteminde olmak üzere Hazar gölü, Murat nehri, Karasu, Munzur suyu, Haman suyu, Batman suyu gibi Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki birçok akarsu ve göllere yayılmıştır (Geldiay ve Balık, 1996).

Antioksidan savunma sisteminin önemli enzimlerinden biri olan glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi (E.C.1.1.49; G6PD) pentoz fosfat metabolik yolunun ilk basamağını katalizleyen anahtar bir enzimdir. Bu enzim NADP⁺ varlığında glukoz 6-fosfatın, 6-fosfoglukonata dönüşümünü sağlar ve bunun sonucunda hücreler için son derece önemli olan NADPH oluşur. Canlılarda NADPH oluşumu için pentoz fosfat metabolik yolu oldukça önemli olup G6PD eksikliğinde NADPH ciddi ölçüde azalır. NADPH'nin bir diğer rolü ise okside glutatyonun (GSSG) indirgenmesini sağlamaktır. Bu reaksiyon glutatyon redüktaz enzimi tarafından katalizlenir. GSH, serbest tiyol grubu ihtiva eden bir tripeptiddir. Serbest tiyol grubu, proteinleri indirgenmiş halde tutarak sülfidril tamponu görevini görür; aynı zamanda hidrojen peroksit ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek detoksifikasyon olaylarında rol alır (Keha ve Küfrevioğlu, 2004).

İnsan ve hayvan dokularında antibiyotiklerin G6PD enzimi üzerine etkileri ile ilgili literatürde birçok

çalışma bulunmasına rağmen (Çiftçi ve ark., 2000; Çiftçi ve ark., 2002; Beydemir ve ark., 2003; Erdoğan ve ark., 2004), *C. umbla* böbrek dokusunda bu enzim üzerine antibiyotiklerin etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu eksiği gidermek amacıyla çalışmamızda ülkemiz iç sularında yoğun şekilde bulunan *C. umbla* böbrek dokusundan, önemli bir antioksidan enzim olan G6PD enzimi saflaştırılarak bazı antibiyotiklerin *in vitro* olarak enzim üzerine inhibisyon etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Balık materyali

İç sularımızda bulunan ve kaliteli gıda kaynağı olarak insanlar tarafından özellikle İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde fazlaca tüketilen *C. umbla* balıkları çalışmada kullanılmıştır. Balık materyali örnekleri, Bingöl İli Genç İlçesi'nden geçen Murat Nehri'nde tek istasyondan alınmıştır.

Homojenatın hazırlanması

Ortalama ağırlıkları yaklaşık 200 g olan 10 adet balık soğuk zincir kuralına göre laboratuvara getirilerek böbrek dokuları hızlı bir şekilde çıkarılmış ve bir kompozit oluşturulmuştur. Çalışmaya 24 saat içinde başlanmış ve dokular çalışmaya başlanacağı süreye kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Hazırlanan kompozitten 10 g alınarak kan ve diğer kirlilikleri elimine etmek için % 0.9'luk NaCl ile 3 defa yıkanmıştır. Doku homojenatlarını hazırlamak için, ilk olarak dokular ultra-turrax cihazı kullanılarak parçalanmıştır. Daha sonra sıvı azot içinde parçalanarak toz haline getirilmiş ve 3 ml/g olacak şekilde 50 mM KH₂PO₄ (pH 7.4) homojenat tampon çözeltisi içinde homojenize edilmiştir. Bu süspansiyon 60 dakika 13000 rpm'de 2 defa santrifüj edilmiş ve pelet atılarak, süpernatant daha sonraki saflaştırma basamaklarında kullanılmıştır (Çam, 2011).

Enzim aktivitesinin ölçümü

G6PD enziminin aktivitesi 25 °C'de Beutler metoduna göre 340 nm'de spektrofotometrede ölçülerek belirlenmiştir. Beutler yönteminde temel nokta, spektrofotometrede 340 nm'de NADP⁺'nin indirgenmesinden dolayı oluşan NADPH'nin absorpsiyon vermesidir (Beutler, 1971).

Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz

C. umbla böbrek dokusundan elde edilen G6PD enzim homojenatı sırasıyla % 0-20, % 20-30, % 30-40, % 40-50, % 50-60, % 60-70 ve % 70-80 aralıklarında katı amonyum sülfat ile çöktürülmüştür. Çöktürme işlemleri sırasında 13000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj yapılmıştır. Her defasında çökelekte ve süpernatantda enzim

aktivitesine bakılmıştır. Amonyum sülfat çöktürmesi sırasında homojenata katı amonyum sülfat yavaş yavaş katılmış ve her defasında daha önce katılan amonyum sülfatın çözünmüş olmasına dikkat edilmiştir. Amonyum sülfatın homojenatta çözünme işlemi buz banyosunda manyetik karıştırıcı ile yapılmıştır. İşlem sonucunda, *C. umbla* böbrek G6PD aktivitesinin tamamının % 40-80 aralığında çöktüğü belirlenmiştir.

C. umbla böbrek homojenatına % 0-40 aralığında amonyum sülfat çöktürmesi yapılmıştır. Numune santrifüj tüplerine konularak 13000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra elde edilen homojenatta % 40-80 aralığında amonyum sülfat çöktürmesi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen numune 13000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı atılarak çökelek çözünebileceği minimum fosfat tamponunda (50 mM KH₂PO₄, pH 7.4) çözülmüştür. Amonyum sülfat çöktürmesi işlemleri sırasında ortam sıcaklığı buz banyosuyla düşük tutulmaya çalışılmıştır. Amonyum sülfat çöktürmesi sonucu elde edilen numune diyaliz torbasına yerleştirilerek bir saat süreyle diyaliz tamponuna (50 mM K-asetat + 50 mM K-fosfat, pH 7.5) karşı diyaliz edilmiştir (Ninfali ve Palma, 1990). Çalışmada enzimin kullanıldığı bütün aşamalar +4 °C'de gerçekleştirilmiştir.

Afinite kolonunun hazırlanması

10 ml'lik yatak hacmi için 2 g kuru 2',5'-ADP Sepharose 4B jeli tartılarak, 400 ml destile su ile katı maddelerin uzaklaştırılması için birkaç defa yıkanmıştır. Yıkama esnasında jel şişmiştir. Şişirilmiş jelin havası su trompu kullanılarak vakum ile alındıktan sonra dengeleme tamponu (0.1 M K-asetat + 0.1 M K-fosfat, pH 6.0) ilave edilerek jel süspanse edilmiştir. Süspanse edilmiş jel, 1x10 cm'lik kapalı sistemden oluşan soğutmalı kolona paketlenmiştir. Jel çöktükten sonra peristaltik pompa yardımıyla dengeleme tamponu kullanılarak yıkanmıştır. Dengeleme ve yıkamada akış hızı 50 ml/h absorbansının eşitlenmesinden anlaşılmıştır. Böylece afinite kolonu numunenin yüklenmesi için hazır hale getirilmiş oldu (Çam, 2011).

Numunenin afinite kolonuna tatbiki ve G6PD'nin elüsyonu

Amonyum sülfat çöktürmesinden elde edilen derişikleştirilmiş numune, 0.1 M K-asetat + 0.1 M K-fosfat (pH 6.0) tamponu ile dengelenmiş kolona tatbik edilmiştir. Daha sonra kolon sırasıyla 25 ml 0.1 M K-asetat + 0.1 M K-fosfat (pH 6.0), 25 ml 0.1 M K-asetat + 0.1 M K-fosfat (pH 7.85) ve 25 ml 0.1 M KCl + 0.1 M K-fosfat (pH 7.85) çözeltisiyle

yıkanmıştır. Dengeleme ve yıkama hızı 50 ml/h'e ayarlanmıştır. Akış hızı peristaltik pompa ile kontrol altında tutulmuştur. Böylece enzimin büyük bir kısmı jele tutunmuş ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Daha sonra 80 mM K-fosfat + 80 mM KCl + 0.5 mM NADP⁺ + 10 mM EDTA (pH 7.85) çözeltisi kolona uygulanarak enzim elüe edilmiştir. Elüsyonlar 1 ml olacak şekilde ependorf tüplere alınmış ve herbirinde aktivite ayrı ayrı ölçülmüştür. Bütün bu işlemler esnasında sıcaklık +4 °C'de kontrol altında tutulmuştur (Ninfali ve Palma, 1990).

Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)

Enzim saflaştırıldıktan sonra % 3-8 kesikli SDS-PAGE Laemmli (1970) metoduna göre yapılarak enzimin saflık derecesi kontrol edilmiştir (Şekil 1).

Protein miktarının hesaplanması

Protein miktarının ölçümü Bradford metoduna göre 595 nm'de spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır. Ölçümde bovin serum albümin proteini standart olarak kullanılmıştır (Bradford, 1976).

In Vitro olarak antibiyotiklerin etkisi

İnhibitör olarak ampisilin, gentamisin, penisilin G ve sefuroksim sodyum antibiyotikleri kullanılmıştır. İnhibitör uygulanan ve inhibitör uygulanmayan çalışmalarda substrat (G6-P) konsantrasyonları, 0.03, 0.06, 0.09, 0.15 ve 0.27 mM olarak uygulanmıştır. IC₅₀ değerini hesaplamak için beş farklı inhibitör konsantrasyonu belirlenmiştir. Belirlenen IC₅₀ değerleri ampisilin için 1, 5, 7.5, 8.5 ve 10 mM; gentamisin için 0.063, 0.084, 0.143, 0.168 ve 0.21 mM; penisilin için 1.5, 2.25, 4.8, 5.4 ve 6 mM; sefuroksim sodyum için 0.74, 1.03, 1.48, 1.77 ve 2.21 mM'dir. Her bir antibiyotik için 5 farklı inhibitör konsantrasyonunda % Aktivite-[Antibiyotik] grafikleri (Şekil 2) çizilmiştir. Antibiyotik uygulanmayan küvetin aktivitesi % 100 kabul edilmiş ve % 50 inhibisyona neden olan antibiyotik konsantrasyonu (IC₅₀), % Aktivite-[Antibiyotik] grafiklerinden hesaplanmıştır.

IC₅₀ değerleri hesaplanan antibiyotiklerin K_i değerlerini belirlemek amacıyla *C. umbla* böbrek G6PD enzim aktivitesini yarıya düşüren antibiyotik konsantrasyonu ile bu değer altında ve üstünde iki sabit antibiyotik konsantrasyonu alınarak, uygun beş substrat konsantrasyonu ile aktivite ölçümleri yapılmıştır. Çalışmalarda uygun beş farklı substrat konsantrasyonu stok çözelti kullanılarak ön deneme ile belirlenmiştir. Elde edilen değerlerle her bir inhibitör için Lineweaver-Burk grafikleri (Şekil 3) çizilmiştir. Grafik denkleminde yarışmalı inhibisyon için eğime eşit olan Eşitlik 1 formülünden, yarışmasız inhibisyon için Eşitlik 2 formülünden

yararlanılarak K_i değerleri belirlenmiştir (Çam, 2011).

$$K_M/V_{max}=(1+[I]/K_i) \quad (\text{Eşitlik 1})$$

$$V_{max}=V'_{max}(1+[I]/K_i) \quad (\text{Eşitlik 2})$$

Bu eşitliklerde; K_M , Michaelis-Menten sabiti; V_{max} , Maksimum hız; I , inhibitör; K_i , Enzim inhibitör kompleksinin ayrışma sabiti; V'_{max} , İnhibitörün maksimum hızını ifade etmektedir.

Bulgular ve Tartışma

G6PD enzimi insandan, hayvanlardan, bitkilerden ve mikroorganizmalardan saflaştırılmıştır (Beydemir ve ark., 2003; Esposito ve ark., 2005; İbraheem ve ark., 2005; Wei-Fu ve ark., 2007). Ayrıca enzimin saflaştırma işlemleri çok farklı yöntemlerle yapılmaktadır. Bununla beraber en çok kullanılan yöntem bu çalışmada da kullanılmış olan 2',5'-ADP Sepharose 4B afinite kromatografisi yöntemidir. Bu yöntemle enzim, kısa sürede, en az masrafla ve yüksek verimle saflaştırılabilmektedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2004).

