



E-ISSN: 2146-0132

Issue : 11 (2) , 2018

# Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi

Turkish Journal of Scientific Reviews

Publishing by Nobel Science and Research Center



[www.dergipark.gov.tr/derleme](http://www.dergipark.gov.tr/derleme)

NOBEL

BİLİM



# Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi Turkish Journal of Scientific Reviews

**E-ISSN:2146-0132 April 2018, Volume 11, Number 2**

**Sahibi/Published by**

Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi  
Nobel Science and Research Center

**Yazı İşleri Müdürü/Responsible editor**

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ  
Necmettin Erbakan University

**Dizgi/ Type Setting**

Nobel Grafic Center

**İletişim/Contact**

[www.dergipark.gov.tr/derleme](http://www.dergipark.gov.tr/derleme)

**Editör**

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ  
Necmettin Erbakan University



[www.dergipark.gov.tr/derleme](http://www.dergipark.gov.tr/derleme)

**NOBEL BİLİM**



*Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*  
*Turkish Journal of Scientific Reviews*  
*E-ISSN: 2146-0132, 11 (2), 2018*

## :::İçindekiler:::

- 01** Klinik Sitogenetik Laboratuvarında Kan Kültüründen Yeterli Sayıda ve Yüksek Çözünürlükte Metafaz Alanı Elde Etmek için Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar  
Serdar YÜKSEL Özgür EROĞLU
- 05** Mass Production of Medicinal Plants for Obtaining Secondary Metabolite Using Liquid Mediums Via Bioreactor Systems: SETIS™ And RITA®  
Ergun KAYA Selin GALATALI Sevinc GULDAG Bilge OZTURK  
Muammer CEYLAN Onur CELIK Irem AKTAY
- 11** Environmental Pollution and Pollutants on the Ecosystem: A Review  
Arzu Özkara Dilek Akyıl
- 18** Salep Orchids and Salep in Kahramanmaraş Region  
emal Kaan TEKİNŞEN Yusuf BİÇER
- 24** Bioremediation of Dyes in Textile Wastewater  
Ülküye Dudu Gül
- 29** CD33 and Alzheimer's Disease  
Başak Özlem Perk Naile Merve Güven<sup>1</sup> Benay Can Eke
- 32** Önemli Bazı Bitkisel İsektisitler  
Mehmet KARAKAŞ
- 38** Flora of Dedegül Mountain and Its Effects to Agricultural Production of Lakes Region  
Hasan ÖZÇELİK
- 47** Organik Katı Atıkların Aerobik Şartlarda Biyoteknolojik Yöntemlerle Kompostlaştırılması  
Ülküye Dudu GÜL Erdem NAZILLI
- 51** Deney Hayvanlarında Anksiyete Çalışmaları  
Aynur KOÇ Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ





## Klinik Sitogenetik Laboratuvarında Kan Kültüründen Yeterli Sayıda ve Yüksek Çözünürlükte Metafaz Alanı Elde Etmek için Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar

Serdar YÜKSEL<sup>1</sup> Özgür EROĞLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Milli Eğitim Bakanlığı, KMTAL, Kiraz/İZMİR

<sup>2</sup> Van Bölge Eğitim Araştırma Hastanesi ,VAN

\*Sorumlu Yazar:

E-posta: serdarykl@gmail.com

Geliş Tarihi : 01 Temmuz 2018

Kabul Tarihi: 31 Ekim 2018

### Özet

Klinik sitogenetik, insan kemik iliği, fibroblast hücreleri ve lenfosit hücrelerini dış ortamda üretilip metafaz aşamasında durdurmak sureti ile mikroskop preparatları hazırlanması, bu preparatların boyanması, kromozomal bantların elde edilmesi ve insan kromozomlarının sayısal ve yapısal olarak değerlendirilmesi çalışmaları olarak özetlenebilir. Klinik sitogenetik çalışmaları görüşte basit bir hücre kültürü çalışmasını takiben yapılan preparat boyanması gibi basitçe özetlenebilir, aslında zahmetli, sabır isteyen, uzman ve tecrübeli laboratuvar personeline ihtiyaç duyulan, hassas, kimi zaman iklim ve bölgesel koşullar tarafından bile etkilenen süreçleri içerir. Dolayısı ile sitogenetikte yeterli ve kaliteli metafaz alanı elde etmek zordur. Bu nedenle bu çalışmada sitogenetikte yeterli sayı, kalite ve yüksek bant çözünürlüğünde metafaz alanı elde etmek için yapılması gerekenlerden bahsettik. Periferik kan ve kordon kanı hücre kültürü ile hücre üretim aşamaları, boyama prosedürleri karşılaştırılarak, en etkili yöntemler ve bu aşamalarda dikkat edilmesi gereken noktalar belirtildi. Klinik sitogenetikte hangi örnek çalışılıyorsa çalışılın en kritik aşama hücre kültürü evresidir. Numunenin alınması, numunenin durumu, ekim aşaması, ekim sonrası inkübatörde üreme ve enfeksiyon takibi, kan kültüründe inkübatörde bulunan örneğin çökmesinin önlenmesi, besiyeri seçimi, besiyeri takibi, fiksasyon aşamasında çok yavaş metanol-asetik asit eklenmesi özellikle önem taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Klinik sitogenetik, Karyotip, Hücre Kültürü, Kromozom Boyama

## Points to Be Considered to Obtain Quality Metaphase Area in Clinical Cytogenetic Laboratory

### Abstract

Clinical cytogenetics, production of human bone marrow cells, fibroblast cells and lymphocyte cells in vitro, preparation of microscope preparations and stopping in the metaphase stage this cells, staining of these preparations, obtaining of chromosomal bands and quantitative and structural evaluation of human chromosomes can be summarized. Clinical cytogenetic studies involve processes that are sensitive, sometimes even influenced by climate and regional conditions, which are simply summarized by a simple cell culture study following a simple cell culture study, but in fact require laborious, patient, expert and experienced laboratory personnel. Therefore, it is difficult to obtain sufficient and high quality metaphase area in cytogenetics. For this reason, we mentioned in this study what to do in order to obtain metaphase field in cytogenetics in sufficient number, quality and high band resolution. The most effective methods and the points to be noted in these steps were determined by comparing the staining procedures of cord blood, peripheral blood cell culture with cell culture stages. If the sample is studied in clinical cytogenetics, the most critical stage of the study is the cell culture stage. Addition of methanol-acetic acid is particularly important for the sampling of the sample, the state of the sample, the stage of sowing, the growth and infection in the post-sowing incubator, the prevention of precipitation in the incubator in the blood culture.

**Keywords:** Clinical cytogenetics, Karyotype, Cell culture, Chromosome staining

### GİRİŞ

Genetik araştırmalar genom projesinin gerçekleştirilmesi, insan genetik yapısının tamamıyla ortaya konulmasıyla günümüzde büyük ilerlemelere tanık olmuştur. Mevcut araştırmalar ışığında kanser ve diğer birçok hastalığın temelinde hücre bölünmesini ve replikasyon mekanizmalarının regülasyonu kontrol eden genlerde ortaya çıkan mutasyonların neden olduğu ortaya konulmuştur [1]. Bu gelişmelere rağmen genlerin ortaklaşa etkileşimleri, aktivite alanları ve senkronizasyonları tamamıyla çözülmüş değildir. Genom projesinin sağladığı büyük miktardaki verinin artık günümüzde yorumlanıp, metabolizma ve genetik hastalıkların genetik mekanizmalarının aydınlatılabilmesi için biyoinformatik bilimi ortaya çıkarmıştır [2].

Bütün bu gelişmelerin öncesinde çoğu hastalığın ilgili olduğu gen ve kromozom bölgeleri neredeyse tamamen aydınlatılmıştır. Bu hastalıklarla ilgili moleküler

sitogenetik araştırmalar rutin sitogenetik laboratuvarlarında gerçekleştirilmektedir [3]. Konvansiyonel klinik sitogenetik araştırmaları rutin olarak yaklaşık 50 yılı aşkın bir süredir devam etmektedir. Bu çalışmaların başlangıcında kromozomal anomaliler otozomal (genel vücut yapısı ile ilgili) ve gonozomal (cinsiyet ile ilgili) olarak değerlendirilmekteydi. Fakat günümüzde bu sınıflandırmadan vazgeçilmiştir [4]. Günümüzde kromozomal anomaliler yapısal ve sayısal olarak iki farklı kategoride değerlendirilmektedir. Sayısal anomalilere örnek verilecek olursa toplumda diğer genetik anomalilere nazaran en yaygın görüleni Down sendromu (trizomi 21) vakasıdır. Trizomi 18, trizomi 15, trizomi X, tetrazomi X diğerlerine örnek verilebilir. Cinsiyet kromozomlarında ortaya çıkan monozomi, trizomi ve tetrazomiler genel olarak yaşla bağdaşmakla birlikte üreme ve zeka sorunlarına neden olmaktadır. Otozomal kromozomların trizomileri



ciddi metabolik ve yapısal hasarlara neden olabilmektedir. Yapısal anomalilerin başında translokasyon gelmektedir. Translokasyonlar neticesinde parça kaybı olmamışsa dengeli translokasyon, eğer parça eksilmişe dengesiz translokasyonlardan bahsedilir. Dengesiz translokasyonlar delesyonlara neden olacağı için prenatal sitogenetikte oldukça önemlidir [5]. Yapısal anomalilerin diğerlerine inversiyonlar, delesyonlar ve duplikasyonlar örnek verilebilir. Her ne kadar yapısal yeniden düzenlenmeler dengeli olarak değerlendirilse de kopma ve yapıma bölgelerinde olabilecek muhtemel gen hasar ve kayıpları ihtimali her zaman için mevcuttur. Marker kromozomlar ise sentromer bölgesinin varlığı veya yokluğuna bağlı olarak vucut hücrelerine eşit olarak dağılmamakta etkileri ise heterokromatin ve ökrromatin bölge varlığına bağlı olarak değişmektedir [6].

Günümüzde yukarıda bahsedilen triploidi, translokasyon, inversiyon, duplikasyon, delesyon ve marker kromozomlar gibi yeniden düzenlenmeler moleküler yöntemler ile de tespit edilmektedir. Fakat bu moleküler yöntemler sadece belli kromozom ve kromozom bölgelerine özel olduğundan dolayı hastanın bütün kromozomlarının normalliği veya anormallığı konusunda karar verememizi sağlamaz. Ayrıca sitogenetik ve moleküler genetik testlerinin birbirlerini destekler biçimde uyumlu olmaları hastalık hakkındaki tanıyı güçlendirmektedir [7].

Sitogenetik testler hasta karyotipinin belirlenmesi konusunda alternatifsiz olmakla beraber sonuçların nispeten uzun sürede çıkması, deneyimli laboratuvar personeline ihtiyaç duyulması, mevsimsel döngülerden etkilenmesi ve çok aşamalı olmaları güçlükler yaratmaktadır [8]. Bu nedenlerden dolayı mevsimsel ve bölgesel farklılıklara dayalı laboratuvar optimizasyonlarının iyi yapılması ve sınır değerlerinin belirlenmesi, FISH çalışmalarında laboratuvar hata oranını veren cut – off iyi hesaplanması sonuçların güvenliği ve kalitesi açısından özellikle önemlidir [9].

Bu yazıda doğum öncesi ve erişkin hastaların genetik testlerinde kullanılan konvansiyonel sitogenetik testlerinden kan kültüründen bahsedilecektir.

## MATERYAL VE METOT

**Periferik kan kültürü:** Besiyeri Ortamı olarak Rpmi 1640 (100 ml), Fetal Calf Serum (20 ml), Penicilline-Streptomycin (2 ml), L-Glutamine (2 ml), Phytohemaglutinin ( 3 ml ), Kolsemid: 2-3 Damla, Hipotonik: (0.075 M KCl ), 0.56 G Bidistile Su, 100 ml Fiksatif: Glialial Asetik Asit 1 Hacim Methanol 3 Hacim gereken malzemelerdir. Steril enjektöre 0.5 ml heparin çekilir. Enjektör heparinize edildikten sonra hastadan en az 2-3 ml venöz kan alınır. Ekim aşaması laminar flow'da steril koşullarda gerçekleştirilir. Steril konik kültür tüpün üzerine hastanın adı, soyadı , çalışılan yöntem, tarih , saat yazılır. Steril koşullarda İçinde besi ortamı bulunan konik kültür tüpüne 9-11 damla damlatılır. Kapak kapatılır. Tüp hafifçe alt-üst edilerek karışımı sağlanır [10]. Bu miktar bebekler için 5-6, kordon kanı için 3-5 damladır. Tüp 37°C etüvde 72 saat bekletilir. 70. saatte (ya da 67-68. saatte) enjektöre çekilmiş kolsemidden 2-3 damla kültür ortamına damlatılır. Tüp içeriği hafifçe karıştırılır. 2 saat (ya da 75 dakika ) 37°C etüvde bekletilir. Tüp etüvden çıkartılarak 10 dakika 1.000 rpm de santrifüj edilir. Tüpün dibinde yaklaşık 1 ml kalacak şekilde supernatant pastör pipeti ile atılır. Dipte çökmüş şekilli elemanlar üzerine 0.075 M KCl solüsyonundan 5 ml eklenir. 20- 35 dk etüvde bekletildikten sonra 1.000 rpm

de 10 dakika süreyle santrifüj edilir. Supernatant atıldıktan sonra hücre kümesinin üzerine mikser kullanılarak soğuk ve yeni hazırlanmış fiksatiften damla damla 5 ml eklenir. Bu aşamada +4° C de bir gece veya -20° C'de 30 dk. bekletilir. Fiksatif ile yıkama işlemi en az 3 kez tekrarlanır. En sonunda hücre kümesi beyaz bir renk aldıktan sonra supernatant atılır. Yaklaşık 0.5 ml kadar bırakılan çökeltinin üzerine 0.5-1.0 ml fiksatif eklenir. Hücreler pastör pipetiyle yavaş yavaş pipetaj yapılarak karıştırılır. Daha önce hazırlanmış soğuk ve ıslak lamlara 45° lik açı ile 3-4 damla damlatılarak yayım sağlanır. Preparatlar bantlanma teknikleri uygulamak üzere kapalı bir yerde saklanır [11-12]. Kuruyan preparatlar Tripsin-Giemsma Bandlama yöntemi ile boyanır. Bu yöntem için gerekenler: PBS solüsyonu (Phosphate buffered saline). PBS hazırlamak için: 1 litre distile su içine 8 gr NaCl, 0,2 gr KCl, 0,2 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2,319 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12 H<sub>2</sub>O eklenir. A solüsyonu hazırlamak için: 1 litre distile su içinde 9.073 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> karıştırılır. B solüsyonu hazırlamak için: 1 litre distile su içinde 11.87gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2 H<sub>2</sub>O ya da 23.864 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12 H<sub>2</sub>O karıştırılır [13-14]. YÖNTEM: 1) 5 adet şaleye şunlar konur. Birinci şale: 40 mgr Tripsin, 80 ml PBS, İkinci şale: 80 ml PBS, Üçüncü şale: 53 ml A solüsyon, 47 ml B solüsyonu, 2 ml Giemsa boyası, Dördüncü şale : Su, Beşinci şale : Su 2) Preparatların bekleme süresine göre Tripsinde bekletilme süresi deneme preparatları ile belirlenir. 3) 1. Şaleden çıkarılan preparatlar 2. Şalede yaklaşık 15 sn çalkalanır ve Giemsa şalesine konur. 4) Giemsa boyasında 6-10 dakika tutulduktan sonra preparatlar 4 ve 5. şalelerdeki distile sulardan geçirilerek kurumaya bırakılır. 5) Boyanmış preparatların ışık mikroskopunda sayım ve analizi yapılır [15].

## BULGULAR VE SONUÇ

Yöntem kısmında anlatılan standart kültür ve boyama prosedüründe aşağıda belirtilen noktalara dikkat edilirse her preparatta 60-70 adet, çözünürlüğü iyi metafaz alanı elde etmek mümkün olur (Şekil 1).

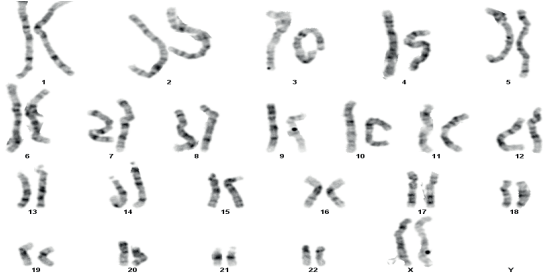
I. Venöz kan alımında, kan en uygun damardan zorlamadan ideal bir biçimde alınmalıdır. Kan alımı öncesi enjektör heparin ile yıkanmalı, içerisine 0,5 ml heparin çekilmelidir. Kan alımından hemen sonra enjektör elde aşağı yukarı çevirilerek heparinin alınan venöz kana karışması, homojen hale gelmesi sağlanmalıdır. Mümkün ise alınan kanın o gün içinde ekimi yapılmalıdır. Eğer bekletilecekse +4 C'de saklanması uyundur. Kan prenatal tanı için kullanılacak kordon kanı ise alınmasını müteakip KCl ile fetal-maternal olup olmadığını belirlenmesi için o anda test edilmelidir. Kan kültürünün başarılı olabilmesi için hastanın o esnada kullanmış olduğu ilaçlar ve tedavi varsa bilinmesinde fayda vardır.

II. Kan ekimi laminar flow kabininde yapılmalıdır. Ekim esnasında tüplerin ağzı bek alevinden geçirilmelidir. Kan kültüründe enfeksiyon nadir gözlenen bir durumdur, fakat sterilizasyona dikkat etmekte fayda vardır. Ekimden önce enjektör ucu çıkartılmalı, enjektör ağzındaki 3-4 damla kan dışarı atılmalı, enjektörün pistonu 1 ml hava boşluğu kalacak şekilde geri çekilmeli, bu şekilde hava boşluğu oluşturulan enjektöre ucu tekrardan takılarak, enjektör 5-6 defa yukarı aşağı döndürülerek içindeki kan örneğinin iyice karışması sağlanmalıdır. Bunun nedeni eritrositlere göre çok az oranda bulunan lenfositlerin kan örneği içinde homojen dağılmasının sağlanmasıdır. Kan venöz kan ise 10-11 damla, kordon kanı ise 4-5 damla 5 ml besi yerine ekilmelidir. Ekim sonrasında falkon tüpü ağzı hızlıca bek alevinden geçirilmeli ve beklemeden kapağı kapatılmalıdır. Ekim tüpü 3-4 defa nazikçe yukarı-aşağı çevirilerek karışması sağlanmalıdır. Tüplere isim yazma ekim öncesinde yapılmalıdır. Ekim ya-

pılaca tüp ve içinde kan bulunan enjektör örneklerin karışmasını önlemek için deney tüpü standına arkalı önlü yerleştirilmelidir.

III. Kan ekimi yapıldıktan sonra çıkarım işlemi yapılmaya kadar her gün, günde iki defa falkon tüpleri inkübatörden çıkartılarak 3-4 defa alt üst edilerek hafifçe karışması sağlanmalıdır. Bu şekilde kan kültürünün çökerek üremenin yavaşlaması önlenmiş olur, daha fazla sayıda metafaz alanı elde edilir.

IV. Kan ekiminden 48 saat sonra damlatılarak çıkarım günü metafaz safhasında daha uzun kromozomlar elde edilir, bu sayede yüksek bant seviyesini görmek mümkün olur.



**Şekil 1.** 550-600 bant seviyesinde high resolution bantlama ile hazırlanmış 46 XX kromozom kuruluşuna sahip normal konstitüsyonel karyotip fotoğrafı (orijinal).