Birçok araştırmacı tarafından bakteriyel balık patojenlerine karşı antibiyotiklerin antibakteriyel etkileri araştırılmıştır (Akinbowale ve ark., 2006; İspir ve ark., 2013). Antibiyotiklerin çoğu canlı dokularında enzim sistemi üzerine aktivatör ya da inhibitör olarak etki eder (Jacobasch ve Rappoport, 1996; Çiftçi ve ark., 2002). Pek çok antibiyotik *in vivo* ve *in vitro* olarak aynı etkiyi gösterirken, özellikle enzim aktiviteleri üzerine farklı etkiler göstermektedir (Beydemir ve ark., 2000). Bununla beraber, balıklarda G6PD enzimi ve diğer enzimler üzerine antibiyotiklerin etkileri ile ilgili bazı çalışmalar mevcut olmasına rağmen yeterli düzeyde değildir (Erdoğan ve ark., 2004; Çomaklı ve ark., 2011). Ayrıca, insanlar ve birçok hayvan türünde enzim aktiviteleri üzerine antibiyotiklerin etkileri araştırılmıştır (Çiftçi ve ark., 2000; Çiftçi ve ark., 2002; Erat ve ark., 2003; Erat ve ark., 2005).

Çizelge 1. *C. umbla* böbrek G6PD enziminin saflaştırılma basamakları

Numune türü	Aktivite (EÜ/ml)	Protein (mg/ml)	Toplam hacim (ml)	Toplam aktivite (EU)	Toplam protein (mg)	Spesifik aktivite (EÜ/mg protein)	Saflaştırma katsayısı	% Verim
Homojenat	0.274	9.78	31	8.494	303.18	0.028	1	100
Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz	0.462	14.2	6	2.772	85.2	0.033	1.18	32.6
2',5'- ADP Sepharose-4B afinite kromatografisi	0.642	0.057	3	1.926	0.171	11.26	402.14	22.7

Çalışma sonucunda Çizelge 1'de görüldüğü gibi balık böbrek dokusundan G6PD enzimi, spesifik aktivitesi 11.26 EÜ/mg protein ve % 22.7 verimle 402.14 kat saflaştırılmıştır. Benzer yöntem kullanılarak yapılan çalışmalarda araştırmacılar farklı canlılardan G6PD enzimini farklı oranlarda saflaştırmışlardır. Örneğin; Çiftçi ve ark. (2002) koyun karaciğerinden spesifik aktivitesi 11.76 EÜ/mg protein ve % 35.72 verimle 1.913 kat; Beydemir ve ark. (2003) insan eritrositlerinden 97.6 EÜ/mg protein ve % 39 verimle 9760 kat; Beydemir ve ark. (2005) gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) eritrositlerinden spesifik aktivitesi 16.7 EÜ/mg protein ve % 60.6 verimle 1.852 kat; Çiftçi ve ark. (2007) inci kefalı (*Chalcalburnus tarischii*) balığından 34.16 EÜ/mg protein ve % 46.24 verimle 899 kat olarak G6PD enzimini saflaştırmışlardır. Ayrıca enzim saflığı SDS-PAGE yapılarak kontrol edilmiş ve tek bant gözlenmiştir (Şekil 1).

Maddelerin enzim üzerine inhibisyon etkilerini göstermek amacıyla en uygun parametre K_i değeriye, bazı araştırmacılar IC_{50} değerini de kullanmışlardır. Bu çalışmamızda antibiyotiklerin etkilerinin daha iyi belirlenmesi ve anlaşılması amacıyla her iki değer yani K_i ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. İnhibisyon etkisi gösteren antibiyotiklerin IC_{50} değerleri % Aktivite-[Antibiyotik] grafikleri (Şekil 2) çizilerek hesaplanırken, K_i değerleri Lineweaver-Burk grafikleri (Şekil 3) çizilerek hesaplanmıştır.

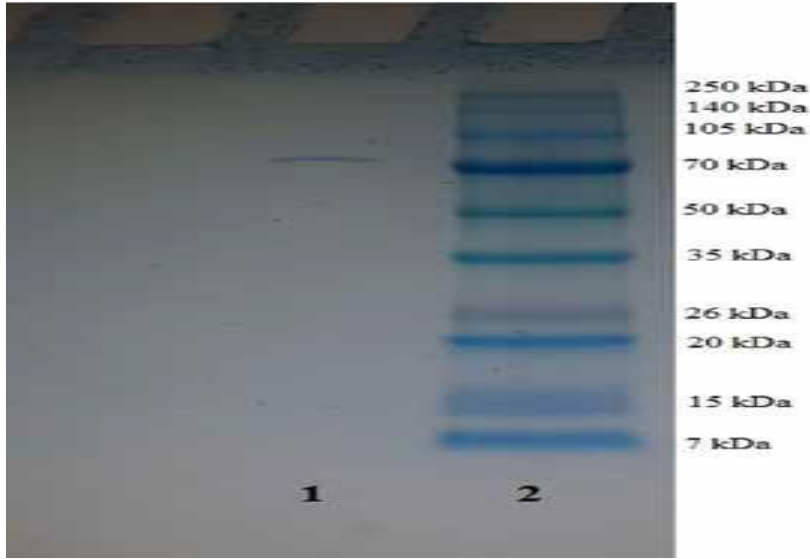
Çalışmada *C. umbla* böbrek dokusu G6PD enzimine uygulanan ampisilin, gentamisin, penisilin G ve sefuroksim sodyum için IC_{50} değerleri sırasıyla 7.97, 0.14, 4.31, 1.41 mM olarak hesaplanmıştır. Ayrıca K_i değerleri ve inhibisyon tipleri, ampisilin için 5.275 ± 1.346 mM ve yarışmasız; gentamisin için 0.041 ± 0.027 mM ve yarışmalı; penisilin G için 2.231 ± 0.414 mM ve yarışmasız; sefuroksim sodyum için 0.578 ± 0.097 mM ve yarışmasız olarak

belirlenmiştir. K_i ve IC_{50} değerleri göstermektedir ki inhibitör etkisi en yüksek antibiyotik gentamisinidir. Gentamisini sırasıyla sefuroksim sodyum, penisilin G ve ampisilin izlemektedir (Çizelge 2).

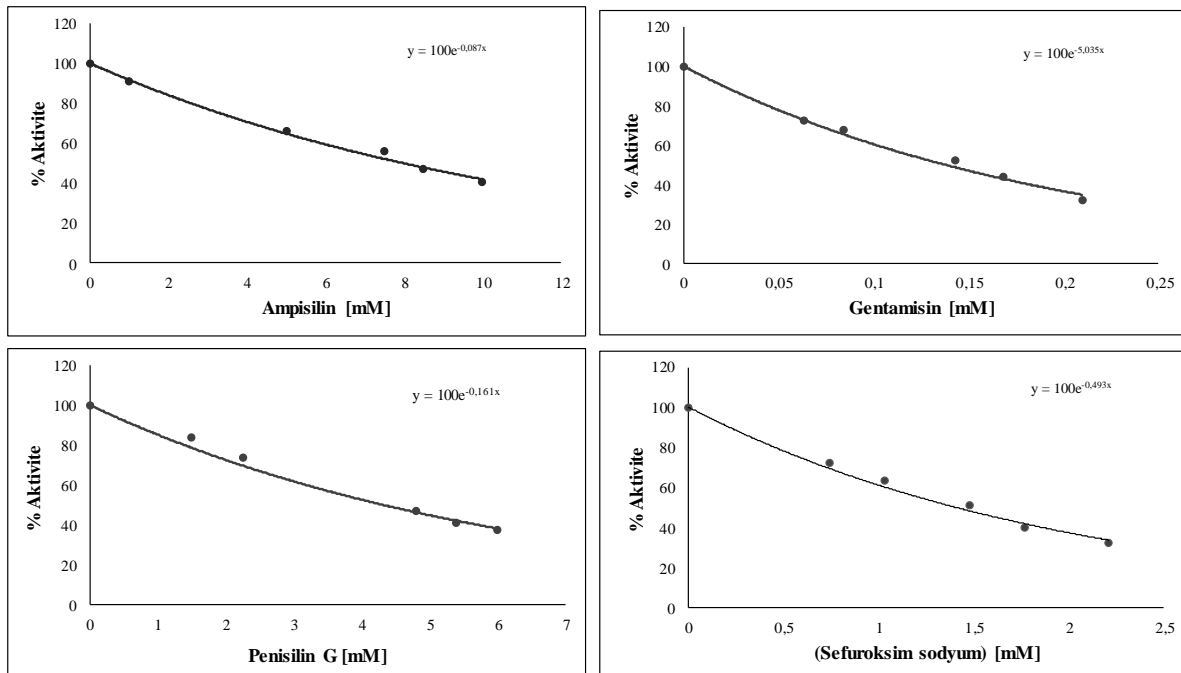
Benzer şekilde Erdoğan ve ark. (2004) gentamisinin gökkuşuğu alabalığı eritrositinden saflaştırılan G6PD enzimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Çomaklı ve ark. (2011) gentamisin sülfat ve sefuroksim sodyumun gökkuşuğu alabalığı eritrositlerinden saflaştırılan glutatyon S-transferaz enzimini inhibe ettiğini ve ampisilin ise inhibe