V. Kültürün 70. Saatinde 2-3 damla kolsemit eklenir hafifçe çalkalanarak karıştırılır. 2 saat bekletilir, 10 dakika 1.000 rpm de santrifüj edilir, üzeri plastik pipet ile atılır, çökelti üzerine çok fazla sarsmadan vorteksenerek hipotonik eklenir, tekrardan inkübatöre konur. 20 dakika bekletilir. Hipotonik süresi kısa olursa hücre patlamaz kromozomlar iç içe geçer ve boyanma başarısız olur. Hipotonik süresi uzarsa kromozomlar daha şişkin, metafazlar dağılmış halde gözlenir, tam saha elde etmek zorlaşır. Hipotonik çözeltisinin sıcaklığı 37 C olmalıdır. Bu nedenle çıkarım yapılacak günün sabahı hipotonik çözelti inkübatöre konulmalıdır.

VI. Hipotonik süresi dolan kültür tüpleri 10 dakika 1.000 rpm de santrifüj edilir üstleri pipetle atılır, vortexte çok yavaş damla damla soğuk fiksatif (metanol – asetik asit) eklenir. Her 2-3 saniyede en fazla 1 damla fiksatif eklenmelidir. Bu esnada tüp sürekli vortekste spin hareketi yapıyor olmalıdır. Tüpün dibindeki çökelti ve fiksatif karışımı 1,5 – 2 ml olunca kadar fiksatif yavaş eklenmelidir. Bütün tüplerin ilk 1,5 – 2 ml'lik fiksatif ekleme işlemi bitince ikinci fiksatif ekleme turuna geçilmelidir. İkinci turda fiksatif biraz daha hızlı eklenebilir. Tüplerin içindeki çözelti 5 ml olunca tüpler, tüp sporu içinde -20 C'de derin dondurucuya konulmalıdır. En az 1 gün derin dondurucuda bekletilen örnekler 1.000 rpm de santrifüj edilip üstleri pipetle atıldıktan sonra üzerine soğuk fiksatif eklenerek yıkanmalıdır. Tüp içerisindeki çözelti tamamen saydamlıncaya kadar yıkama işlemi 2-3 defa yapılmalıdır.

VII. Yayma yapılacak günün öncesinde lamlar distile su içinde şalelere yerleştirilmeli ve -20 C donmaları sağlanmalıdır. Donmuş lamların şaleden çıkarılabilmesi için yaymadan 1 saat önce çıkarılan şalelerin kısmi çözülmesi sağlanmalıdır. Lamlar oldukça soğuk olmalıdır. Aksi takdirde yapışma gerçekleşmez.

VIII. Yaymadan önce tüpler 1.000 rpm de santrifüj edilip üstleri pipetle atılmalıdır. Tüp içinde 2-3 mm kalınlığında krem rengi çökelti üstünde 1-1,5 ml fiksatif bırakılmalıdır. Plastik pipetle 4-5 defa pipetaj yapılarak çökeltinin fiksatifte homojen çözülmesi sağlanmalıdır. Sonrasında 40-45 cm yüksekten soğuk lam üzerine Z çizerek damlatılmalıdır. İn-

kübatör tepsisine yerleştirilen yayılmış lamaların inkübatörde kuruması sağlanmalıdır. Çok fazla h-kuruyan preparatlarda kromozomlar çubuk görünümünde olur ve boyama sonrasında bant gözlenmez, tamamen koyu renkte olur. Az kuruyan preparatlarda kromozomların kenarları ipliksi çıkıntılı rulo fırça görünümünde, şişkin olarak gözlenir. Bant oluşmaz.

IX. Boyama esnasında preparatlar oda sıcaklığında olmalıdır. Preparat sıcaklığı tripsin süresi için önemlidir. Tripsin süresi uzarsa kromozomlar tamamen eriyeceği için silik bir görüntü oluşur, kısa tutulursa yeterince bantlaşma gözlenmez. Tripsin çözeltisi boyama günü sabah taze hazırlanmalıdır. Tampon çözeltisi içinde çözünen enzim solüsyonu boyamadan 3-4 saat önce 37 C'de inkübatörde bekletilmelidir. Her laboratuvar tripsinde bekletme süresini kendi koşullarına göre belirlemelidir.

X. Hücre kültüründe kullanılan besiyerlerinin saklanmasına ve tarihlerine dikkat edilmelidir. Son kullanma tarihi yaklaşan besiyerlerinin daha verimsiz olduğu görülmüştür. Besiyerlerinin rengine dikkat etmek gerekir, özellikle sarı renge kayanlarda hiç üreme olmamaktadır. Aslında besiyerinin pH değerini gösteren boya indikatörleri pH değişen besiyerleri hakkında kullanıcıyı uyarılmaktadır. Vakti dolmaya yakın besiyerlerine L glutamin eklemekte fayda vardır. Hipotonik, tampon, boya, fiksatif çözeltileri hazırlanırken üzerine hazırlanma tarihi not düşülmelidir. Laboratuvarında kullanılan distile suyunun saflığından ve cam malzemelerin çamaşır suyu, deterjan ve mineral kalıntısı içermediğinden emin olunmalıdır. Cam malzemeler çeşme suyundan geçirildikten sonra mutlaka distile sudan geçirilmelidir.

## TARTIŞMA

Klinik sitogenetik çalışmaları, kromozomların sayısal (trizomiler), yapısal (inversiyon, translokasyon, ring kromozom, izokromozom) anomalilerini, belirli bir seviyeye kadar delesyonları, kromozom varyasyonların belirlenmesi sağlar. Bu sayede büyük oranda prenatal tanıya yardımcı olurken, infertilite hastalarının durumlarının netleştirilmesinde veya bu hastalara uygun genetik danışma verilmesini sağlar. Sitogenetik sonuç bütün kromozomlara aynı anda bakma fırsatı verdiği için kapsayıcı ve klinik açıdan çok önemlidir. Fakat 800 bant seviyesinde dahi mikrodelesyonları görmek mümkün olmadığı için, delesyonlar bu sonuç ile ekarte edilemediği için hastanın durumuna göre moleküler genetik yöntemleri ile desteklenmesi gerekebilir fakat genetik tanıda ilk ve mutlaka başvurulması gereken yöntemdir. Bu nedenle özellikle periferik kan kültürü laboratuvarında yoğun olarak çalışılmaktadır. Periferik kan kültürünün aşamalarının inceliklerinin iyi bilinmesi, hastaların tekrara gitmemesi, yeterli alan olmasından dolayı sonucun hızlı çıkması laboratuvar çalışanlarının yükünü azaltacak ve zaman israfının önüne geçecektir. Bu çalışmada süreler her laboratuvar için değişiklik gösterebilir, bu nedenle her merkez kendi iklim koşullarına göre, laboratuvarında kullandıkları alet ve ekipmanların durumuna göre prosedürü optimize etmelidir.

## KAYNAKLAR

- [1] Lewis R 2007. Human genetics: Concepts and applications. 7th Edition, McGraw Hill, New York, USA.
- [2] Lewis R 2012. Human genetics: Concepts and applications. 10th Edition, McGraw Hill, New York, USA.
- [3] Thieman WJ and Palladino MA 2012. Introduction to biotechnology. Pearson, Boston, USA. PMCid:PMC3354769

[4] Hartl DL and Ruvolo M 2011. Genetics: analysis of genes and genomes. 8th Edition, Jones and Bartlett Learning, Burlington, Massachusetts, USA.

[5] Miglani GS 2008. Fundamentals of genetics. Alpha Science International Limited, Oxford, UK. PMID:19075051  
PMCID:PMC2663096

[6] Russell PJ 2006. iGenetics: A molecular approach. Pearson/Benjamin Cummings, San Francisco, California, USA.

[7] Smith JE 2009 Biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge, USA. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511802751>

[8] Snustad DP and Simmons MJ 2012. Genetics. 6th Edition. International student version, John Wiley and Sons, Singapore, Singapore.

[9] Strachan T and Read A 2010. Human molecular genetics. 4th Edition, Taylor and Francis Group, Garland Science, New York, USA.

[10] ACT Laboratory Procedure Manual, 1980, section 2, pgs.70-77 and 2nd edition, 1991, chapter 2 pg 24-30.

[11] Panda SK, Ravindran B 2013. In vitro Culture of Human PBMCs. Bio-protocol 3(3): e322. DOI: 10.21769/BioProtoc.322.

[12] Panda SK, Kumar S, Tupperwar N, Vaidya T, George A, Rath S. 2012. Chitohexaose activates macrophages by alternate pathway through TLR4 and blocks endotoxemia. PLoS Pathog 8(5): e1002717.

[13] Dulbecco R. et al. 1954. Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. In: J. Exp. Med. vol. 99 (2), pp. 167-182. PMID 13130792

[14] Sambrook, Fritsch, Maniatis 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, volume 3, apendix B.12

[15] Portions of this article are from “Phosphate buffered saline. In Wikipedia, the free encyclopedia. Retrieved September 17, 2008, from [http://en.wikipedia.org/wiki/Phosphate\\_buffered\\_saline](http://en.wikipedia.org/wiki/Phosphate_buffered_saline).” This article has been reviewed for scientific accuracy and is used in accordance with Wikipedia’s GNU Free Documentation License (GFDL).





## Mass Production of Medicinal Plants for Obtaining Secondary Metabolite Using Liquid Mediums Via Bioreactor Systems: SETIS™ And RITA®

Ergun KAYA<sup>1\*</sup> Selin GALATALI<sup>1</sup> Sevinc GULDAG<sup>1</sup> Bilge OZTURK<sup>1</sup> Muammer CEYLAN<sup>1</sup> Onur CELIK<sup>1</sup> Irem AKTAY<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Faculty of Science, Molecular Biology and Genetics Department, Mugla Sitki Kocman University, 48000, Kotekli, Mugla, Turkey

\*Corresponding Author:  
E-mail: ergunkaya@mu.edu.tr

Received: June 11, 2018  
Accepted: October 31, 2018

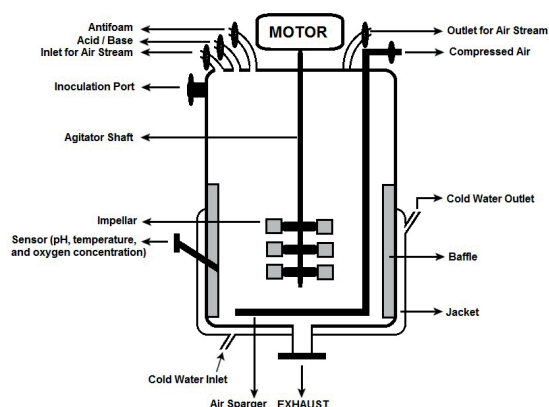
### Abstract

Micropropagation techniques provide effective and important ways for plant mass propagation. While some cultivated species are still accepted as comparatively resistant to tissue culture, there are a lot of successful applications of somatic and zygotic embryogenesis, organogenesis, micropropagation have been reported from different type of plant species. *In vitro* liquid culture systems are thought to be more efficient than semi-solid culture systems because of having great advantages of them such as successful automation, big mass production, easy handling, simple calibration of medium components and culture conditions. Temporary immersion bioreactor systems (TIS) based on liquid medium usage have been provided many utilities such as reduction of production cost and higher proliferation rate. This review aimed to describe advantages of micropropagation protocols developed using two different temporary immersion bioreactor systems, SETIS™ and RITA®

**Keywords:** Micropropagation, plant breeding, plant clonal propagation, TIS

### INTRODUCTION

Medicinal plant mass production from embryo, cell and/or tissue cultures via bioreactor systems is encouraging for large scale industrial propagation. Bioreactor systems are largely characterized as closed and controlled systems, aseptic requirements and controlled microenvironmental conditions such as pH, temperature, oxygen, aeration, designed for liquid medium and support for monitoring (Figure 1). In bioreactor systems, final product can be biomass production such as shoots or roots, embryonic or organogenic cells, enzymes or other different metabolites [1].



**Figure 1.** Typical structure of a stirred-tank bioreactor system [43].

The main purpose of cell cultures is production of economically important secondary metabolites such as pharmaceuticals, aromatic and sweetener chemicals. It is known that Approximately 20,000 metabolites have been obtained from plants, and each year about 1600 new secondary metabolites are added [2].

Most of improvement about bioreactors systems have been carried out by medicinal and cosmetic industry and there were many problems caused mass product limitation of plant cell cultures such as contaminations, low culture productivity, genetic instability, slow growth. Secondary metabolites production using bioreactor systems has big potential advantages, however, until now just only berberine, shikonin and ginsenosides have been produced in japan as big mass production [3].

Traditionally, secondary metabolites are obtained via extraction procedures using whole plants and tissues. Another conventional method for large scale secondary metabolites production is usage of high capacity *in vitro* plant cultures. Mass production using *in vitro* cultures has many advantages such as easy control of environmental conditions (independent vegetation periods of plant, all season production), standard and high quality yield production, prevention of biotic and abiotic factor effect and, opportunity of well developed system usage for big capacity production [1].

Automation of *in vitro* propagation using bioreactor systems has reduced cost of mass production of secondary metabolites [4, 5]. Liquid culture mediums are especially used in bioreactor systems for big-scale mass production of various plant cell and tissues. The first report of bioreactor system usage was on *in vitro* mass propagation of *Begonia × hiemalis*. In this study, erlenmeyer flasks containing Murashige and Skoog medium [6] supplemented with 1mg/ml kinetin were used and these flasks were shaken at 180 rpm for propagation of plantlets [7]. And, since that time different types of bioreactor system have been used for big scale micropropagation of different type plants species

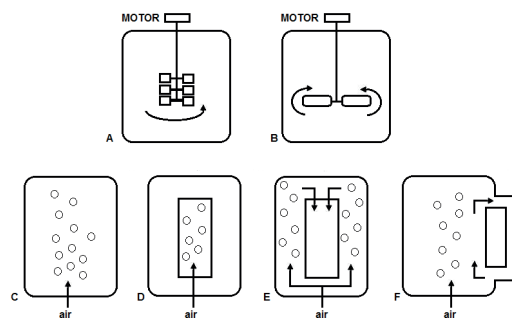
and plant organs such as shoots, shoot tips, buds, somatic embryos, bulbs, corms [8].

This review aimed to describe advantages of different type bioreactor systems designed for big scale mass production of medicinal plants containing economical important secondary metabolites and compared different protocols developed using two different temporary immersion bioreactor systems, SETIS™ and RITA®.

#### Working Principles Of Basic Bioreactor Systems

Bioreactor systems provide big scale mass propagation of plant cells, tissues and organs containing zygotic and somatic embryos, nodal segments, corms, microtubers, shoots in liquid medium. For the first time usage of bioreactor system, stirred tank reactors with simple agitation turbines, extends to approximately fifty years ago. Today, many kind of bioreactor system used for different purposes are available for big scale mass production of wide range secondary metabolites from plant material. But there are still some requirements that must be overcome such as cell aggregation or fragile plant cell [9].

Agitation based bioreactor systems are grouped into three main tank systems according to their agitation construction, mechanically agitated, pneumatically agitated and non-agitated bioreactor systems. Stirred bioreactor systems (Figure 2A, B) has many limitations such as high electricity consumption and especially in tall bioreactors have sealing problems of rotating shafts. On the other hand, air lift bioreactor systems (Figure 2D-G) have many advantages such as simple design, low energy requirements and good mass transfer. There are many modify bioreactor system constructed by using advantages of traditional stirred bioreactors and air lift bioreactors [10].



**Figure 2.** Structure of different types of bioreactor systems. Flat-blade turbine impeller (A) and marine propeller (B) agitation based bioreactor systems, bubble column (C, D), draft tube air lift (E) and external loop air-lift (F) bioreactor systems [43].

Air-lift bioreactor systems are very useful for mass propagation of various plant species cultures because of their simple design causing less degradation of cells, tissues, shoots and organs. However, these bioreactor systems have some disadvantages such as excessive foam formation and cell growing at the top of reactor tank. These problems can be solved by using antifoams and designing special type tanks such as larger top section diameter or balloon type bubble bioreactors [8]. Mechanically agitated, pneumatically agitated and non-agitated bioreactor systems have been utilised for the production of valuable secondary metabolites from various plant species (Table 1).

**Table 1.** In the last ten years, different secondary metabolite production from different plant species using different type bioreactor systems.

Bioreactor Type	Secondary Metabolite	Plant Species	Explant Type	Reference
shake flask system	hypericin	<i>Hypericum perforatum</i> L.	adventitious root	[25]
airlift bioreactor system	caftaric acid	<i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench.	adventitious roots	[26]
	chlorogenic acid cichoric acid			
airlift bioreactor system	anthraquinones, phenolics, flavonoids	<i>Morinda citrifolia</i> L.	leaf cells	[27]
shake flask system	anthocyanin dyes	<i>Melastoma malabathricum</i> L.	callus cell cultures	[28]
balloon-type bubble bioreactors	ginsenosides	<i>Panax ginseng</i> Meyer	adventitious roots	[26]
shake flask system	Human serum albumin	<i>Oryza sativa</i> L.	transgenic rice seeds	[29]
airlift bioreactor system	mouse interleukin-12	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	hairy roots	[30]
shake flask system	hepatitis B surface antigen	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	callus cell cultures	[31]
semicontinuous bioreactor	recombinant human alpha- 1-antitrypsin (rAAT) glycoprotein	<i>Nicotiana benthamiana</i> Domin.	callus cell cultures	[32]
shake flask system	Human granulocyte- macrophage colony- stimulating factor (hGM- CSF)	<i>Oryza sativa</i> L.	callus cell cultures	[33]
two different types of bioreactor (stirred and airlift)	galphimine-B	<i>Galphimia glauca</i> Cav.	callus cell cultures	[34]
shake flask system	ginsenoside	<i>Panax japonicus</i> C.A. Mey. var. <i>repens</i>	callus cell cultures	[35]

Recently, two novel bioreactor systems based on a periodic immersion have been developed for mass propagation of different kind of plant species, SETIS™ and RITA®. The basic working principle of both bioreactor systems are to prevent complete immersion of plant material in liquid maintain medium using separated sides of culture vessels and evacuation system for periodic circulation of liquid medium. In these systems, a set of channel for liquid medium supports uniform growth of plant tissue. The liquid medium touches plant materials for different periods of time and then medium turns back to storage tank. this periodical process is controlled by an electronic system, depending on explant type.

#### Temporary Immersion Systems (Tis) For Secondary Metabolite Production

In many times, liquid medium based bioreactor systems limit plant growth and complete immersion of whole plant tissues also causes malformation and loss of plant material because of hyperhydricity and asphyxia been unwanted physiological conditions [11, 12]. In these liquid cultures, complex morphological differentiation of plant material needs improvement of specific designed bioreactor systems, supporting sensitive and exclusive microenvironment for safe maintenance of cultures [13]. To overcome these limitations of liquid cultures, different kind of bioreactor systems such as temporary immersion systems TIS bioreactors have been developed. These systems are designed as simple automatic devices having many features to support ideal microenviroment, improved optimum aeration, ease nutrient intake, reduce mechanical stress and physiological disorders [14]. The optimum environmental conditions for *in vitro* propagation of plant tissues were provided by TIS bioreactor systems supplemented with periodically treatment of plant material with liquid medium [13].

Several type of TIS bioreactor systems have been developed and widely used for aromatic and medicinal plant micropropagation [15, 16]. In addition, due to their simple and functional design, these bioreactor systems have been used for aromatic and medicinal metabolite production, detoxification of toxic compound via phytoremediation, and also molecular farming [13]. Recently developed bioreactor systems, SETIS™ and RITA®, for production of secondary metabolites and foreign proteins, micropropagation, phytoremediation, molecular farming is discussed in this chapter.

#### SETIS™ BIOREACTOR SYSTEMS

SETIS™ (info@setis-systems.be, VERVIT, Belgium) is new style bioreactor system using TIS technology based on twin containers for mass production of plant tissues and organs (Figure 3) and these bioreactors have been used for mass production of many kind of plant species. These containers consist of two engaged vessels for liquid medium and plant material. Many limitations and problems of other TIS bioreactor systems have been solved by using SETIS™ bioreactors designed to provide the necessities of plant mass productions. These systems have been improved for optimum micropropagation of plant material. Basic, resistant, safe and ideal designed parts of these bioreactors have six components, culture and liquid medium containers, screw caps with silicone gaskets, filters for aeration, silicone tubes.

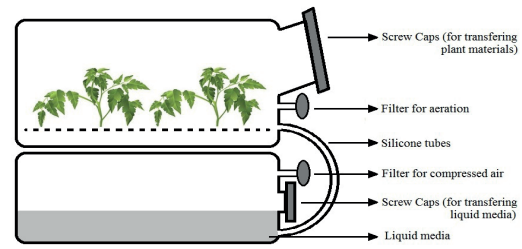


Figure 3. Structure of SETIS™ bioreactor system.

Working principles of SETIS™ bioreactor are based on three phase. First phase is constant phase, liquid media stay in the media vessel and plant material ventilates in this long phase. The second phase is immersion phase, liquid media is transferred by air compressing from medium container to growth container. During this phase, plant materials periodically intake nutrients and plant growth regulators from liquid media for mass production. The third phase is drain phase, liquid media returns to the medium container.

#### Rita® Bioreactor System

RITA® (<https://www.cirad.fr>, CIRAD, France) bioreactor system consisting of an autoclavable polypropylene container having two compartments has been developed for intensive mass propagation of plant tissues and organs (Figure 4). This compartments are separated by a table supported with grid and a central plastic pipe. The container is closed by a wide screw cap supported with centric connected with compressing air controlled using a timer and lateral ports secured with filters. The upper container is plant tissues and organs growth, whereas the lower container is for medium storage. RITA® is simple and safe bioreactor system and the system has compact design for supporting of enough relative humidity level for plant tissues. Connected internal elements of this bioreactor systems can be utilized as a single part for supporting mass production. Inadequacy of medium nutrient exchange and limited ventilation are the main disadvantages of these systems [17].

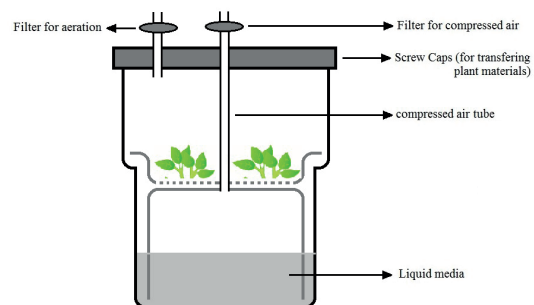


Figure 4. Structure of RITA® bioreactor system.

The RITA® bioreactor systems have been successfully used for mass production of medicinal and aromatic plants (Table 2).



**Table 2.** Studies on mass production of different plant species using RITA® [36].

Plant Species	Explant Type	Mass production (compared with semi-solid unless specified)	Reference
<i>Eucalyptus grandis</i> W.Hill ex Maiden	Hypocotyl segments	4 - 6 (in ½ time)	[37]
<i>Hydrastis canadensis</i> L.	Shoots	5,6	[38]
<i>Hippeastrum x chmielli</i> Chm.	Pieces of <i>in vitro</i> bulblets	2	[39]
<i>Jacaranda decurrens</i> Cham.	Nodal segments	1,4	[40]
<i>Phoenix dactylifera</i> L. (date palm)	Intact and fragmented juvenile leaves	2	[41]
<i>Saccharum</i> spp.	Leaf disks	9	[42]
<i>Vaccinium angustifolium</i> Ait. (lowbush blueberry)	3 node stem sections	3	[11]

### Physico-Chemical Factors Affecting Mass Production Via Bioreactor Systems

Biological needs for growth and development and mechanical requirements for supplying optimum conditions determined as physico-chemical factors such as dissolved oxygen and optimum ventilation, mixing of cultures, pH, medium composition, play an important role for large scale mass production of plant tissues and organs via bioreactor system.

#### Optimal ventilation and dissolved oxygen

The most important function of all bioreactor systems is to supply the optimal ventilation for regeneration and viability of plant tissues and organs. On the other hand, another important function of the bioreactor systems is to enrich the liquid medium with dissolved oxygen. For effective mass production, it is necessary to diffuse of oxygen into liquid medium, because of weak dissolved oxygen in water. Effective oxygen diffusion is achieved by arranging bioreactor parameters such as changing of agitation speed, aeration rate and redesigning of bioreactor configuration [18].

#### Mixing of liquid medium

The another important parameter is mixing of liquid medium for supporting of equal distribution of nutrients to cells, tissues and organs in the liquid phase [9]. Mixing of bioreactor contents is achieved by mechanical agitation, this agitation should be low for preventing of cell, tissue and organ damage caused from hydrodynamic forces, on the other hand, it should be support of enough uptake nutrients from liquid medium [1].

#### pH of liquid medium

The liquid medium pH is very effective on mass production of cells, tissues and organs in bioreactor systems. For example, liquid medium at pH 5.0 has inhibitory effect on embryogenesis of cultures [19]. The previous studies indicated that pH changes are caused by ammonium concentration of liquid medium [20,21]. Computer controlled bioreactor systems provide optimal conditions, like pH, for mass production of biological materials.

#### Nutrients of liquid medium

Another important factor affecting on big scale mass production is nutrients of liquid medium being a major chemical factor in bioreactor systems. To be obtain information of nutrient uptake from liquid medium, it can be provided by periodic individual nutrients measurement at different time for metabolite and mass production in bioreactors. One previous study about analysis of different nutrient compound dynamics during *Lilium* bulblet culture

in bioreactor system showed that phosphate, nitrate and ammonium run out from liquid medium, on the other hand, potassium, magnesium, calcium, sodium and chlorine were still present after sixteen weeks, but the most important limiting growth factor was carbon source in the medium [21]. There are many similar studies on different plant species, but effects of plant growth factor interactions and different compound dynamics for mass production are needed detailed future investigation.

#### Temporary immersion bioreactor systems for molecular farming

For production of very economical important recombinant proteins, plants provide an excellent source. Over the twenty years, molecular farming, obtaining of different proteins from plants or *in vitro* grown cells, tissues and organs of them, have been more attractive for industrial process. However, transgenic plants can produce very different product, if they grow in field and these products have limited shelf life, because they can impact from environmental conditions. These limitations can be overcome by using *in vitro* propagation techniques and there are several bioreactor systems adapted for foreign protein production from *in vitro* grown plant cell, tissue and organ cultures [22, 23]. For example, a vaccine antigen, green fluorescent protein and tetanus toxin (C fragment) were obtained by using temporary bioreactor systems from transplastomic tobacco shoots [24].

### CONCLUDING REMARKS

Temporary immersion bioreactor systems are very effective for big scale mass production of economical important aromatic and medicinal plants and these bioreactors have also different usage for production of plant-derived secondary metabolites. At the same time, another application of TIS bioreactor systems are purification of phenol contaminated waste water using transgenic hairy roots but these phytoremediation applications are not still implemented for purification of industrial wastes. Because of full environmental control options and optimum nutrient uptake from liquid medium, TIS bioreactor systems are preferred techniques for mass production of transgenic plants and these systems can be also thought perfect eco-friendly bioreactors for big scale production of economical important recombinant proteins derived from transgenic plant cells, tissues and organs. These days many improvements on TIS bioreactor systems have aimed to developed low cost disposable variants such as SETIS™ and RITA®.

## REFERENCES

- [1] Paek, K.Y., Chakrabarty, D., Hahn, E.J. 2005. Application of bioreactor systems for large scale production of horticultural and medicinal plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 81: 287–300.
- [2] Sajc, L., Grubisic, D., Novakovic, G.V. 2000. Bioreactors for plant engineering: An out for further research. *Biochem Eng J*, 4: 89–99.
- [3] Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gonteur, E. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Sci.*, 161: 839–851.
- [4] Ibaraki, Y., Kurata, K. 2001. Automation of somatic embryo production. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 65: 179–199.
- [5] Paek, K.Y., Chakrabarty, D. 2003. Micropropagation of woody plants using bioreactor. In: Jain, S.M., Ishii, K., eds. *Micropropagation of woody trees and fruits*. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands, 735–756.
- [6] Murashige, T., Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol Plant.*, 15(3): 473–497.
- [7] Takayama, S., Misawa, M. 1981. Mass propagation of *Begonia x hiemalis* plantlet by shake culture. *Plant Cell Physiol.*, 22: 461–467.
- [8] Paek, K.Y., Hahn, E.J., Son, S.H. 2001. Application of bioreactors of large scale micropropagation systems of plants. *In Vitro Cell Dev Biol Plant.* - Plant, 37: 149–157.
- [9] Honda, H., Liu, C., Kobayashi, T. 2001. “Large scale plant propagation”. In: Scheper, T. (ed) *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, SpringerVerlag Berlin, Heidelberg, 72: 157–182.
- [10] Heyerdahl, P.H., Olsen, O.A.S., Hvoslef-Eide, A.K. 1995. Engineering aspects of plant propagation in bioreactors. In: Aitken-Christie, J., Kozai, T., Smith, M.A.L.P., (Eds.) *Automation and environmental control in plant tissue culture* Kluwer Academic Pub. Dordrecht., 87–123.
- [11] Debnath, S. 2011. Bioreactors and molecular analysis in berry crop micropropagation - a review. *Can J Plant Sci*, 91: 147–157.
- [12] Yaseen, M., Ahmad, T., Sablok, G., Standardi, A. 2013. Role of carbon sources for *in vitro* plant growth and development. *Molecular Biology Reports*, 40: 2837–2849.
- [13] Steingroewer, J., Bley, T., Georgiev, V., Ivanov, I. 2013. Bioprocessing of differentiated plant *in vitro* systems. *Eng Life Sci*, 13: 26–38.
- [14] Georgiev, V., Schumann, A., Pavlov, A., Bley, T. 2014. Temporary immersion systems in plant biotechnology. *Eng Life Sci*, 14 (6): 607–621.
- [15] Etienne, H., Berthouly, M. 2002. Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 69: 215–231.
- [16] Ducos, J.P., Terrier, B., Courtois, D. 2010. Disposable bioreactors for plant micropropagation and mass plant cell culture, in: Eibl, R., Eibl, D. (Eds.), *Disposable Bioreactors*, Springer, Berlin Heidelberg, Germany, 89–115.
- [17] Alvard, D., Côte, F., Teisson, C. 1993. Comparison of methods of liquid media culture for banana micropropagation. Effects of temporary immersion of explants. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 32: 55–60.
- [18] Leathers, R.R., Smith, M.A.L., Christie, A.J. 1995. Automation of the bioreactor process for mass propagation and secondary metabolism. In: Christie, J.A., Kozai, T., Smith, M.L. (eds) *Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 187–214.
- [19] Lazzeri, P.A., Hildebrand, D.E., Collins, G.B. 1987. Soybean somatic embryogenesis: effects of nutritional, physical and chemical factors. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 10: 209–220.
- [20] Escalona, M., Lorenzo, J.C., Gonzalez, B., Daquinta, M., Gonzalez, J.L., Desjardins, Y., Borroto, C.G. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Rep.*, 18: 743–748.
- [21] Lian, M.L., Chakrabarty, D., Paek, K.Y. 2002. Growth and the uptake of sucrose and mineral ions by *Lilium* bulblets during bioreactor culture. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 77: 253–257.
- [22] Huang, T.K., McDonald, K.A. 2012. Bioreactor systems for *in vitro* production of foreign proteins using plant cell cultures. *Biotechnol. Adv.*, 30: 398–409.
- [23] Xu, J., Dolan, M.C., Medrano, G., Cramer, C.L. 2012. Green factory: Plants as bioproduction platforms for recombinant proteins. *Biotechnol. Adv.*, 30: 1171–1184.
- [24] Michoux, F., Ahmad, N., McCarthy, J., Nixon, P.J. 2011. Contained and high-level production of recombinant protein in plant chloroplasts using a temporary immersion bioreactor. *Plant Biotechnol. J.*, 9: 575–584.
- [25] Cui, X.H., Chakrabarty, D., Lee, E.J., Paek, K.Y. 2011. Production of adventitious roots and secondary metabolites by *Hypericum perforatum* L. in a bioreactor. *Biore-source Technology*, 101(12): 4708–4716.
- [26] Jeong, J.A., Wu, C.H., Murthy, H.N., Hahn, E.J., Paek, K.Y. 2009. Application of an airlift bioreactor system for the production of adventitious root biomass and caffeic acid derivatives of *Echinacea purpurea*. *Biotechnol. Bioproc. E.*, 14(1): 91–98.
- [27] Ahmed, S., Hahn, E.J., Paek, K.Y. 2008. Aeration volume and photosynthetic photon flux affect cell growth and secondary metabolite contents in bioreactor cultures of *Morinda citrifolia*. *J. Plant Biol.*, 51(3): 209–212.
- [28] Chan, L.K., Koay, S.S., Boey, P.L., Bhatt, A. 2010. Effects of abiotic stress on biomass and anthocyanin production in cell cultures of *Melastoma malabathricum*. *Biol. Res.*, 43: 127–135.
- [29] He, Y., Ning, T., Xie, T., Qiu, Q., Zhang, L., Sun, Y., Jiang, D., Fu, K., Yin, F., Zhang, W., Shen, L., Wang, H., Li, J., Lin, Q., Sun, Y., Li, H., Zhu, Y., Yanga, D. 2011. Large-scale production of functional human serum albumin from transgenic rice seeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(47): 19078–19083.
- [30] Liu, C., Towler, M.J., Medrano, G., Cramer, C.L., Weathers, P. 2009. Production of mouse interleukin-12 is greater in tobacco hairy roots grown in a mist reactor than in an airlift reactor. *Biotechnol Bioeng*, 102(4): 1074–1086.
- [31] Ganapathi, T.R., Sunil Kumar, G.B., Srinivas, L., Revathi, C.J., Bapat, V.A. 2007. Analysis of the limitations of hepatitis B surface antigen expression in soybean cell suspension cultures. *Plant Cell Rep.*, 26 (9): 1575–1584.
- [32] Huang, T.K., Plesha, M.A., McDonald, K.A. 2010. Semicontinuous bioreactor production of a recombinant human therapeutic protein using a chemically inducible viral amplicon expression system in transgenic plant cell suspension cultures. *Biotechnol Bioeng*, 106 (3): 408–421.
- [33] Kim, N.S., Kim, T.G., Kim, O.H., Ko, E.M., Jang, Y.S., Jung, Y.S., Kwon, T.H., Yang, M.S. 2008. Improvement of recombinant hGM-CSF production by suppression of cysteine proteinase gene expression using RNA interference in a transgenic rice culture. *Plant Mol. Biol.*, 68: 263–275.
- [34] Osuna, L., Moyano, E., Mangas, S., Bonfill, M., Cusidó, R.M., Piñol, M.T., Zamilpa, A., Tortoriello, J., Palazón, J. 2008. Immobilization of Galphimia glauca Plant Cell Suspensions for the Production of Enhanced Amounts of Galphimine-B. *Planta Med.*, 74(1): 94–99.

- [35] Smolenskaya, I., Reshetnyak, O., Nosov, A., Zorinians, S., Chaiko, A., Smirnova, Y. 2007. Ginsenoside production, growth and cytogenetic characteristics of sustained *Panax japonicus* var. *repens* cell suspension culture. Biol. Plantarum, 51: 235-241.
- [36] Watt, M.P. 2012. The status of temporary immersion system (TIS) technology for plant micropropagation. Afr. J. Biotechnol., 11(76): 14025-14035.
- [37] McAlister, B., Finnie, J., Watt, MP., Blake Way, F.C. 2005. Use of temporary immersion bioreactor system (RITA<sup>®</sup>) for the production of commercial *Eucalyptus* clones at Mondi Forests (SA). Plant Cell Tissue Organ Cult., 81: 347-358.
- [38] He, S-s., Liu, C-z., Saxena, P.K. 2007. Plant regeneration of an endangered medicinal plant *Hydrastis canadensis* L. Sci. Hortic., 113: 82-86.
- [39] Ilczuk, A., Winkelman, T., Richartz., S., Witomska, M., Serek, A. 2005. *In vitro* propagation of *Hippeastrum x chmielii* Chm. - influence of flurprimidol and the culture in solid or liquid medium and in temporary immersion systems. Plant Cell Tissue Organ Cult., 83: 339-346.
- [40] Malosso, M.G., Bertoni, B.W., Coppede, J.S., Franca, S.C., Pereira, A.M.S. 2012. Micropropagation and in vitro conservation of *Jacaranda decurrens*. J. Med. Plants Res., 6: 1147-1154.
- [41] Fki, L., Bouaziz, N., Kriaa, W., Benjemaa-Masmoudi, R., Gargouri-Bouazid, R., Rival, A., Drira, N. 2011. Multiple bud cultures of 'Barhee' date palm (*Phoenix dactylifera*) and physiological status of regenerated plants. J. Plant Physiol., 168: 1694-1700.
- [42] Snyman, S.J., Nkwanyana, P.D., Watt, M.P. 2011. Alleviation of hyperhydricity of sugarcane plantlets produced in a RITA<sup>®</sup> and characterisation of acclimated plants. S. Afr. J. Bot., 77: 685-692.
- [43] Spier, M.R., de Souza Vandenberghe, L.P., Medeiros, A.B.P., Soccol, C.R. 2011. "Application of different type of bioreactors in bioprocesses". In: Antolli PG, Liu Z (eds) Bioreactors: Design, Properties and Applications, Nova Sci Publishers, 55-90.





## Environmental Pollution and Pollutants on the Ecosystem: A Review.

Arzu Özkara<sup>1\*</sup> Dilek Akyıl<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Molecular Biology and Genetic Department, Faculty of Sciences and Literatures, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

\*Corresponding Author:

E-mail: arzuozkara@gmail.com

Received: August 6, 2018

Accepted: 1 November, 2018

### Abstract

One of the greatest problems that the world is facing today is that of environmental pollution, increasing with every passing year and causing grave and irreparable damage to the earth. Pollutants emerge from various anthropogenic sources in ecosystem and are distributed throughout environmental matrices. There are different types of pollutant e.g. heavy metal, pesticides, industrial compounds, personal care products, poisonous gases and PAHs. These pollutants may be mobile and persistent in water, air, soil and sediments even at low concentrations. Pollution must be taken seriously, as it has a negative effect on natural elements that are an absolute need for life to exist on earth, such as water and air. For these reasons, the purpose of this publication is to explain types of pollutions and the effects of the pollutants on the ecosystem.

**Keywords:** Ecosystem, Pesticide, PAHs, Pollution, Pollutants

### INTRODUCTION

In the last decades, there has been an increasing global worry over the public health impacts attributed to environmental pollution. It was the industrial revolution that gave birth to environmental pollution as we realize it today. Populations of developing countries are particularly vulnerable to toxic pollution resulting from industrial processes. In recent years, people have been exposed to different types of compounds with broad spectrum due to the rapidly developing technology [1]. Technology has brought us clear simplicity, and thousands of substances produced in different areas are up on the market every year [2]. It has been shown that global production of anthropogenic chemicals increased from 1 million to 400 millions tons per each year between 1930 and 2000 [3]. Statistics reported by EURO-STAT that, over 50% of the total production of chemicals is represented by environmentally harmful substances between 2002 and 2011. It is important that over 70% of these chemicals are significant with environmental impact [4, 5].