etmediğini belirtmişlerdir. Ekinci (2009) sefuroksim insan serumundan saflaştırılan paraoksonaz 1 enzimini inhibe ettiğini belirtmiştir.

Bunun yanında Erat ve ark. (2005) ampisilin, gentamisin sülfat ve penisilin G'nin insan eritrositlerinden saflaştırılan glutatyon redüktaz enzimini aktive ettiğini belirlemiştir. Ayrıca Erat ve ark. (2003) gentamisin sülfat ve ampisilin sığır eritrositinden saflaştırılan glutatyon redüktaz enzimini inhibe etmediğini belirtmişlerdir.



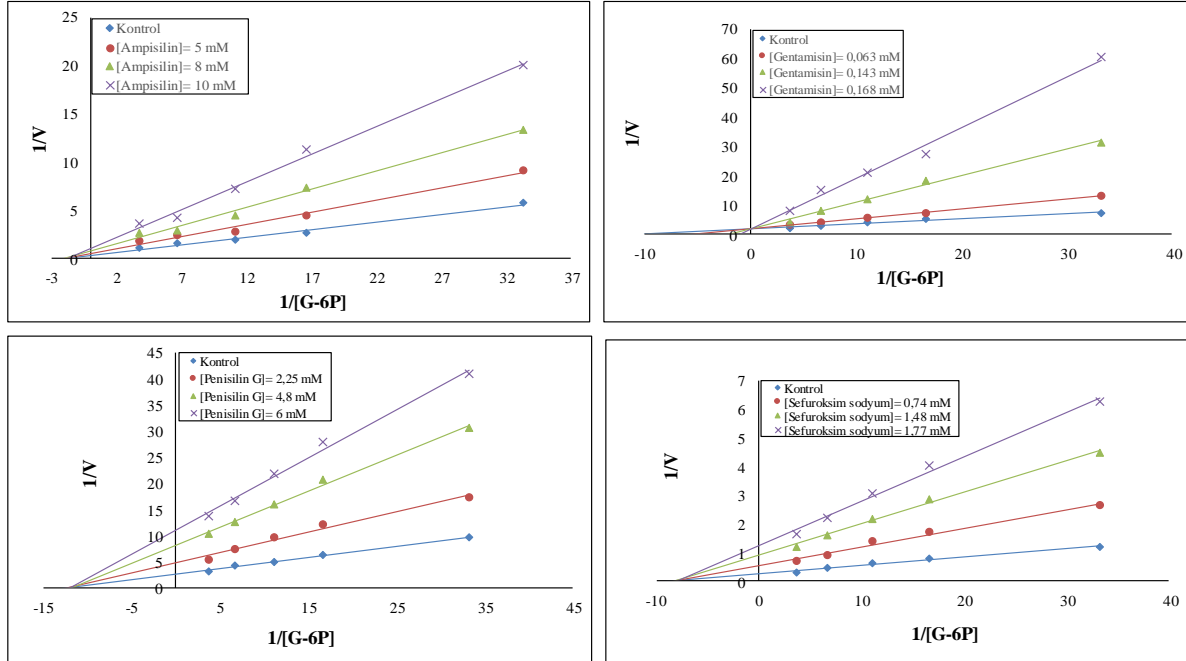
Şekil 1. *C. umbla* böbrek dokusundan saflaştırılan G6PD enziminin SDS-PAGE bandları (1: Böbrek; 2: Standart Proteinler)