Over recent decades, the world has exposed the adverse consequences of uncontrolled development of multiple human activities in, for example, urbanisation, transport, industry and agriculture. The increase in living standards and higher consumer demand have amplified pollution of water with a variety of chemicals, leachates, nutrients, oil spills, among others, of the air with, for example, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub> and other greenhouse gases and particulate matter, and of the soil due to the disposal of hazardous wastes, sludge, spreading of pesticides, as well as the use of dis-posable or non-biodegradable materials and the lack of proper facilities for waste [5, 6].

Pollution is the introduction of contaminants into the environments that cause discomfort or harm to other living organisms or damage the environment, which can come in the form of chemical substances or energy, such as light, heat, or noise. Pollutants can be naturally occurring substances but are considered contaminants when in excess of the natural levels. Santos divided pollutants into biodegradable and

nonbiodegradable ones. Biodegradable pollutants can be broken down and processed by living organisms, including phosphates, organic waste products, and inorganic salts. Nonbiodegradable pollutants cannot be decomposed by living organisms and therefore persist in the ecosphere for extremely long periods of time. They contain plastics, metals, pesticides, glass and radioactive isotopes [1, 7].

There has been heightening awareness and concern about the persistence and biological effects of anthropogenic contaminants ever since Rachel Carson's book *Silent Spring* was published [8, 9]. Some forms of pollution exert a destructive effect on plants, animals, humans and wildlife by impairing or killing the health of their individuals [10, 11]. Environmental pollution has started with the appearance of humans. When *Homo sapiens* lighted fire, its smoke proved to be the first environmental pollution [12]. Pollution has increased dramatically in recent years and effected all living organisms negatively in the world.

This review focuses primarily on pollution of ecosystems and aims to address some key features of anthropogenic pollutants, in particular air, water and soil pollutants as well as pesticides, PAHs and heavy metals.

### History of Anthropogenic Pollution

Anthropogenic pollution is not new-humans have contributed to the environmental burden since they learned to control fire [13]. Walls of caves are covered by thick layers of soot many thousand years ago. Hence, it is supposed that breathing of cavemen was difficult due to the smoke. Additionally their eyes irritated in the closed room. Lungs of mummified bodies from the Palaeolithic era are often black [12, 14]. In the early times, environmental pollution was responsible for several kinds of illnesses. Human excrement might have been the first pollution of the environment. Bowel bacterium living in the human body, such as the *Escherichia coli*, might have got from faeces to springs, which might have infected the early humans. This environmental pollution has been the reason of millions' illnesses even recently [12, 15]. Dust pollution also appeared in the early times. According to

the assumption of Janssens, in the New Stone Age in stone mines, people who carved flint from limestone day by day might have suffered from silicosis. The reason of it was that they breathed stone powder all the day [15].

The people were concentrated in cities with industrial revolution and resulted in increased pollution of the air, as a result of the burning of fossil fuels, and of rivers, with organic pollutants in the form of sewage [16]. Moreover, traffic increased air pollution of cities [14]. New substances of many classes, including halogenated organic compounds, alkyl phenols, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and phthalates were manufactured for use domestically and in industry, agriculture. Therefore, these chemicals inevitably were released into the environment [17].

The old pollutants clearly had adverse effects on wildlife populations and human health but we are only now beginning to understand the effects of the new pollutants. Their effects may be equally, or more, harmful [18].

### **Types of Emerging Pollutants and Adverse Effects**

#### ***Air Pollution***

Various industrial, transport and other pollution sources release a number of specific and common pollutants such as a oxides of sulfur, carbon, halogen gases, nitrogen, toxic heavy metals, oxidants, volatile hydrocarbons and ozone, to name a few. Many of these pollutants, even if released in small quantities, persist in the environment and can build up to high levels. Many others undergo transformation and are converted into more dangerous forms than the parent compounds. Exposure to high concentration of toxic substances induces specific acute toxicities, whereas long term level of exposure causes chronic toxicity [11].

The sensitivity of health impact of pollution depends on kind of pollution and pollutant, degree of exposure, presence of interaction chemicals, species, age, physiology and nutrition of the exposed population [11, 19].

Presently the lower part of the atmosphere is known as "air" and is formed by mainly oxygen, nitrogen and other gases, trace gases and particles. The energy consumption and technical evolution related to these sources is one main cause of the man made pollution. This pollution causes modification of the air quality. The four major groups of gaseous air pollutants by historical importance, concentration, and overall effects on plants, animals and humans are, oxides of nitrogen ( $\text{NO}_x$ :  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ), carbon dioxide ( $\text{CO}_2$ ), sulphur dioxide ( $\text{SO}_2$ ) and ozone ( $\text{O}_3$ ). Sulphur dioxide and nitric oxide ( $\text{NO}$ ) are primary pollutants – they are emitted directly from sources. The most important groups of anthropogenic air pollution sources are defined by industrial processed, transportation, residential heating systems and agricultural systems [20].

Tropospheric ozone is one of the world's most important regional-scale air pollutants carrying risks to both vegetation and human health [21]. Ozone is a secondary pollutant, formed from the precursors volatile organic compounds (VOCs) including methane and nitrogen oxides ( $\text{NO}_x$ ). At present ecosystems, particularly forest systems, act as a net sink of ozone. However, this effect is decreased by deforestation, which reduces canopy uptake, and replacement of forests with agriculture, which increases nitrogen oxide emissions from soil [22]. Ozone is also of great importance for climate regulation. In addition to its role as a greenhouse gas, ozone may also have large effects on climate regulation services in

terrestrial ecosystems. Although there are large uncertainties in the analysis, it is likely that the physiological effect of ozone on vegetation will also limit carbon sequestration by plants and thus counterbalance any increased carbon sequestration caused by  $\text{CO}_2$  fertilisation [23].

Acid rain is primarily caused by the release of nitrogen and sulfur into the atmosphere as a result of coal and oil combustion by power plants vehicles and machines. The hazards posed by acid rain were first recognized in late 1970's. The acid rain increases acidity of aquatic ecosystem, leading to poor performance of fish species. The modern animal production results in disposal of large amount of unprocessed manure, which through emissions produces ammonia. Ammonia is hazardous to both animals and humans disturbs ecological balance and produces acid rain [24].

Ammonia can have significant effects on a large range of sensitive ecosystems through both increased acidification and nitrogen deposition. It also has human health impacts, acting as a precursor for secondary inorganic aerosols. Emissions of ammonia affect services in both terrestrial and aquatic ecosystems [25].

Although there are natural sources, production of sulphur dioxide ( $\text{SO}_2$ ) is overwhelmingly anthropogenic with combustion of fossil fuels by coal-fired power stations being the most important sector [26]. Although sulphur deposition as  $\text{SO}_x$  (dry deposition as  $\text{SO}_2$  and wet deposition as  $\text{SO}_4$ ) can cause a reduction in both plant growth and yield it may act as a fertiliser in low sulphur ecosystems. Acidification is another major impact of sulphur deposition in both aquatic and terrestrial ecosystems [25].

#### ***Water Pollution***

Emerging organic contaminants (ECs) are compounds now being found in groundwater from agricultural, urban sources that were previously not detectable, or thought to be significant. ECs include pesticides and degradates, water treatment byproducts, industrial compounds, pharmaceuticals, fragrances, personal care products, food additives, flame retardants and surfactants, engineered nanomaterials as well as 'life-style' compounds such as caffeine and nicotine. ECs may have adverse effects on human health and aquatic ecosystems [27, 28]. In the last few decades there has been a growing interest in the occurrence of these contaminants in the aquatic and terrestrial environment, their potential toxicity and their environmental fate even at low concentrations [29]. The pollutions of groundwater is a growing concern and relatively poorly understood compared to other freshwater resources [28, 30].

To date, the occurrence of ECs has been much better characterised in surface water and wastewater environments than in groundwater resources [30]. Wastewaters are the main sources of ECs in the environment and surface waters therefore contain the greatest loads of ECs. Wastewaters and surface waters are also thought to contain a much greater diversity of compounds compared to groundwater, although this may be simply a function of the capability of analytical methods relative to the generally lower groundwater concentrations and the limited number of groundwater studies [28].

Effects of ECs on human and ecosystem health are largely unknown, and relatively little is known about the ways they travel through the environment or how they may be transformed or degraded in the course of their travels. Some studies have shown that even very low exposure to

certain ECs can have impacts on biological systems. Effects seen in aquatic species and some fish, but have not been observed in humans [27].

Pesticides have been determined at trace concentrations in groundwater worldwide for a considerable period and are well-known contaminants [31, 32]. By their nature degradates may be toxic and many of them are biologically active [28]. Pharmaceutical chemicals frequently have been observed in the environment except pesticides. The presence of pharmaceutical substances has long been recognised as a concern in the aquatic environment [28, 33]. The primary routes for pharmaceuticals into the environment are disposal of unused products, through human excretion and through agricultural usage [28, 34]. Pharmaceuticals have recently started to be found in the aquatic environment from ng/L to µg/L, mainly due to the inefficiencies of wastewater treatment plants. These micropollutants are biologically active molecules and they have sub-lethal or chronic toxic effects therefore most of these micropollutants raise considerable toxicological concerns [35].

There are a wide range of industrial substances which can be released to the ecosystem and many of these e.g. chlorinated solvents, petroleum hydrocarbons, adipates and phthalates, have led to well-established problems [36]. Nicotine, caffeine and the nicotine metabolite cotinine also have been widely determined in groundwater impacted by sewage effluent [37, 38].

#### **Soil Pollutions**

Soil is a vital part of the natural environment. It is just as important as plants, animals, loch, landforms, rocks and rivers. It provides a habitat for a wide range of organisms and influences the distribution of plant species. It controls the flow of water and chemicals between the earth and the atmosphere, and acts as both a source and store for gases in the atmosphere. Soils not only reflect natural processes but also record human activities both at present and in the past [39].

Soil pollution is the reduction in the productivity of soil because of the presence of soil pollutants. Soil pollutants have an adverse effect on the chemical, physical and biological properties of the soil. Chemicals, fertilizers, pesticides, organic manure, discarded food, radioactive wastes, clothes, plastics, bottles and leather goods-all contribute towards causing soil pollution [39]. Soil heavy metal pollution has become an important problem in many parts of the world [40, 41]. Following rapid economic and social development over the past decades, soil pollution by heavy metals has been both serious and widespread in China [42, 43]. Although heavy metals may occur naturally in soil, additional contributions come from anthropogenic activities such as industrialization, urbanization, agriculture and mining [40]. Indeed, many of studies have shown that pollution sources of heavy metals in the environment mainly derive from these anthropogenic activities [44, 45]. Chemicals like iron, lead, copper, mercury, cyanides, zinc, aluminium, cadmium, acids and alkalies etc. are present in industrial wastes and reach the soil either directly with water or indirectly through air. Unconscious and continuous use of pesticides to protect the crops from pests, alter the main composition of the soils and make the soil toxic for plant growth. Consequently, they have a very destructive effect on the plant growth and reducing the yield and size of fruit. Their degradation products may be absorbed by the plants from where they reach the animals and human

through the food chains [39]. Humans have intentionally added substances such as pesticides, fertilizers and other amendments to soils. Leaks of chemicals and accidental spills used for industrial or commercial purposes have also been sources of contamination. Some contaminants are moved through the air and deposited as dust or by precipitation [46]. Contaminated soil causes to health risks due to direct and indirect contact with these soil. The effects of pollution on soil are quite disturbing and can result in huge disturbances in the ecological balance and health of living beings on earth [39].

#### **Some of Other Pollutants in Ecosystem**

##### **Heavy Metals**

Heavy metal pollution is a serious problem in most countries of the world [11]. Contamination of trace metal is important due to its potential toxicity for humans and the environment [47]. The role of trace and heavy metals in the soil system is increasingly becoming an important matter of global concern [48]. Heavy metal pollution is persistent, covert and irreversible [43]. This kind of pollution not only degrades the quality of the atmosphere, food crops and water bodies, but also threatens the health and infiltrate animals and humans of the food chain [43, 45, 49]. Various anthropogenic activities, such as mining metallurgy, industries, burning of fossil fuel and transport redistribute toxic heavy metals into the environment, which persist for long period and translocate to different components of the environment, including biotic segment. These toxicants accumulate in the vital organs, including kidney and liver, and exert adverse effects on domestic and wild animals populations [11, 50, 51]. Accumulation of heavy metal in soil is concern in agricultural production due to adverse effects on crop growth and food quality [52, 53]. The heavy metals are health hazards either directly by inhaling dust or drinking contaminated water or indirectly; by consuming vegetables grown on contaminated soils [54]. Metals such as copper and cadmium are cumulative poisons. These metals cause environmental hazards and are reported to be extremely toxic [55]. Moreover, chronic exposure to cadmium can have adverse effects such as pulmonary adenocarcinomas, prostatic proliferative lesions, bone fractures, lung cancer, kidney dysfunction, and hypertension, while the chronic effects of Arsenic consist of dermal lesions, skin cancer, peripheral neuropathy and peripheral vascular disease [56]. Vegetables take up metals by absorbing them from contaminated soils, as well as from deposits on different parts of the vegetables exposed with air pollution [57]. Heavy metals may enter the human body through direct ingestion of soil, dust inhalation and consumption of food plants grown in metal contaminated soils [58]. Additionally, humans may come in contact with heavy metals via their jobs in industrial, agricultural or pharmaceutical. Children can also be poisoned as a result of playing in contaminated soil. Symptoms vary, depending on the nature and the quantity of exposed heavy metal. Patients may complain of vomiting, nausea, stomach pain, diarrhea, headache, sweating and a metallic taste in the mouth [48].

##### **PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)**

PAHs are especially emitted into the atmosphere by the incomplete combustion of fossil fuels [9]. They are extensively environmental pollutants that are characterized by their hazardous mutagenic and carcinogenic potential [59]. PAHs are found ubiquitously, not only air, soil and

water, but also in various foods we encounter in our everyday life [60-62]. Additionally, PAHs could be transported by the stormwater runoff [63, 64], imposing considerable risk on aquatic life [54]. The primary sources of PAHs are identified as anthropogenic in origin such as the exhaust of motor vehicles, heating in power plants, petroleum refineries, combustion of refuse, oil/gasoline spills, barbeque smoke, deposition from sewage, tobacco smoke and coke production [60]. PAHs can be engaged in metabolic activation in human mammalian cells which have adherence to DNA, and tissues leading to mutations [62]. Because of the diversity of their sources, PAHs have received increased attention in recent years. Dietary intake of PAHs is the major route of human exposure [63]. In recent years, increases levels of PAHs in different environmental media (air, soil, sediment and water) have been reported not only in developing but also in developed countries [62]. Therefore, PAHs are one of the most important environmental problems today.

### Pesticides

Pesticides are chemicals used on agricultural land but also in along railways, private gardens and in other public areas [64]. The use of pesticides for crop protection is supposed to increase based on a growing world population and the need for more food sources. While pesticides increase agricultural production, bioaccumulation through the food chain can finally become a risk to living organisms because pesticides induce certain adverse effects [51, 65, 66]. Some parts of pesticides sprayed on crops will remain in agricultural areas, but some of them will enter the surrounding water, air and soil [67, 68]. Pesticides can remain in the environment for many years and may be transported over a long distance [69]. Pesticide residues in water, sediment and soil are significant environment threats and have been identified as carcinogen pollutants in many countries [70, 71]. Thus, the excessive application of these substances over the past half-century has posed serious risks to human health [72, 73]. There have been a lot of reports regarding pesticide residues detected in milk [74], vegetables [75], and grains [65]. Residue of pesticides such as dieldrine, aldrin, chlordane and heptachlor have been detected with increasing frequencies in farm animals and their products, including meat, milk and eggs in India [11]. Furthermore, many pesticides can persist for long periods in environment; organochlorine insecticides, for instance, are still detectable in surface waters thirty years after their use and had been banned [76]. Pesticides meet with non-target organisms in the food chain which including mankind. They accumulate in the body tissues of organisms and cause a various of health problems [77, 78]. Experimental research has shown that some of pesticides are endocrine disruptors that can disturb the functioning of different hormones throughout the body [79]. Studies reported that there are evidences of pesticide exposure and disorders in both hormonal regulation imbalance and immune system activities [80]. Several epidemiological studies showed in the last two decades suggest harmful effects of pesticides on human health, including a possible relationship between pesticide use and cancers, such as leukemia, non-Hodgkin's lymphoma and different types of solid tumor [81, 82].

For developing countries, the importance of agricultural pesticides is undeniable. However, the issue of environmental risks and human health has emerged as a key problem for these countries in a number of studies [83-86]. Many people are exposed to pesticides occupationally, and pesticide self-poisoning is an important public health

problem [87]. Annually, 3 million cases of acute poisoning have been reported from pesticide exposure, resulting in the deaths of 250 to 370,000 people every year [88]. For all this reason, unconscious use of pesticides is a serious problem for ecosystem pollution and human health.

## CONCLUSION

In recent years, people have been exposed to several types of substances with broad spectrum due to the rapidly evolving technology. Technology has brought us clear conveniences, and thousands of chemicals produced in different areas are up on the market every year. The quality of life on earth is linked to the overall quality of the environment. All living organisms effect adversely by emerging pollutants in ecosystem due to anthropogenic activities. Anthropogenic pollutants include pesticides, pharmaceuticals, industrial additives and by-products, PAHs, water treatment by products, flame/fire retardants and surfactants, as well as caffeine and nicotine metabolites and hormones. Exposure of these pollutants have serious health problems in organisms which live in ecosystem. Regulation of these compounds in environment will be a challenging task and require much better understanding of key contaminant properties as well as their distribution and behaviour. Therefore, environmental concentrations of each pollutant must be determined. In addition, uptake, metabolism and excretion of pollutants must be investigated related species. For resolve the environmental pollution, the future should be plan to reduce the adverse effects of pollution and work together cooperation and coordination between the different disciplines.

## REFERENCES

- [1] Özkara A, Akyıl D, Konuk M. 2016. Pesticides, environmental pollution, and health (Chapter 1), *Environmental Health Risk - Hazardous Factors to Living Species*, M. L. Larramendy and S. Soloneski (Eds), 3-29.
- [2] Pastor S, Creus A, Parrón T, Cebulka-Wasilewska A, Siffel C, Piperakis S, Marcos R. 2003. Biomonitoring of four European populations occupationally exposed to pesticides: Use of micronuclei as biomarkers, *Mutagenesis*. 18(3): 249-258.
- [3] WWF, TOXIC CHEMICALS. [http://wwf.panda.org/about\\_our\\_earth/teacher\\_resources/webfieldtrips/toxics/](http://wwf.panda.org/about_our_earth/teacher_resources/webfieldtrips/toxics/).
- [4] EUROSTAT, <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/tgm/table.do?tab=table&init=1&plugin=1&language=en&pcode=ten00011>.
- [5] Gavrilesco M, Demnerova K, Aamand J, Agathos S, Fava F. 2015. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation, *New Biotechnology*. 32(1): 147-156.
- [6] Gavrilesco M. 2010. Environmental biotechnology: achievements, opportunities and challenges, *Dynamic Biochemistry Process Biotechnology and Molecular Biology*. 4:1-36.
- [7] Santos M A. 1990. Managing planet earth: Perspectives on population, ecology, and the law, Bergin and Garvey, Westport Connecticut, Newyork, 44.
- [8] Delaplane K S. 2000. Pesticide usage in the United States: History, benefits, risks, and trends," Cooperative Extension Service, The University of Georgia, College of Agricultural and Environmental Sciences, Bulletin 1121/



Reprinted November, 2000. <http://pubs.caes.uga.edu/caespubs/pubs/PDF/B1121.pdf>2000.

[9] Venkatraman P T. 2009. Pathways of organic chemical contamination in ecosystems, *Environmental and Ecological Chemistry*. 3:85-104.

[10] Patra R C, Swarup D. 2000. Effect of lead on erythrocytic antioxidant defense, lipid peroxide level and thiol groups in calves, *Research in Veterinary Science*. 68:71-74.

[11] Ahmed D E. 2007. Environmental pollution and its impact on human and animal health: A review, *The Sudan Journal of Veterinary Research*. 22: 37-46.

[12] Borsos E, Makra L, Béczi R, Vitányi B, Szentpéteri M. 2003. Anthropogenic air pollution in the ancient times, *Acta Climatologica et Chorologica*. 36-37.

[13] Hong S, Candelone J P, Patterson C C, Boutron C F. 1996. History of ancient copper smelting pollution during Roman and medieval times recorded in Greenland ice, *Science*. 272: 246-249.

[14] McNeill J R. 2000. Something new under the sun. An environmental history of the 20<sup>th</sup> century world, *Geographical Review*. 90(1): 147-149.

[15] Markham A. 1995. *A Brief History of Pollution*, Earthscan, London. Halliday.

[16] Davis D L, Bell M L, Fletcher T. 2002. A look back at the London smog of 1952 and the half century since, *Environmental Health Perspective*. 110:734-735.

[17] Colborn T, Vom Saal A M, Soto A M. 1993. Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and human, *Environmental Health Perspective*. 101: 378-384.

[18] Rhind S M. 2009. Anthropogenic pollutants: a threat to ecosystem sustainability?, *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 364:3391-3401.

[19] Humphreys D J. 1991. Effects of exposure to excessive quantities of lead on animals, *British Veterinary Journal*. 147(1): 18-30.

[20] Popescu F, Ionel I. 2010. Anthropogenic air pollution sources, air quality, A. Kumar, (Ed.), ISBN: 978-953-307-131-2, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/airquality/anthropogenic-air-pollution-sources>.

[21] Royal S. 2008. Ground-level ozone in the 21st century: Future trends, impacts and policy implications, *Science Policy Report*.

[22] Ehhalt D, Prather M. 2001. Atmospheric chemistry and greenhouse gases. *Climate Change 2001, The Scientific Basis*, Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, Cambridge University Press: 239-287.

[23] Sitch S, Cox P M, Collins W J, Huntingford C. 2007. Indirect radiative forcing of climate change through ozone effects on the land-carbon sink, *Nature*. 448:791-794.

[24] Hadina S, Vucemilo D, Tofant A, Matkovic K. 2001. Effect of ammonia on environment and animal health, *Stocarstvo*. 55:187-193.

[25] Persson L, Arvidson A, Lannerstad M, Lindskog H, Morrissey T, Nilsson L, Noel S, Senyagwa J. 2010. Impacts of pollution on ecosystem services for the millennium development goals, *Stockholm Environment Institute*.

[26] Emberson L D, Ashmore M, Murray F. 2003. *Air pollution impact on crops and forests: A global assessment*, Imperial College Press. London.

[27] Raghav M, Eden S, Mitchell K, Witte B. 2013. *Water resources research center*, College of Agriculture and

Life Sciences, University of Arizona.

[28] Stuart M E, Manamsa K, Talbot J C, Crane E J. 2011. Emerging contaminants in groundwater, *British Geological Survey Open Report*.

[29] Kümmerer K. 2009. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use-present knowledge and future challenges, *Journal of Environmental Management*. 90:2354-66.

[30] Pal A, Gin K Y, Lin A Y, Reinhard M. 2010. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects, *Science of the Total Environment*. 408: 6062-6069.

[31] Spliid N H, Køppen B. 1998. Occurrence of pesticides in Danish shallow groundwater, *Chemosphere*. 37(7):1307-1316.

[32] Tappe W, Groeneweg J, Jantsch B. 2002. Diffuse atrazine pollution in German aquifers, *Biodegradation*. 13(1):3-10.

[33] Richardson M L, Bowron J M. 1985. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment, *Journal of Pharmacology*. 37:1-12.

[34] Barnes K, Kolpin D W, Furlong E T, Zaugg S D, Meyer M T, Barber L B. 2008. A national reconnaissance of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States- I. groundwater, *Science of the Total Environment*. 402:192-200.

[35] Caracciolo A B, Patrolocco L, Lenola M D, Battaglia A, Grenni P. 2012. Degradation of emerging pollutants in aquatic ecosystems, *Chemical Engineering Transactions*. 28.

[36] Verliefde A, Cornelissen E, Amy G, Van der Bruggen B, van Dijk H. 2007. Priority organic micropollutants in water sources in Flanders and the Netherlands and assessment of removal possibilities with nanofiltration, *Environmental Pollution*. 146:281-289.

[37] Godfrey E, Woessner W W, Benotti M J. 2007. Pharmaceuticals in on-site sewage effluent and ground water, *Western Montana, Ground Water*. 45:263-71.

[38] Teijon G, Candela L, Tamoh K, Molina-Díaz A, Fernández-Alba A R. 2010. Occurrence of emerging contaminants, priority substances (2008/105/CE) and heavy metals in treated wastewater and groundwater at Depurbaix facility (Barcelona, Spain), *Science of the Total Environment*. 408:3584-95.

[39] Mishra R K, Mohammad N, Roychoudhury N. 2016. Soil pollution: Causes, effects and control, *Van Sangyan*. 3(1).

[40] Facchinelli A, Sacchi E, Mallen L. 2001. Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal sources in soils, *Environmental Pollution*. 114:313-24.

[41] Solgi E, Esmaili-Sari A, Riyahi-Bakhtiari A, Hadipour M. 2012. Soil contamination of metals in the three industrial estates, Arak, Iran, *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*. 88:634-638.

[42] Chen H M, Zheng C R, Tu C, Zhu Y G. 1999. Heavy metal pollution in soils in China: status and countermeasures, *Ambio*. 130-144.

[43] Wang Q R, Dong Y, Cui Y, Liu X. 2001. Instances of soil and crop heavy metal contamination in China, *Soil Sediment Contamination*. 10:497-510.

[44] Wei B G, Yang L S. 2010. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China, *Microchemical Journal*. 94: 99-107.

- [45] Li Z, Ma Z, van der Kuijp T J, Yuan Z, Huang L. 2014. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment, *Science of the Total Environment*. 468(469):843–853.
- [46] Shayler H, McBride M, Harrison E. 2009. Sources and impacts of contaminants in soils, Cornell Waste Management Institute, Department of Crop and Soil Sciences.
- [47] Censi P, Spoto S E, Saiano F, Sprovieri M, Mazzola S, Nardone G. 2006. Heavy metals in coastal water systems. A case study from the northwestern Gulf of Thailand, *Chemosphere*. 64(7):1167-76.
- [48] Roozbahani M M, Sobhanardakani S, Karimi H, Sorooshnia R. 2015. Natural and anthropogenic source of heavy metals pollution in the soil samples of an industrial complex; a case study, *Iranian Journal of Toxicology*. 9(29).
- [49] Nabulo G, Young S D, Black C R. 2010. Assessing risk to human health from tropical leafy vegetables grown on contaminated urban soils, *Sciences of Total Environment*. 408:(53): 38–51.
- [50] Abou-Arab A. 2001. Heavy metal contents in Egyptian meat and the role of detergent washing on their levels, *Food and Chemical Toxicology*. 39(6):593–599.
- [51] Liu Y, Li S, Ni Z, Qu M, Zhong D, Ye C. 2016. Fubin Tang pesticides in persimmons, jujubes and soil from China: Residue levels, risk assessment and relationship between fruits and soils, *Science of the Total Environment*. 542:620–628.
- [52] Fergusson J E. 1990. *The Heavy Elements, Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*. London: Pergamon Press; p. 614.
- [53] Msaky J J, Calvert R, 1990. Adsorption behavior of copper and zinc in soils: influence of pH on adsorption characteristics, *Soil Science*. 150(2):513-22.
- [54] Zhang C, Yu Z, Zeng G. 2014. Effects of sediment geochemical properties on heavy metal bioavailability, *Environment International*. 73:270-281.
- [55] Yargholi B, Azimi A A, Baghvand A, Liaghat A M, Fardi G A. 2008. Investigation of cadmium absorption and accumulation in different parts of some vegetables, *American-Eurasian Journal Agricultural Environmental Science*. 3(3):357-364.
- [56] Zukowska J, Biziuk M. 2008. Methodological evaluation of method for dietary heavy metal intake, *Journal of Food Science*. 1–9.
- [57] Zurera-Cosano G, Moreno-Rojas R, Salmeron-Egea J, Pozo Lora R. 1989. Heavy metal uptake from greenhouse border soils for edible vegetables, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 49(3):307-314.
- [58] Cambra K, Martínez T, Urzelai A, Alonso E. 1999. Risk analysis of a farm area near a lead- and cadmium-contaminated industrial site, *Journal of Soil Contamination*. 8(5):527-540.
- [59] Wegrzyn E, Grzeskiewicz S, Poplawska W, Glod B K. 2006. Modified analytical method for polycyclic aromatic hydrocarbons, using sec for sample preparation and RP-HPLC with fluorescence detection application to different food samples, *Acta Chromatographica*. 17:233.
- [60] Moon H B, Kim H S, Choi M, Choi H G. 2010. Intake and potential health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons associated with sea food consumption in Korea from 2005 to 2007, *Archives of Environmental Contamination Toxicology*. 58(1):214–221.
- [61] Ghasemzadeh-Mohammadi V, Mohammadi A, Hashemi M, Khaksar R, Haratian P. 2012. Micro wave assisted extraction and dispersive liquid–liquid micro extraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for isolation and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish, *Journal of Chromatographica A*. 1237:30-36.
- [62] Bansal V, Kim K. 2015. Review of PAH contamination in food products and their health hazards, *Environment International*. 84:26–38.
- [63] Xia Z, Duan X, Tao S. 2013. Pollution level, inhalation exposure and lung cancer risk of ambient atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taiyuan, China, *Environmental Pollution*. 173:150–156.
- [64] Grube A, Donaldson D, Kiely T, Wu L. 2011. *Pesticides industry sales and usage: 2006 and 2007 market estimates*. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.
- [65] Lozowicka B, Kaczynski P, Paritova A. E. 2014. Pesticide residues in grain from Kazakhstan and potential health risks associated with exposure to detected pesticides, *Food and Chemical Toxicology*. 64:238–248.
- [66] Skretteberg L G, Lyran B, Holen B. 2015. Pesticide residues in food of plant origin from Southeast Asia-A Nordic Project, *Food Control*. 51:225-235.
- [67] Malone R W, Ahuja L R, Ma L, DonWauchope R, Ma Q, Rojas K W. 2004. Application of the root zone water quality model (RZWQM) to pesticide fate and transport: An overview, *Pest Management Science*. 60(3):205-221.
- [68] Lefrancq M, Imfeld G, Payraudeau S, Millet M. 2013. Kresoximethyl deposition, drift and run off in a vineyard catchment, *Science of the Total Environment*. 442:503-508.
- [69] Scholtz M T, Voldner E, McMillan A C, Van Heyst B J. 2002. A pesticide emission model (PEM). Part I Model development, *Atmospheric Environment*. 36:5005–5013.
- [70] Dich J, Zahm S H, Hanberg A, Adami H O. 1997. Pesticides and cancer, *Cancer Causes & Control*. 8(3):420–443.
- [71] Bressa G, Sisti E, Cima F. 1997. PCBs and organochlorinated pesticides in eel (*Anguilla anguilla* L.) from the Po Delta, *Marine Chemistry*. 58(3):261–266.
- [72] Kolpin D W, Barbash J E, Gilliom R J. 1998. Occurrence of pesticides in shallow groundwater of the United States: Initial results from the National Water-Quality Assessment Program, *Environmental Science and Technology*, 32(5):558–566.
- [73] Ouyang W, Cai G, Huang W, Hao F. 2016. Temporal-spatial loss of diffuse pesticide and potential risks for water quality in China, *Science of the Total Environment*. 541:551–558.
- [74] Tsakiris I N, Goumenou M, Tzatzarakis M N. 2015. Risk assessment for children exposed to DDT residues in various milk types from the Greek market, *Food and Chemical Toxicology*. 75:156–165.
- [75] Shoiful A, Fujita H, Watanabe I, Honda K. 2013. Concentrations of organochlorine pesticides (OCPs) residues in food stuffs collected from traditional markets in Indonesia, *Chemosphere*. 90:1742–1750.
- [76] Larson S J, Capel P D, Majewski M S. 1997. Pesticides in surface waters—distribution, trends, and governing factors, In: *Series of Pesticides in Hydrologic System*. Gilliom R J (ed.). Ann Arbor Press, Chelsea, Michigan, p. 3.
- [77] Brewer R. 1979. *Principles of Ecology*, Saunders College Publishing Philadelphia. 249-258.
- [78] Arias-Estevez M, Lopez-Periago E, Martinez-

Carballo E, Simal-Gandara J, Mejuto J C, Garcia-Rio L. 2008. Themobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of ground water resources, Agriculture, Ecosystems and Environment. 123:247–260.

[79] Mandrich L. 2014. Endocrine disrupters: the hazards for human health, Cloning & Transgenesis. 3:1.

[80] Mostafalou S, Abdollahi M. 2013. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives, Toxicology and Applied Pharmacology. 268:157–177.

[81] Merhi M, Raynal H, Cahuzac E, Vinson F, Cravedi J P, Gamet-Payrastra L. 2007. Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: Meta analysis of case-control studies, Cancer Causes & Control. 18:1209–1226.

[82] Akyıl D, Özkara A, Erdoğan S F, Eren Y, Konuk M, Sağlam E. 2015. Micronucleus assay in human lymphocytes after exposure to Alloxidim sodium herbicide *in vitro*, Cytotechnology. 67:1059–1066.

[83] Hoi P V, Mol A P J, Oosterveer P. 2013. State governance of pesticides use and trade in Vietnam, Wageningen Journal of Life Sciences. 67:19–26.

[84] Akyıl D, Özkara A, Erdoğan S F, Eren Y, Konuk M, Sağlam E. 2015. Evaluation of cytotoxic and genotoxic effects of benodanil by using *Allium* and micronucleus assays, Drug and Chemical Toxicology. 3:1–6.

[85] Eren Y, Erdoğan S F, Akyıl D, Özkara A. 2014. Mutagenic and cytotoxic activities of benfuracarb insecticide, Cytotechnology. 1–7.

[86] Özkara A, Akyıl D, Eren Y, Erdoğan S F, Konuk M, Sağlam E. 2015. Assessment of cytotoxic and genotoxic potential of pyracarbolid by *Allium* test and micronucleus assay, Drug and Chemical Toxicology. 38(3):337–341.

[87] Eddleston M, Phillips M R. 2004. Self poisoning with pesticides, BMJ Public Health. 328:42-44.

[88] Gunnell M, Eddleston M, Phillips M R, Konraden F. 2007. The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: Systematic review, BMC Public Health. 7:357.



## Salep Orchids and Salep in Kahramanmaraş Region

Kemal Kaan TEKİNŞEN <sup>1\*</sup> Yusuf BİÇER <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Selcuk University Veterinary Faculty Department of Food Hygiene and Technology Konya/TURKEY

\*Corresponding Author

E-mail: kktekinsen@selcuk.edu.tr

Received: May 29, 2018

Accepted: 01 November, 2018

### Abstract

Orchids are perennial, wire rooted, with some varieties having (e.g. Orchis, Ophrys, Dactylorhiza, Serapias, Platanthera) two tuberous roots, herbaceous plants; In Europe and the Middle East, the most orchid variety is found in Turkey. Also known in native language as dilçikık, dildamak, çam çiçeği, çayır or salep otu, it is known that there are about 154 orchid species in 24 genera in Turkey. 13% of them (20 species and 1 subspecies) are unique to Turkey. Ovoid- root tuberous species which are common in Turkey, used for obtaining salep, belong to Orchis, Ophrys, Anacamptis, Serapias, Himantoglossum, Barlia, Aceras genus, and species with tubercles belong to genus Dactylorhiza and Platanthera. Turkey's North, South, Southeast and Eastern Anatolia regions especially are richer in terms of wild orchids. There are 25 species belonging to 9 genera in Kahramanmaraş region, with 2 species (*Orchis palustris* and *Dactylorhiza osmanica*) being common and other species rare and rarely grown.

**Keywords:** Kahramanmaraş, orchid, salep

## INTRODUCTION

Use of advanced production techniques and developments in cooling and deep freezing systems in the past 25 years in Turkey has led to an increase in the ice cream consumption and some studies to develop the quality of ice cream [1,2]. That being said, both wide use of salep in ice cream production in Turkey and its different functional properties have led some scientists to carry out various investigations on salep and/or stabilizer mixtures containing salep.

Maraş ice cream has superior quality properties, and preserves these properties during storage at low temperature (around -18° C) after production thanks to its salep ingredient as well as its production technique. This is because salep, with its stabilizer feature, gives the desired structure and mass (e.g., smooth, pulpy and homogeneous) to ice cream, delays melting, prevents the formation of large ice crystals during production and storage, and gives product-specific flavor and aroma [2-5]. But there is not much information in literature about the chemical properties of orchids. Salep, which is used in the production of Maraş ice cream, is obtained from nine genera of wild orchids grown in and around Kahramanmaraş, an important region in the country for orchids [2,6,7]. Chemical composition of salep are various especially depending on the species obtained, and affect the properties of ice cream [8-13].

### *Orchidaceae* family and orchids of Turkey

Orchids are perennial, wire rooted herbaceous plants. Some orchid species (e.g. *Orchis*, *Ophrys*, *Dactylorhiza*, *Serapias*, *Platanthera*) have two tuberous roots. The bodies of the orchids are upright cylindrical, with flowers of monocotyledonous, closed seed, bunch or spike. Orchids are in the family of *Orchidaceae*, which grows in mountain ecosystems, grasslands and peaks close to the coasts. It is stated that there are more than 25,000 species and more than 110,000 hybrids (individual resulting from the pollination of

two different species or sexes) in 250 species recorded and more than 500 species unrecorded in the family [8, 14-15].

Turkey has the most variety of orchids in Europe and Middle East. It is reported that there are about 154 wild orchid species in 24 genera, some of which are also known with different names such as *dilçikık*, *dildamak*, *çam çiçeği*, *çayır* or *salep otu* in Turkey [17]. 13% of them (20 species and 1 subspecies) are unique to Turkey [15, 16, 16, 19, 20].

The ovoid tuberous species, common in Turkey and from which salep is obtained belong to *Orchis*, *Ophrys*, *Anacamptis*, *Serapias*, *Himantoglossum*, *Barlia*, *Aceras* while pieced tuberous belong to the *Dactylorhiza* and *Platanthera* species. Turkey is rich in wild orchids especially in the North, South, Southeast and Eastern Anatolian regions [8, 9, 16, 18, 20].