Şekil 2. *C. umbla* böbrek G6PD enzimi için beş farklı antibiyotik konsantrasyonunda elde edilen % Aktivite-[Antibiyotik] grafiği

Çizelge 2. *C. umbla* böbrek G6PD enzimi için IC₅₀, K_i değerleri ve inhibisyon tipleri

Antibiyotikler	IC ₅₀ (mM)	K _i (mM)	inhibisyon tipi
Ampisilin	7.97	5.275 ± 1.346	Yarışmasız
Gentamisin	0.14	0.041 ± 0.027	Yarışmalı
Penisilin G	4.31	2.231 ± 0.414	Yarışmasız
Sefuroksim sodyum	1.41	0.578 ± 0.097	Yarışmasız

**Şekil 3.** *C. umbla* böbrek G6PD enzimi için 3 sabit antibiyotik ve 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri

Sonuç ve Öneriler

Günümüzde balık hastalıklarının tedavisinde antibiyotikler yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin kullanımı sırasında dozu çok iyi ayarlanmalıdır. Yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi antibiyotiklerin çok küçük miktarları bile balık metabolizmasına zarar vermektedir. Ayrıca fazla kullanılan antibiyotikler balık vücudunda birikerek besin zinciri yoluyla insanlara da zarar verebilmektedir.

Kaynaklar

- Akinbowale, O.L., Peng, H. and Barton M.D. 2006. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *Journal of Applied Microbiology*, 100: 1103-1113.
- Akyurt, İ., Tarım, S. ve Yanık, T., 1990. Doğu Anadolu'nun su kaynakları ve balık potansiyeli yönünden değerlendirilmesi. Doğu Anadolu'da Tarımın Verimlilik Sorunları Sempozyumu, Van, s. 41-50.
- Beutler, E. 1971. *Red Cell Metabolism. Manual of Biochemical Methods*. 6th ed., Academic Press, London, pp. 68-70.

Beydemir, Ş., Çiftçi, M., Özmen, İ., Büyükokuroğlu, M., Özdemir, H. ve Küfrevioğlu, Ö.İ. 2000. Effects of some medical drugs on enzyme activities of carbonic anhydrase from human erythrocytes *in vitro* and from rat erythrocytes *in vivo*. *Pharmacological Research*, 42: 187-191.

Beydemir, S., Kulaçoğlu, D.N., Çiftçi, M. ve Küfrevioğlu Ö.İ. 2003. The effects of some antibiotics on sheep lens glucose 6-phosphate dehydrogenase *in vitro*. *European Journal of Ophthalmology*, 13: 155-161.

Beydemir, Ş., Gülçin, İ., Hisar, O., Küfrevioğlu, Ö.İ. and Yanık, T. 2005. Effect of melatonin on glucose-6-phosphate dehydrogenase from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) erythrocytes *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Applied Animal Research*, 28: 65-68.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochemistry*, 72: 248-254.