The first list of orchids of Turkey based on literature on herbarium and terrestrial studies was stated by Sezik [8]. According to this study, there are 18 genera and 91 species in Turkey. Later on, the same researcher reported that 24 genera and 85 species (except for subspecies) were found in Turkey considering recent researches. There are two important works related to the orchids of Turkey. One of them is the "*Orkidelerimiz*" by Sezik [18]. In this work, there is information about the characteristics and spread of the orchids in Turkey and about salep, and it is stated in the book that there are about 90 species belonging to 24 genera in Turkey. The other is the part of the book "Flora of Turkey" (Davis 1965) prepared by Renz and Taubenheim which contains the species and spread information of the *Orchidaceae* family. In this work, it is stated that there are 93 species and 32 subspecies belonging to 24 genera in Turkey. On the other hand, according to the book by Kreutz [21] about the orchids of Turkey which included the species which were named after 1984, there are 24 genera and 148 species in Turkey.



**Orchids growing in Kahramanmaraş region**

According to the quadrature system used by the botanist Davis (1965-1985) for the determination of the flora of Turkey and used to express the spreading areas of the plants, Kahramanmaraş region is located in B6 which contains the

northern part and C6 frames which contains the southern part. Taking into account this quadrature system and the information in the literature [18, 22, 23], the registered and spreading orchids in Kahramanmaraş region are demonstrated in Table 1.

**Table 1.** Distribution of Orchid Species in Kahramanmaraş Region According to the Squaring System

B6 Square	C6 Square
	<i>Anacamptis pyramidalis</i>
	<i>Cephalanthera damasonium</i>
<i>Cephalanthera kotschyana</i>	<i>Cephalanthera kotschyana</i>
<i>Cephalanthera rubra</i>	<i>Cephalanthera rubra</i>
	<i>Comperia comperiana</i>
<i>Dactylorhiza iberica</i>	<i>Dactylorhiza iberica</i>
<i>D. osmanica</i> var. <i>osmanica</i>	<i>D. osmanica</i> var. <i>osmanica</i>
<i>D. osmanica</i> var. <i>anatolica</i>	<i>D. osmanica</i> var. <i>anatolica</i>
<i>Epipactis helleborine</i>	<i>Epipactis helleborine</i>
	<i>Epipactis microphylla</i>
	<i>Epipactis persica</i>
<i>Epipactis veratrifolia</i>	<i>Epipactis veratrifolia</i>
	<i>Himantoglossum affine</i>
	<i>Limodorum abortivum</i>
	<i>Orchis anatolica</i>
	<i>Orchis mascula</i> ssp. <i>pinetorum</i>
	<i>Orchis palustris</i>
	<i>Orchis simia</i>

From Table 1, it can be seen that 18 species of 8 genera spreading in the region are registered. In a survey under the name of “The origins of Maraş Salep and the Orchids of Maraş Area” carried out in Kahramanmaraş region [6],

orchid species found in the region and collected in May-July of 1987-1988 were specified. According to the results of this survey, orchid species found in Kahramanmaraş region and collected by researchers are shown in Table 2.

**Table 2.** Types of Orchids Collected by Researchers in Kahramanmaraş Region

Orchids found in the region	Number			Orchids collected in the region	Number		
	Genus	Species	Subtype/ Variety		Genus	Species	Subtype / Variety
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	1	1		<i>Anacamptis pyramidalis</i>	1	1	
<i>Cephalanthera damasonium</i>		2					
<i>Cephalanthera kotschyana</i>		3					
<i>Cephalanthera kurdica</i>	2	4		<i>Cephalanthera kurdica</i>	2	2	
<i>Cephalanthera rubra</i>		5		<i>Cephalanthera rubra</i>		3	
<i>Comperia comperiana</i>	3	6					
<i>Dactylorhiza iberica</i>		7		<i>Dactylorhiza iberica</i>		4	
<i>D. osmanica</i> var. <i>osmanica</i>		8	1	<i>D. osmanica</i> var. <i>osmanica</i>		5	
<i>D. osmanica</i> var. <i>anatolica</i>	4		2	<i>D. osmanica</i> var. <i>anatolica</i>	3	6	
<i>D. romana</i>		9		<i>D. romana</i>		7	
<i>Epipactis helleborine</i>		10					
<i>E. microphylla</i>		11					
<i>E. persica</i>	5	12					
<i>E. veratrifolia</i>		13					
<i>Himantoglossum affine</i>	6	14		<i>Himantoglossum affine</i>	4	8	
<i>Limodorum abortivum</i>	7	15		<i>Limodorum abortivum</i>	5	9	
<i>Ophrys holosericea</i> ssp. <i>holosericea</i>		16	1	<i>Ophrys holosericea</i> ssp. <i>holosericea</i>	6	10	1
<i>Oph. tranchyrcana</i> ssp. <i>tranchyrcana</i>	8	17	2				
<i>Orchis anatolica</i>		18		<i>Orchis anatolica</i>		11	
<i>O. coriophora</i>		19		<i>O. coriophora</i>		12	
<i>O. mascula</i> ssp. <i>pinetorum</i>		20	3	<i>O. mascula</i> ssp. <i>pinetorum</i>		13	2
<i>O. morio</i> ssp. <i>syriaca</i>		21	4	<i>O. morio</i> ssp. <i>syriaca</i>		14	3
<i>O. palustris</i>	9	22		<i>O. palustris</i>	7	15	
<i>O. simia</i>		23					
<i>O. spitzelii</i>		24		<i>O. spitzelii</i>		16	
<i>O. tridentata</i>		25		<i>O. tridentata</i>		17	

As can be understood from Table 2, Sezik and Baykal [6] reported that there were 25 species of 9 genera found in the region and samples of 17 species of 7 genera were collected during the research. On the other hand, the same researchers reported that 2 species (*Orchis palustris* and *Dactylorhiza osmanica*) were common and other species were rare in the region.

#### Obtaining and use of salep of Kahramanmaraş region

In Kahramanmaraş region, salep is mostly obtained from around the center and the northern and western parts of the province. The regions and the important villages where the salep is obtained are shown below [6].

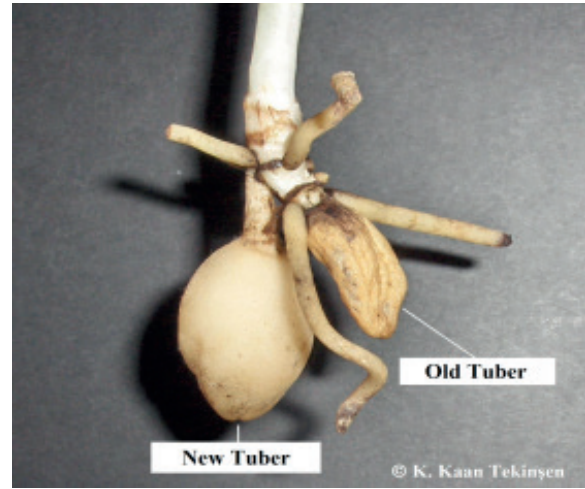
In obtaining quality salep in Kahramanmaraş region, tubers of *Orchis anatolica*, *O. mascula* ssp. *pinetorum*, *O. spitzelii*, *O. tridentata*, *O. morio*, *Anacamptis pyramidalis*,

*Dactylorhiza romana*, *Himantoglossum affine* and *Ophrys holosericea* species which are not commonly found are used. The salep obtained from the tubers of these orchid species is called Maraş salep [6]. Maraş salep obtained from white, red and purple flowering species is collected especially in Helete, Tanır, Tekir, Süleymanlı, Kürtül, Köşürge, Kayışlı, Dönüklü territories and pinetums on the slopes of Mount Amanos until the end of July. The salep obtained from *O. palustris* and *O. coriophora*, which are considered to be of low quality in the region, and *D. osmanica* varieties with pieced tubers and sometimes found in Maraş salep is called Çayır salep. Collectors do not prefer this salep because of the difficulty of collecting it due to the muddy features of its growing land and the low price. It is an additional occupation for shepherds and some villagers because of the difficulty of obtaining, finding and collecting salep throughout the region [2, 6, 16].

In the orchid species from which the salep is obtained, there are two tubers, one old tuber of the previous year (the main, midwife tuber is a great wrinkle because it forms the over-ground run of the plant of that year) and the other new tuber of the next year (sibling, sister tuber, grown that year, young small, full-grown to form the plant of next year). When the plant is in flower, the new tuber is collected, leaving the old tuber, which is larger, hard, wrinkled, dirty white. Fresh tubers, washed with cold water and cleaned from the soil, are boiled for 15 minutes in boiling water (sometimes in milk, whey, dry cottage cheese juice or ayran) in baskets to prevent germination, soften and loosen the outer shell. It is then immediately submerged in cold water, cooled and sometimes dried for 7-10 days, preferably in a sunless, airy location, in stringed way. During this process, the tubers lose 90% of their weight. Commercial salep tubers are pulverized in low-speed pulverizers and in machines in recent years by ice cream makers when they are used [2, 6,

16, 18, 20]. For 1 kg of commercial salep, 1000-4000 dried tubers, each 0.25-1.00 g are needed [15]. New and old tubers are shown in figure 1.

Figure 1. New and old tubers



Two non-orchid pseudo-saleps which are named Stye (garbage, noodle) and Deli salep and which are used in the adulteration of salep are obtained widely in the region, especially around Andırın and Göksun. The stye salep obtained from several tubers and roots of *Ranunculus ficaria ssp. ficariiformis* flowering in March-April and Deli salep (garlic salep) obtained after the small pieces of *Colchicum cilicicum* onions are boiled in water or saline for 10-15 minutes and dried until hard [2, 6].

The types of orchids obtained from Kahramanmaraş region and the orchid species with their local names [6] are shown in Table 3.

Table 3. Salep Varieties in Kahramanmaraş Region and Types of Orchids with Local Names

Kind	Species	Local Name
Maraş Salep	<i>Anacamptis pyramidalis</i>	Çam salebi
	<i>Dactylorhiza romana</i>	Parmaklı (Çatal) salep
	<i>Orchis anatolica</i>	Yayla (Tespah) salebi
	<i>Orchis spitzelii</i>	Dağ salebi
	<i>Orchis tridentata</i>	Beyaz dağ salebi
	<i>Ophrys holosericea</i>	Deşdiye salebi
Meadow Salep	<i>Orchis palustris</i>	Bataklık salebi
	<i>Orchis coriophora</i>	Çem (çim) salebi
	<i>Dactylorhiza osmanica</i>	Öz salebi, Çatal salep

Salep spread from the Middle East to Europe. It maintained its importance as a drink especially in England until the 16th century when the use of coffee spread. Salep, which was used as an expectorant or chest softener in various pharmaceutical preparations until recently in Turkey, is now used more as a traditional drink and as a food additive in food industry, especially in ice cream production [14, 16, 18, 24, 25]. The widespread use of salep is mainly due to Glucomannan, a polysaccharide that is hydrocolloid feature. Glucomannan absorbs water and causes gelling [1,2].

Salep was first used in Kahramanmaraş in Turkey in the production of ice cream. It has spread to other regions of the country from Kahramanmaraş. The use of salep in the production of ice cream in the region has become almost indispensable due to the features that form when the salep is added to ice cream. Salep is used as powder in ice cream production, usually 0.5-1.0%, depending on the amount of glucomannan, and affects the quality of the ice cream [2, 4, 16]. In fact, in some studies [10, 26-29], some significant defects (e.g. insufficient volume expansion, sticky structure) were observed in ice cream samples where the salep ratio was low and when the salep was used in a suitable ratio considering its chemical quality, it delayed the melting of the ice cream and prevented the deterioration of the form to a great extent. The use of salep plays an important role in the reputation of Maraş ice cream. With its stabilizer feature, salep gives a smooth, pulpy and homogeneous structure and mass to the ice cream like the mortar used in construction. It prevents the formation of large ice crystals during the production and preservation of ice cream and partially delays melting [2, 4, 9]. Some orchid species are shown in Figure 2.

Figure 2. Photos of some orchid species



*Orchis anatolica*

*Orchis italica*



*Orchis morio*

*Orchis tridentata*

## CONCLUSION

It is estimated that the number of tubers (plants) to uproot from nature varies between 1000-4350 units to obtain 1 kg dry tuber for salep production and the amount of salep consumed in Turkey is about 20 to 45 tons, and for this amount, 30 to 120 million plants are being collected [30]. To obtain good quality Maraş salep for many years and to convey this taste to future generations, first of all, it is necessary to protect these endangered wild orchid species which are destroyed by unconscious collecting from the nature for the purpose of obtaining salep, and to ensure that these species are collected and traded in a controlled manner. Relevant public institutions and the people of the region should undertake important duties in this regard.

**Acknowledgement:** A part of this study was presented in I. International Congress on Medicinal and Aromatic Plants "Natural and Healthy Life, TABKON' 17.

## REFERENCES

- [1] Tekinşen OC, Tekinşen KK, 2005. Süt ve Süt Ürünleri: Temel Bilgiler, Teknoloji, Kalite Kontrolü. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
- [2] Tekinşen OC, Tekinşen KK, 2008. Dondurma: Temel Bilgiler, Teknoloji, Kalite Kontrolü. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
- [3] Tekinşen KK, 2004. Sütten gelen bir lezzetin, dondurmanın, tarihsel öyküsü. *İpekyolu*, Konya Ticaret Odası Derg, 196, 58-60.
- [4] Tekinşen KK, 2006a. Geçmişten günümüze ağızda uyanan lezzet Maraş dondurması. *Unlu Mamüller Teknolojisi Dergisi*, 15(75), 34-40.
- [5] Kurt A, Cengiz A, Kahyaoglu T, 2016. The effect of gum tragacanth on the rheological properties of salep based ice cream mix. *Carbohydrate Polymers*, 143, 116-123.
- [6] Sezik E, Baykal T, 1988. Maraş Salebinin Menşei ve Maraş Civarının Orkideleri. TÜBİTAK Proje No: TBAG-664, Ankara.
- [7] Bulut-Solak B, Alonso-Miravalles L, O'Mahony JA, 2017. Composition, morphology, and pasting properties of *Orchis anatolica* tuber gum. *Food Hydrocolloids*, 69, 483-490.
- [8] Sezik E, 1967. Türkiye'nin Salepgilleri Ticari Salep Çeşitleri ve Özellikle Muğla Salebi Üzerinde Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Doktora Tezi. No:34, İstanbul.
- [9] Baytop T, Sezik E, 1968. Türk salep çeşitleri üzerine araştırmalar. *İstanbul Üniv Ecz Fak Mec*, 4, 61-68.
- [10] Tekinşen OC, Karacabey A, 1984. Bazı Stabilizatör Karışımlarının Kahramanmaraş Tipi Dondurmanın Fiziksel ve Organoleptik Nitelikleri Üzerine Etkisi. TÜBİTAK Proje No: VHAG 594, Ankara.
- [11] Kurt A, Kahyaoglu T, 2015. Rheological properties and structural characterization of salep improved by ethanol treatment. *Carbohydrate Polymers*, 133, 654-661.
- [12] Isikil ND, Donmez MN, Kozan N, Karababa E, 2015. Rheological properties of salep powdered -milk mixture. *Journal of food Science and Technology*, 52(10), 6556-6564.
- [13] Tekinsen KK, Güner A, 2010. Chemical composition an physicochemical properties of tubera salep produced from some Orchidaceae species. *Food Chemistry*, 121, 468-471.



- [14] Koyuncu M, 1994. Geofitler. Bilim ve Teknik TÜBİTAK Aylık Popüler Bilim Dergisi, 321, 72-77.
- [15] Kreutz CAJ, 2002. Türkiye'nin orkideleri salep, dondurma ve katliam. Yeşil Atlas Derg, 05, Aralık.
- [16] Tekinşen KK, 2006b. Salep. Bilim ve Teknik TÜBİTAK Aylık Popüler Bilim Dergisi, 463, 76-77.
- [17] Yakar N, 2004. Renkli Türkiye Bitkileri Atlası 2. Baskı. Büke Yayınları Hazırlayan Orhan Küçükler, Şefik Matbaası, İstanbul.
- [18] Sezik E, 1984. Orkidelerimiz Türkiye'nin Orkideleri. Sandoz Kültür Yayınları No:6, Güzel Sanatlar Matbaası AŞ, İstanbul.
- [19] Uysal N, 1993. Orkide içer misiniz. Skylife Derg, Aralık, 79-82.
- [20] Sezik E, 1990. Türkiye'nin orkideleri. Bilim ve Teknik Derg, 23, 269, 5-8.
- [21] Kreutz CAJ, 1998. Die Orchideen der Turkei. Cip-Gegevens Koninklijke Bibliotheek, Den Haag.
- [22] Davis PH, 1965. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburg Universty Vol 1. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- [23] Davis PH, 1985. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburg Universty Vol 9. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- [24] Baytop T, 1999. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi, 2. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri Ankara.
- [25] Tamer CE, Karaman B, Copur OU, 2006. A traditional Turkish beverage: Salep. Food Reviews International, 22, 43-50.
- [26] Kaya S, Tekin AR, 2001. The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice cream mix. J. Food Eng, 47, 59-62.
- [27] Güven M, Karaca OB, Kacar A0, 2003. The effects of the combined use of stabilizers containing locust bean gum and of the storage time on Kahramanmaraş type ice creams. Int. J. Dairy Technol, 56, 223-228.
- [28] Keçeli T, Konar A, 2003. Salep ve alternatif bazı stabilizatör maddelerin inek sütünden yapılan dondurmaların özelliklerine olan etkileri. Gıda, 28(4), 415 - 419.
- [29] Kuş S, Atlan A, Kaya A, 2005. Rheological behavior and time-dependent characterization of ice cream mix with different salep content. Journal of Texture Studies, 36, 273-288.
- [30] De Boer HJ, Ghorbani A, Manzanilla V, Raclariu AC, Kreziou A, Ounjai S, Osathanunkul M, Gravendeel B, 2017. DNA metabarcoding of orchid-derived products reveals widespread illegal orchid trade. Proc. R. Soc. B, 284(1863), 20171182.



## Bioremediation of Dyes in Textile Wastewater

Ülküye Dudu Gül\*

\* Vocational School of Health Services, Bilecik Seyh Edebali University, 11210, Bilecik, Turkey

\* The Center of Biotechnology Applied and Researcher, Bilecik Seyh Edebali University, 11230, Bilecik, TURKEY

\*Corresponding Author

E-mail:ulkuyedudugul@gmail.com

Received: May 29, 2018

Accepted: November 4, 2018

### Abstract

Development of industrial activities provides economical benefits but increasing industrial activities also create problems with the removal of wastes. Particularly untreated wastewater of textile industries creates an important environmental problem due to dyes content. High amounts of dyes are toxic for living organisms. There are some physico-chemical methods for removal of dyes but these methods are expensive. Biological treatment methods are relatively cheaper. Bioremediation technologies involve neutralization or removal of pollutants by using organisms. The aim of this study is to review the relevant data about bioremediation of dyes from literature. Some information about decolorization of dyes by microorganisms as bacteria, fungi and algae is given in this paper. Microbial remediation technologies are both inexpensive and efficient technologies for removal of textile dyes.

**Keywords:** Bioremediation, Decolorization, Textile wastewater

## INTRODUCTION

Textile industry releases a high amount of dyeing wastewater to receiving environments [1]. These textile dyes are accumulated in aquatic environments and affect the environment and aquatic life negatively [2]. High concentrations of dyes inhibit photosynthetic microorganisms' activities in rivers or lakes [3]. In addition to this these dyes are accumulated by aquatic organisms and joined the food chain. Dyes have toxic effects in the body of living organisms [4]. For instance dyes cause health problems in mammals. Treatment of dyeing wastewater is very important. Several treatment technologies are suggested as chemical and physical methods but biological methods are relatively preferred due to inexpensive and eco-friendly nature [5]. Conventional wastewater treatment methods are ineffective because dyes have aromatic structure and resistant to degradative environmental conditions such as light and ozone [6]. Bioremediation is defined as treatment of environment by using organisms. Bioremediation technology involves usage of microorganisms to reduce, eliminate, contain, or transform to benign contaminants present in soils, sediments, water, and air. The aim of this study is to review the data about the usage of bioremediation technologies for decolorization of textile wastewater. This study focuses on decolorization of textile wastewater by using microorganisms such as bacteria, fungi and algae. Also the effect of parameters such as pH, temperature, initial dye concentration and nutrients on microbial dye removal activity is reviewed in this paper.

### Biological Treatments

Conventional wastewater treatment technologies are not sufficient enough because dyes have resistance due to their complex aromatic structure. Biological treatment methods are suggested due to their advantages by some researchers [6], [7] and some advantages of biological wastewater treatment are given in Table 1. Biosorption, bioaccumulation and biodegradation are the mechanisms of biological treatment.

Biosorption is introduced as the usage of living or dead biomass for adsorption of pollutants [8]. Bioaccumulation is the accumulation of pollutants in the cell of organisms [9]. Biodegradation is mineralization or degradation of pollutants by enzymatic activities of organisms [10]. All of these mechanisms are used for decolorization of dyes containing in textile wastewater. Variety of factors such as pH, temperature, initial dye concentration and the species of microorganisms affect the decolorization process. In biological treatment technologies variety of living organisms such as algae, bacteria and fungi are used.

**Table 1.** Some advantages of biological wastewater treatment

It is inexpensive due to the usage of the waste biomass in other industries.
It is simple.
It produces smaller volumes of excess sludge.
It can be applied to very different types of effluents
It is eco-friendly.
It can be applied <i>in situ</i> at the contaminated site.
Generally there is not observed secondary pollution at the end of the process.

### Algae for Bioremediation of Textile Dyes

Phytoremediation is defined as usage of algal biomass (macro and micro algae) for removal of pollutants [11]. It is reported that some algae species can able to break down dye molecules into simple compounds [12]. *Spirogyra* sp., commonly available green algae, which was suggested as an effective biomaterial for removal of azo dye reactive yellow 22 by Mohan et al. (2002) [13]. Some algae use dyes as carbon and nitrogen source [14]. *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris* and *Oscillatoria tenuis* are reported as the algae species which can degradate azo dyes by azoreductase enzyme in the literature [12]. A green microalga called

*Cosmarium* sp. is suggested to treat water containing Triphenylmethane dye and Malachite Green dyes [15].

Ertuğrul et al (2008) showed that a thermophilic *Phormidium* sp. can decolorize 50- 80% of textile dyes under thermophilic conditions [16]. Algal dye removal ability can be enhanced by stimulating algal growth. For instance, the dye removal activities of *Synechocystis* sp. and *Phormidium* sp. were increased by the addition of tricontanol hormone which was a plant growth regulator [17]. Recently, Preeti and Vena (2017) reported that *Oscillatoria* sp. decolorized 91% of Malachite Green, 75% of Congo Red and 23% of Nigrosin dyes at 0.05% dye concentration [18].

#### Bacteria for Bioremediation of Textile Dyes

Bacteria for biodegradation of azo dyes have been investigated in 1970's, Horitsu et al. (1977) examined that *Bacillus subtilis* was able to degrade azo dyes [19]. The studies on bacterial dye degradation continue from past to present day because biodegradation of textile dyes by

bacteria is an efficient and low-cost method. New bacteria for effective biodegradation of dyes are discovered every passing day. The efficiency of bioremediation process is increased by the isolation of effective new strains and adaptation of known strains for utilization of dyes.

Sahasrabudhe and Pathade (2011) investigated that *Enterococcus faecalis* YZ 66 was effectively removed Reactive orange 16 dye [20]. Another bacterial strain called *Staphylococcus arlettae* strain VN -11 decolorized textile azo dyes effectively [21]. Microbial decolorization mechanism is affected by operational parameters as nutrients, pH, initial dye concentration and temperature. These are also important parameters for microbial growth. The efficiency of a biological treatment system is influenced by medium conditions. Bacteria performed maximum dye removal under optimal conditions. Media pH is a very important parameter for dye removal, the optimal pH for bacterial decolorization process is the range of pH 6- 9 (Table 2).

**Table 2.** The optimal parameters for decolorization activity of different bacterial strains

Bacterial Strain	Dye	Initial Dye	pH	Temperature	Removal Rate	Reference
		Concentration (mg/L)				
<i>Bacillus</i> sp.	Acid Red 2	100	6	37	90	[35]
<i>Bacillus</i> sp.	Acid Orange 7	100	6- 8	30	99	[35]
<i>Bacillus</i> sp.	Remazol Black B	250	8	35	95	[36]
<i>Bacillus</i> sp.	Congo Red	3000	7	37	100	[27]
<i>Bacillus subtilis</i>	Textile Effluent	150	7	35	63.21	[28]
<i>Corynebacterium</i> sp.	Reactive Black 5	100	7	37	60	[37]
<i>Corynebacterium</i> sp.	Yellow 15	100	7	37	76	[37]
<i>Pseudomonas entomophila</i>	Reactive Black 5	-	5- 9	37	93	[38]
<i>Pseudomonas</i> sp. SUK1	Red BLI	50	6.5- 7	30	99.28	[39]
<i>Pseudomonas putida</i>	Crystal Violet	200	7	30	50	[40]
<i>Pseudomonas putida</i>	Safranin	200	7	30	30	[40]
<i>Pseudomonas putida</i>	Trypan Blue	100	7	40	80	[40]

The strong acidic or alkaline environments decreased color removal activity of bacterial strains. For instance, *Enterobacter agglomerans* showed maximum Methyl Red removal at pH 7-9 [22]. *Pseudomonas* sp. SUK1 removed 99.28% of Red BLI at pH 6.5- 7 [23]. Acid blue 113 was removed at pH 7-8 by *Bacillus subtilis* maximally [24]. Temperature is another important parameter for dye removal of bacteria. The optimal temperature for decolorization is reported as 30- 40 °C (Table 2). Temperature effects the production of bacterial enzymes for removal of dyes and increasing temperature rate results in augmentation of decolorization. On the other hand higher temperature rates, which cause denaturation of cellular enzymes or are harmful to cell viability, decreased dye removal activity. Guo et al. 2007, examined the effect of the temperature range of 20 to 50 °C on decolorization of Anthraquinone by bacteria and maximum dye removal determined as 95% at 50 °C [25]. *Bacillus fusiformis* kmk 5 removed Orange 10 and Disperse Blue 79 at 37 °C maximally [26]. Gopinath et al. 2009 showed that azoreductase enzyme of *Bacillus* sp. was responsible for removal of Congo Red and optimal temperature for dye removal was 37 °C [27]. Initial dye concentration also affects the dye removal performance of bacterial strains due to the toxic impact of dye. Sivaraj

et al 2011 reported that while the initial dye concentration of textile effluent was increased from 150 to 300 mg/L the decolorization rates were decreased from 72% to 55% [28]. Decolorization rates of Acid Red 113 by halo tolerant bacterial strains called *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus flexus* were decreased from 87% to 60% and 84% to 57% while dye concentration increased from 25 to 100 mg/L, respectively [29]. The nutrient content of medium affects the decolorization activity because the higher amount of suitable nutrients significantly enhance bacterial growth. For instance, *Pseudomonas aeruginosa* and *Brevibacillus choshinensis* showed maximum decolorization activity in the presence of 10% glucose and were reported as effective bacterial strains for bioremediation of textile effluents [30]. Joshi et al (2008) revealed that dye removal performance of bacterial consortium was better in the medium contained yeast extract or combination of yeast extract and glucose than in the medium contained only glucose, peptone or starch [31]. Microorganisms use aromatic dye molecules as nutrient or energy sources in the bioremediation process [32]. Recent studies focused on the usage of bacterial consortium for bioremediation technologies [33]. Patowary et al. (2016) reported that bioremediation needed the cooperation of more than a single species because individual strains can degrade

limited range of pollutants [34].

#### Fungi for Bioremediation of Textile Dyes

Fungal bioremediation is described as mycoremediation and is an important point in wastewater treatment technologies from the past to present [41]. Glenn and Gold (1983) studied the first research about the effective degradation of dyes by white rot fungi called *Phanerochaete chrysosporium* [42]. Usage of fungi mostly white rot fungi for the treatment of wastewater was extensively studied [43]. Banat et al. (1996) proved that fungi were suitable for treatment of dye containing textile effluents [44]. The usage of fungi in wastewater treatment technologies has some advantages such as fungi can produce extracellular

enzymes in order to solubilize the insoluble substrates and fungi have a good physical and enzymatic contact with their environment because of their increased cell to surface ratio. Also extracellular fungal enzymes provide an advantage to tolerate toxic compounds at high concentrations [6]. Some fungal species produce ligninolytic enzymes named lignin peroxidases (LiP), manganese dependent peroxidases (MnP) in order to degrade pollutants such as lignin and dyes [45].

Fungal dye decolorization capacity is affected by several conditions such as nutrients, pH, temperature and initial dye concentration. The carbon source is an important nutrition for fungi. The optimal parameters for decolorization activity of different fungal strains are changed according to the properties of fungal species (Table 3).

**Table 3.** The optimal parameters for decolorization activity of different fungal strains

Fungal Strain	Dye	Initial Dye Concentration (mg/L)	pH	Temperature (°C)	Removal Rate (%)	Reference
<i>Aspergillus tamari</i>	Coomasie Brilliant Blue	-	5	30	93	[52]
<i>Aspergillus tamari</i>	Bromophenol Blue	-	5	28	100	[52]
<i>Aspergillus tamari</i>	Malachite Green	-	5	28	91	[52]
<i>Corioloopsis sp.</i>	Orange G	-	4.5	35	60	[53]
<i>Marasmius cladopyllus</i>	Remazol Brilliant Blue R	200	5.5	22	97	[54]
<i>Penicillium purpurogenum</i>	Coomasie Brilliant Blue	-	5	28	91	[52]
<i>Penicillium purpurogenum</i>	Bromophenol Blue	-	5	28	92	[52]
<i>Penicillium purpurogenum</i>	Malachite Green	-	5	28	52	[52]
<i>Perreniporia tephropora MUCL47500</i>	Methyl Orange	300	5.5	30	92.03	[55]
<i>Perreniporia tephropora MUCL47500</i>	Reactive Blue	300	5.5	30	95.18	[55]
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Reactive Red	100	3	30	100	[56]
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Reactive Black	100	3	30	100	[56]
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Remazol Blue	100	3	30	71.83	[56]
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Methylene Blue	100	6	30	92.5	[56]
<i>Trametes villosa</i>	Drimaren Brilliant Blue	20	5.5	28	85	[57]

Kapdan et al. (2000) investigated the effect of different carbon sources such as glucose, starch, fructose and molasses on Everzol Turquoise Blue g dye decolorization of *Coriolus versicolor* and showed that glucose was the most usable carbon source for fungi [46]. Kaushik and Malik (2009) reported that the nitrogen content of media organized the fungal enzyme production for decolorization [6]. The effect of different nitrogen sources as ammonium chloride, malt extract and peptone on poly R-478 decolorization activity of *Letinus edodes* was examined by Hatvani and Mecs (2002) and the fungus showed the most effective decolorization rate in the presence of malt extract [47]. Temperature is another important parameter for decolorization activity and most of the studies recommended higher temperatures for dye removal of fungal species [6]. The Bromophenol Blue dye decolorization of *Rhizopus stolonifer* was increased by increasing temperature from 35 to 55 °C [48]. Most of the fungal strains performed maximum decolorization activity between 22 to 35°C (Table 3). The impact of pH is also important for fungal decolorization by influencing the chemical nature of fungal surface and dye molecules. Especially the pH of the environment affects the charge of the fungal surface due to altering the functional groups

and the electrochemical interactions between charged dye molecules and fungal surface occur. For instance, *Rhizopus arrhizus* performed maximum decolorization capacity at pH 2 because the fungal cell surface became positive in an acidic environment and the anionic dye molecules were adsorbed on the fungal surface due to electrostatic interactions [49]. In addition to this the cationic dye Methylene Blue removal by *Fomes fomentarius* and *Phellinus igniarius* was increased while the pH value increased from 3 to 11 because in higher pH values the fungal surfaces' electro negativity increased and the negative charged fungal biomasses interacted with the positively charged dye ions [50]. In dye biodegradation process the importance of environmental pH is related with the fungal growth due to the fungal surface for dye sorption and also metabolically active fungal cell number is increased. *Coriolus versicolor* showed maximum decolorization (99%) at pH 4.5 which was also optimum pH for the fungal growth [46]. Optimal pH for *Aspergillus versicolor* growth was 6 and the fungus decolorized Remazol Blue at pH 6 maximally [51]. Most of the studies showed that fungal strains showed maximum dye removal activity at pH values 4.5 - 5.5 (Table 3) which was also optimum pH for fungal growth.



## CONCLUSION

This study focuses on decolorization of textile dyes by the means of bioremediation. Algae, bacteria and fungi are the effective biomaterials for bioremediation of dyes in textile wastewater. Environmental conditions have an important role in the removal of dyes. In addition to this the chemical properties of dye molecules and biochemical nature of organisms affect the decolorization process. Especially the enzymes of the organisms play an important role in biodegradation of dye molecules.

## REFERENCES

- [1] Maas R, Chaudhari S. 2005. Adsorption and biological decolorization of azo dye reactive red 2 in semicontinuous anaerobic reactors. *Process Biochem.* 40: 699-705.
- [2] Kritikos DE, Xekoukoulotakis NP, Psillakis E, Mantzavinos D. 2007. Photocatalytic degradation of reactive black 5 in aqueous solution: effect of operating conditions and coupling with ultrasound irradiation. *Water Res.* 41, 10: 2236-2246.
- [3] Khan R., Bhawana P, Fulekar MH. 2013. Microbial decolorization and degradation of synthetic dyes: a review. *Review in Environmental Science and Biotechnology.* 12, 1: 75-97.
- [4] Jin XC, Liu GQ, Xu ZH. 2007. Decolorization of a dye industry effluent by *Aspergillus fumigatus* XC6. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 74: 239-243.
- [5] Dias AA, Bezerra RM, Lemos PM, Pereira A.N. 2003. In vivo and laccase-catalysed Decolourization of xenobiotic azo dyes by a basidiomycetous fungus: characterization of its ligninolytic system. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 19: 969-975.
- [6] Kaushik P, Malik A. 2009. Fungal dye decolourization: recent advances and future potential. *Environment. International.* 35: 127-141.
- [7] Dos Santos AB, Cervantes FJ, Van Lier JB. 2007. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspective for anaerobic biotechnology. *Bioresource Technol.* 98: 2369-2385.
- [8] San NO, Dönmez G. 2012. Biosorption of chromium(VI), nickel(II) and Remazol Blue by 14 *Rhodotorula muciliginosa* biomass. *Water Sci. Technol.* 65, 3: 471-477.
- [9] Wang BE, Hu Y.Y. 2008. Bioaccumulation versus adsorption of reactive dye by immobilized 16 growing *Aspergillus fumigatus* beads. *J. Hazard. Mater.* 157, 1: 1-7.
- [10] Chatterji AK. 2005. *Biotechnology and Biodegradation, Introduction to environmental biotechnology*, pp. 116-134. Eastern Economy Edn., Prentice Hall, New Delhi.
- [11] Mohan SV, Karthikeyan J. 2000. Removal of diazo dye from aqueous phase by algae *Spirogyra* sp. *Toxicol. Environ. Chem.* 74: 147-154.
- [12] Ramachandran P, Sundharam R, Palaniyappan J, Munusamy AP. 2010. Decolorization of textile dyes by *Aspergillus tamarii*, mixed fungal culture and *Penicillium purpurogenum*. *Journal of Scientific and Industrial Research.* 69: 151- 153.
- [13] Mohan SV, Chandrasekhar N, Prasad KK, Karthikeyan J. 2002. Treatment of simulated reactive yellow 22 (azo) dye effluents using *Spirogyra* Species. *Waste Manag.* 22: 575-582.
- [14] Lim SL, Chu WL, Phang SM. 2010. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. *Bioresour. Technol.* 101, 19: 7314-22.
- [15] Daneshvar N, Ayazloo M, Khataee AR, Pourhassan M. 2007. Biological decolorization of dye solution containing Malachite Green by microalgae *Cosmarium* sp. *Bioresource Technol.* 98: 1176-1182.
- [16] Ertuğrul S, Bakır M, Dönmez G. 2008. Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: *Phormidium* sp. *Ecological Engineering.* 32, 3: 244-248.
- [17] Karacakaya P, Kiliç NK, Duygu E, Dönmez G. 2009. Stimulation of reactive dye removal by cyanobacteria in media containing triacetonol hormone. *J Hazard Mater.* 172, 2-3: 1635-1639.
- [18] Preeti K, Veena S. 2017. Bioremediation of Textile Dyes by using Blue Green Algae. *International Journal for Scientific Research & Development.* 5, 03: 1322- 1324.
- [19] Horitsu H, Takada M, Idaka E, Tomoyeda M, Ogawa T. 1977. Degradation of aminoazobenzene by *Bacillus subtilis*. *Eur. J. Appl. Microbiol.* 4: 217-224.
- [20] Sahasrabudhe MM, Pathade GR. 2011. Biodegradation of sulphonated azo dye C.I. reactive orange 16 by *Enterococcus faecalis* strain YZ 66. *European Journal of Experimental Biology.* 1, 1: 163- 173.
- [21] Elisangela F, Andrea Z, Fabio DG, Cristiano RM, Regina DL, Artur C.P. 2009. Biodegradation of textile azo dyes by a facultative *Staphylococcus arlettae* strain 11 using a sequential microaerophilic/aerobic process. *Int. Biodeter. Biodegr.* 63: 280-288.
- [22] Keharia H, Madamwar D. 2003. Bioremediation concepts for treatment of dye containing wastewater: A review. *Indian J. Exp. Biol.* 41: 1068-1075.
- [23] Kalyani DC, Patil PS, Jadhav JP, Govindwar S.P. 2008. Biodegradation of reactive textile dye Red BLI by an isolated bacterium *Pseudomonas* sp. SUK1. *Bioresour. Technol.* 99, 11: 4635-41.
- [24] Gurulakshmi M, Sudarmani DNP, Venba R. 2008. Biodegradation of Leather Acid dye by *Bacillus subtilis*. *Advanced Biotech.* 47: 2-8.
- [25] Guo J, Zhou J, Wang D, Tian C, Wang P, Uddine S, Yu H. 2006. Biocatalyst effects of immobilized anthraquinone on the anaerobic reduction of azo dyes by the salt-tolerant bacteria. *Water Resources.* 41: 426-432.
- [26] Kolekar YM, Powar SP, Gawai KR, Lokhande PD, Shouche YS, Kodam KM. 2008. Decolorization and degradation of Disperse Blue 79 and Acid Orange 10, by *Bacillus fusiformis* KMK5 isolated from the textile dye contaminated soil. *Bioresource Technol.* 99: 8999-9003.
- [27] Gopinath KP, Murugesan S, Abraham J, Muthukumar K. 2009. *Bacillus* sp. mutant for improved biodegradation of Congo red: random mutagenesis approach. *Bioresource Technol.* 100: 6295-6300.
- [28] Sivaraj R, Dorthy CAM, Venkatesh R. 2011. Isolation, Characterization and growth Kinetics of Bacteria metabolizing Textile Effluent. *J. Biosci. Tech.* 2, 4:324-330.
- [29] Rani VP, Priya KS, Nancy AA, Kumari GM, Pradeepa PGF. 2016. Halotolerant Bacterial Strains a Potential Source of Microbial Degradation of Acid Blue 113. *Journal of Environmental Science, Computer Science and Engineering & Technology JECET.* 5, 1: 187-192.
- [30] Durve AA, Gupta AR, Napha SR. 2012. Decolourisation of Textile Dyes and Biological stains by Bacterial strains isolated from Industrial effluents. *Advances*

in Applied Science Research. 3, 5: 2660-2671.