Çam, M. 2011. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enziminin çipura karaciğer ve solungaç dokularından saflaştırılması ve enzim aktivitesi üzerine bazı metallerin etkilerinin

- incelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Çelikkale, M.S. 1991. *Balık Biyolojisi*. Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Yayınları, Trabzon, 387 s.
- Çiftçi, M., Küfrevioğlu, Ö.İ., Gündoğdu, M. and Özmen, İ. 2000. Effects of some antibiotics on enzyme activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase from human erythrocytes. *Pharmacological Research*, 41: 109-113.
- Çiftçi, M., Türkoğlu, V. and Aldemir, S. 2002. Effects of some antibiotics on glucose 6-phosphate dehydrogenase in sheep liver. *Veterinarni Medicina Czech*, 47: 283–288.
- Çiftçi, M., Türkoğlu, V. and Çoban, T.A. 2007. Effects of some drugs on hepatic glucose 6-phosphate dehydrogenase activity in Lake Van Fish (*Chalcalburnus tarischii* Pallas, 1811). *Journal of Hazardous Materials*, 143: 415-418.
- Çoban, M.Z., Gündüz, F., Demiroğlu, F., Örneği, G.N., Karakaya, G., Türkgülü, İ. and Alp, A. 2013. Population dynamics and stock assessment of *Capoeta umbla* (Heckel, 1843) in Lake Hazar, Elazığ, Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13: 221-231.
- Çomaklı, V., Çiftçi, M. and Küfrevioğlu, Ö.İ. 2011. Purification of glutathione s-transferase enzyme from rainbow trout erythrocytes and examination of the effects of certain antibiotics on enzyme activity. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 39: 413-419.
- Ekinci, D. 2009. İnsan serumundan paraoksonaz 1 enziminin saflaştırılması, bazı metal iyonları ve antibiyotiklerin enzim aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Erat, M., Şakiroğlu, H. ve Çiftçi, M. 2003. Effects of some antibiotics on glutathione reductase from bovine erythrocytes. *Veterinarni Medicina Czech*, 48: 305-312.
- Erat, M., Şakiroğlu, H. ve Çiftçi, M. 2005. Effects of some antibiotics on glutathione reductase activities from human erythrocytes *in vitro* and from rat erythrocytes *in vivo*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 20: 69-74.
- Erdoğan, O., Çiftçi, M., Çiltaş, A. and Hisar, O. 2004. Inhibition effects of some antibiotics on the activity of glucose 6-phosphate dehydrogenase enzyme from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) erythrocytes. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28: 675-681.
- Eposito, S., Guarriero, G., Vona, V., Rigano, D.M.V., Carfagna, S. and Rigano, C. 2005. Glutamate synthase activities and protein changes in relation to nitrogen nutrition in barley: The dependence on different plastidic glucose-6P dehydrogenase isoforms. *Journal of Experimental Botany*, 56: 55-64.
- Geldiay, R. ve Balık, S. 1996. *Türkiye Tatlı Su Balıkları*. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, s. 357-362.
- Güneş, M. 2007. Tercan baraj gölü ve Tuzla çayı'nda yaşayan *Capoeta capoeta umbla heckel*, 1843 populasyonlarının bazı biyo-ekolojik özellikleri, total yağ ve yağ asidi kompozisyonlarının karşılaştırılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ibraheem, O., Adewale, I.O. and Afolayan, A. 2005. Purification and properties of glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Aspergillus aculeatus*. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 38: 584-590.
- İspir, Ü., Türk, C. ve Kırıcı, M. 2013. Bingöl'de ticari bir gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliğinde *Flavobacterium psychrophilum* salgını. *Menba Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 2: 25-29.
- Jacobasch, G., Rappoport, S.M. 1996. Hemolytic anemias due to erythrocyte enzyme deficiencies. *Molecular Aspects of Medicine*, 17: 143-170.
- Keha, E. ve Küfrevioğlu, Ö.İ. 2004. *Biyokimya*. Aktif Yayınevi, Erzurum, 642 s.
- Laemmli, D.K. 1970. Cleavage of structural proteins during in assembly of the heat of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- Ninfali, P. and Palma, F. 1990. Comparative study of glucose-6-phosphate dehydrogenase from rabbit tissues. *Journal of Experimental Zoology*, 254: 6-12.
- Wei-Fu, K., Jian-Ye, C., Zhi-Xia, H., Peng-Fei, W., Ji-Cheng, Z., Quihong, P. and Wei-Dong, H. 2007. Activity and subcellular localization of glucose 6-phosphate dehydrogenase in peach fruits. *Journal of Plant Physiology*, 164: 934-944.