[31] Joshi T, Iyengar L, Singh K, Garg S. 2008. Isolation, identification and application of novel bacterial consortium TJ-1 for the decolorization of structurally different azo dyes. *Bioresour Technol.* 99: 7115- 7121.

[32] Rajeswari K, Subashkumar R, Vijayaraman K. 2011. Biodegradation of Mixed Textile Dyes by Bacterial Strains Isolated from Dyewaste Effluent. *Research Journal of Environmental Toxicology.* 5, 2: 97- 107.

[33] Hamid B, Kaushik G, Chawla J, Ahmad Baba Z. 2015. Isolation and Development of Efficient Bacterial Consortia for Bioremediation of Textile Dye Effluent. *J. Pollut. Eff. Cont.* 3, 3: 1-5.

[34] Patowary K, Patowary R, Kalita MC, Deka S. 2016. Development of an Efficient Bacterial Consortium for the Potential Remediation of Hydrocarbons from Contaminated Sites. *Front. Microbiol.* 7: 1- 14.

[35] Jaiswal SS, Gomashe AV. 2017. Bioremediation of textile azo dyes by newly isolated *Bacillus* sp. from dye contaminated soil. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry.* 13, 2: 147-153.

[36] Shah MP, Patel KA, Nair SS, Darji AM. 2013. An Innovative Approach to Biodegradation of Textile Dye (Remazol Black B) by *Bacillus* Spp. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation.* 1, 2: 43-48.

[37] Aftab U, Kan MR, Mahfooz M, Ali M, Aslam SH, Rehman A. 2011. Decolorization and Degradation of Textile Azo Dyes by *Corynebacterium* sp. Isolated from Industrial Effluent. *Pakistan J. Zool.* 43, 1: 1-8.

[38] Khan S, Malik A. 2016. Degradation of Reactive Black 5 dye by a newly isolated bacterium *Pseudomonas entomophila* BS1. *Canadian Journal of Microbiology.* 62, 3: 220-232.

[39] Kalyani DC, Telke AA, Dhanve RS, Jadhav J.P. 2009. Eco-friendly biodegradation and detoxification of Reactive Red 2 textile dye by newly isolated *Pseudomonas* sp. SUK1. *J. Hazard. Mater.* 163: 735-742.

[40] Sneha U, Poornima R, Sridhar S. 2013. Decolorization of synthetic textile dyes using *Pseudomonas putida*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* 5, 5: 219-225.

[41] Singh H. 2006. Fungal Decolorization and Degradation of Dyes, in *Mycoremediation: Fungal Bioremediation*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.

[42] Glenn JK, Gold M.H. 1983. Decolorization of several polymeric dyes by the lignin- degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 6: 1741-1747.

[43] Brar SK, Verma M, Surampalli RY, Misra K, Tyagi RD, Meunier N, Blais J.F. 2006. Bioremediation of hazardous wastes. A review. *Practice Periodical of Hazardous Toxic and Radioactive Waste Management.* 10, 2: 59-72.

[44] Banat IM, Nigam P, Singh D, Marchant R. 1996. Microbial decolorization of textile-dye containing effluents. A review. *Bioresour Technol.* 58: 217-227.

[45] Rani C, Jana AK, Bansal A. 2009. Studies on the biodegradation of azo dyes by white rot fungi *Phlebia radiata*. *Proceedings of International Conference on Energy and Environment.* ISSN: 2070-3740, pp. 203-207.

[46] Kapdan IK, Kargı F, McMullan G, Marchant R. 2000. Effect of environmental conditions on biological decolorization of textile dyestuff by *C. versicolor*. *Enzyme Microb Technol.* 26: 381-387.

[47] Hatvani N, Mecs I. 2002. Effect of the nutrient composition on dye decolorization and extracellular enzyme production by *Lentinus edodes* on solid medium. *Enzyme Microbiol. Technol.* 30: 381-386.

[48] Zeroual Y, Kim BS, Kim CS, Blaghen M, Lee KM. 2006. Biosorption of Bromophenol Blue from Aqueous Solutions by *Rhizopus Stolonifer* Biomass. *Water, Air, and Soil Pollution.* 177, 1-4: 135-146.

[49] O'Mahony T, Guibal E, Tobin JM. 2002. Reactive dye biosorption by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Enzyme Microbiol. Technol.* 31: 456-63.

[50] Maurya NS, Mittal AK, Cornel P, Rother E. 2006. Biosorption of dyes using dead macro fungi: effect of dye structure, ionic strength and pH. *Bioresour. Technol.* 97, 3: 512-521.

[51] Gül ÜD, Dönmez G. 2013. Application of mixed fungal biomass for effective reactive dye removal from textile effluents. *Desalination and Water Treatment.* 51, 16-18: 3597-3603.

[52] Ramalingam S, Saraswathy N, Shanmugapriya S, Shakthipriyadarshani S, Sadasivam S, Sanmugaprasanth M. 2010. Decolorization of textile dyes by *Aspergillus tamari*, mixed fungal culture and *Penicillium purpurogenum*. *J. Scien. Ind. Res.* 69: 151-153.

[53] Cheng WN, Sim HK, Ahmad SA, Syed MA, Shukor MY, Yusof MT. 2016. Characterization of an azo-dye-degrading white rot fungus isolated from Malaysia. *Mycosphere.* 7, 5: 560-569.

[54] Ngieng NS, Zulkharnain A, Roslan HA, Husaini A. 2013. Decolourisation of Synthetic Dyes by Endophytic Fungal Flora Isolated from Senduduk Plant (*Melastoma malabathricum*). *Hindawi Publishing Corporation, ISRN Biotechnology.* 1-7

[55] Steeve M, Christiane A, Jean-Bosco ST, Kor NM, Stephane D, Philippe G. 2014. Discoloration and biodegradation of two dyes by white-rot fungi *Perreniporia tephropora* MUCL 47500 isolated in Gabon. *Int.J.Curr. Microbiol.App.Sci.* 3, 6: 731-741.

[56] Gül ÜD. 2013. The Treatment of dyeing wastewater including reactive dyes (Reactive Red RB, Reactive Black B, Remazol Blue) and Methylene Blue by fungal biomass. *Water SA.* 39: 593- 598.

[57] Machado KMG, Compart LCA, Morais RO, Rosa LH, Santos MH. 2006. Biodegradation of reactive textile dyes by basidiomycetous fungi from Brazilian Ecosystems. *Brazilian Journal of Microbiology.* 37: 481-487.



## CD33 and Alzheimer's Disease

Başak Özlem Perk<sup>1\*</sup> Naile Merve Güven<sup>1</sup> Benay Can Eke<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Ankara University, Ankara, Turkey

\*Corresponding Author  
E-mail: perk@ankara.edu.tr

Received: May 2, 2018  
Accepted: November 7, 2018

### Abstract

Alzheimer's disease (AD), which is mainly characterized by impaired memory, is a rapidly growing clinical and public health issue due to the aging population. The neuropathological hallmarks of the disease include accumulation of senile plaques, composed of amyloid-beta, and neurofibrillary tangles. The amyloid-beta peptide (A $\beta$ ) cascade hypothesis suggests A $\beta$  accumulation is the fundamental initiator and major pathogenic event for AD. Recent genome-wide association studies have illuminated cluster of differentiation 33 (CD33) is a new genetic risk factor for AD. CD33 as a type 1 transmembrane protein is mediating the cell-cell interaction. In the brain, CD33 is mainly expressed on microglial cells. In AD brain, the CD33 level is found to be positively correlated with amyloid plaque burden and disease severity.

**Keywords:** Alzheimer's disease, CD33, sialic acid, amyloid

### INTRODUCTION

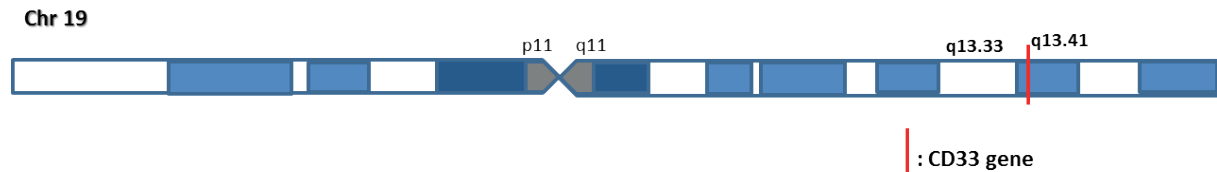
Alzheimer's disease (AD), which is the most common form of dementia, is a progressive neurodegenerative disorder. Alzheimer disease is currently no effective treatment and increasing prevalence and cost due to the aging population. The mechanisms underlying the onset and progression of the disease are incompletely understood [4]. Various disorders such as hypertension, diabetes, obesity, dyslipidemia and social and environmental factors such as head trauma, physical activity, diet, socioeconomic and educational level are risk factors for AD [16, 20, 8, 3]. AD is generally divided into two types, early and late onset. While late onset AD (LOAD) occurs after age 65, early onset AD (EOAD) occurs before age 65. Many studies have shown that LOAD and EOAD clinically distinct. While LOAD is characterized by impaired memory and visuospatial-language impairment [14], EOAD has a shorter life span and more aggressive progression [19]. Amyloid plaques and neurofibrillary tangles first described in a patient with strange behavior and a short memory defect by the German

psychiatrist and neuropathologist Alois Alzheimer in 1906 [22]. In later studies; various pathological events clarified such as neuronal cell death, extracellular amyloid-beta accumulation, intracellular neurofibrillary tangles and microglial activation in the Alzheimer's brain [1]. The underlying causes of these multiple changes are unknown, but age, genetic factors and environmental factors are thought to play an important role [16, 4].

### Relation between CD33 gene and AD

Many genes have been identified. In recent years Genome-Wide Association Studies (GWAS) have revealed new genetic risk factors for Alzheimer's: CD33, CLU, BIN1, PICALM, CR1, CD2Ap, EPHA1, ABCA7, MS4A4A / MS4A6E, SORL1, CLU and TREM2 [4, 21].

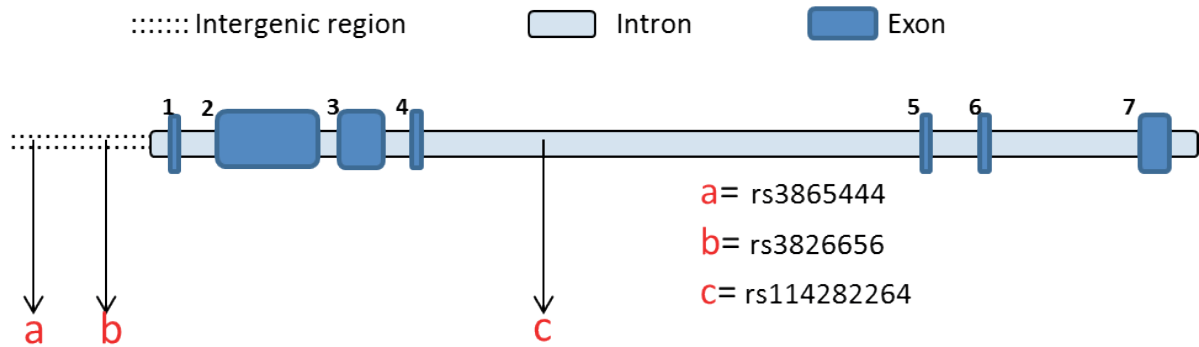
The cluster of differentiation 33 (CD33) gene (Figure 1), which is expressed in hematopoietic and phagocytic cells; are considered to be a new genetic risk factor associated with AD in GWAS [9, 6, 15, 5]. According to recent studies a strong association, especially between LOAD and CD33 gene, is reported [9].



**Figure 1.** CD33 gene location [7]

It is shown single-nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with LOAD are rs3865444, rs3826656 and rs114282264 (Figure 2). In some populations, such as Europe, North America and Korea, rs3865444 is a risk for AD (minor allele) while provided protective effects (T allele) against AD in other populations, such as Han Chinese population. Also it is suggested rs3865444 polymorphism is correlated with AD in Chinese, European, and North American populations [13]. The minor allele of rs3826656 risk factor for AD in a large family-based GWAS in European families. Nevertheless, in contrast to this finding, it is reported that

the minor allele of rs3826656 was associated with a reduced risk of AD in Han Chinese population with apolipoprotein E (APOE)  $\epsilon$ 4 alleles [9]. But in a meta-analysis it is shown rs3826656 polymorphism is not in association with AD [10]. Recent studies have shown that a new SNP rs114282264 in the intron region of CD33 is significantly associated with AD in African Americans. However, this finding needs to be confirmed in other ethnic groups. It has also been shown that expression of CD33 is increased in microglia cells in Alzheimer's brain.

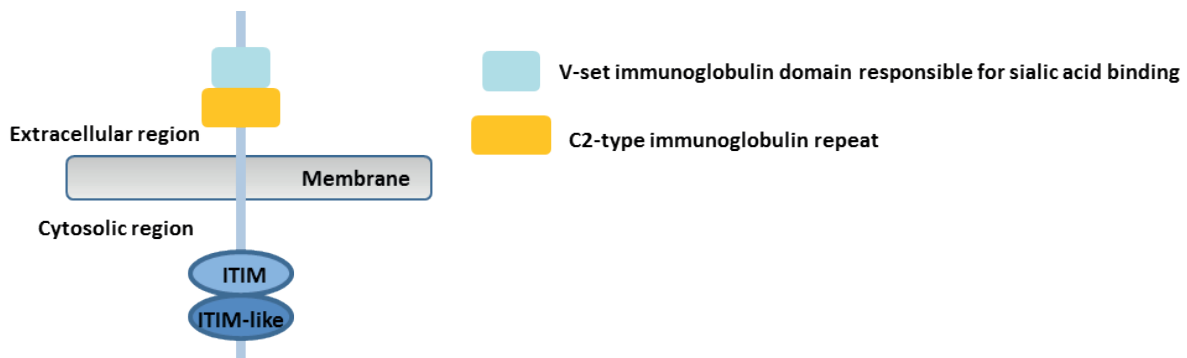


**Figure 2.** CD33 gene. SNPs in CD33 associated with AD are shown in the figure [9].

#### CD33 protein structure and location

CD33 gene is on the 19q13.33 chromosome and encodes the 67-kDa CD33 protein. CD33 protein which belongs to the sialic-acid-binding immunoglobulin-like lectins (SIGLECs) consists of an extracellular N-terminal V-set immunoglobulin domain responsible for sialic acid recognition, followed by a C2-type immunoglobulin repeat. Intracellularly, human CD33 which is expressed in mature monocytes, myeloid progenitor cells and macrophages has two cytoplasmic tyrosine-based motifs, these are immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) and ITIM-like motif (Figure 3) [9, 23]. CD33 protein mediates

cell-cell interaction and endocytosis and also it regulates cytokine secretion [23]. Additionally, CD33 inhibits immune cell functions and proinflammatory cytokines such as IL-1 [beta], TNF, IL-8. CD33 has been shown to regulate cell division and survival by inhibiting proliferation and inducing apoptosis [9]. Another important role of CD33 is able to bind to sialoglycans on target cells and interacts with sialylated pathogens and viruses which have self-synthesized sialoglycans on their surface. Because of this feature, CD33 could mediate endocytosis or, as opposed, could mediate spread their infection. In acute myeloid leukemia (AML) therapies CD33 is used as a target protein because of its phagocytic property.



**Figure 3.** CD33 protein structure in Human [12].

## CONCLUSION

High cognitive decline is caused elevated CD33 expression level in autopsy-confirmed AD patients' brain, is reported [11]. It is also shown CD33 is increased in AD brain, and it relates with amyloid protein and also disease pathology [17]. Furthermore, it is suggested CD33 deficiency causes decreased AB in APP transgenic mice model [24]. CD33 mRNA level is increased due to upregulation of CD33 transcription in microglial cells. In another study, between CD33 mRNA level and Iba-1 (a biomarker of microglial cells), shown a significant correlation in brain tissues of AD cases [9].

CD33, a type 1 transmembrane protein, is expressed in brain macrophages and microglia cells, and has an inhibitory effect on A $\beta$  uptake. Increased CD33 expression is associated with amount of plaque and so resulted increased disease severity [24, 2]. In addition to A $\beta$  inhibition, the effect of CD33 on other biological mechanisms such as

neuroinflammation and neuronal apoptosis should also be investigated. Additionally, pro-inflammatory cytokines in monocytes are shown to be inhibited by CD33. Further studies about relationship between CD33 plasma levels and disease must be done. CD33 SNPs in multiple ethnic populations are shown to be associated with LOAD. CD33 SNP rs3865444 protects against AD and reduces CD33 expression. It is also shown rs3865444 and rs114282264 are correlated with AD [18, 9]. More extensive genetic screening should be done to reveal other variants of CD33 associated with LOAD. These loci can be utilized as biomarkers for AD [18]. AD, is a progressive neurodegenerative disease, has been increasing its social and economic burden for both the individual and the society. Therefore, further studies are needed to elucidate the pathophysiology and genetics of the disease, and to develop novel therapeutics for the prevention and treatment of AD.



## REFERENCES

- [1] Barbagallo, M., Marotta F., Dominguez L.J. 2015. Oxidative stress in patients with Alzheimer's disease: effect of extracts of fermented papaya powder. Mediators of inflammation, Article ID 624801, volume 2015, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/624801>.
- [2] Efthymiou, A.G., Goate A.M. 2017. Late onset Alzheimer's disease genetics implicates microglial pathways in disease risk, *Molecular Neurodegeneration*, 12:43.
- [3] Gatz, M., Reynolds C.A., Fratiglioni L., Johansson B., Mortimer J.A., Berg S., Fiske A., Pedersen N.L. 2006. Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Archives of General Psychiatry*, 63(2), 168-174.
- [4] Griciuc, A., Serrano-Pozo A., Parrado A.R., Lesinski A.N., Asselin C.N., Mullin K., Hooli B., Choi S.H., Hyman B.T., Tanzi R.E. 2013. Alzheimer's disease risk gene CD33 inhibits microglial uptake of amyloid beta. *Neuron*, 78(4): 631-643.
- [5] Hollingworth, P., Harold D., Sims R., Gerrish A., Lambert J.C., Carrasquillo M.M., Abraham R., Hamshere M.L., Pahwa J.S., Moskva V. et.al. 2011. Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nature genetics*, 43(5), 429-435.
- [6] Hu, N., Tan M.S., Sun L., Jiang T., Wang Y.L., Tan L., Zhang W., Yu J.T., Tan L. 2014. Decreased expression of CD33 in peripheral mononuclear cells of Alzheimer's disease patients. *Neuroscience letters*, 563:51-54.
- [7] Human Gene Database, Gene Cards, CD33 gene, <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CD33>
- [8] Imtiaz, B., Tolppanen A.M., Kivipelto M., Soininen H. 2014. Future directions in Alzheimer's disease from risk factors to prevention. *Biochemical Pharmacology*, 88(4):661-670.
- [9] Jiang, T., Yu J.T., Hu N., Tan M.S., Zhu X.C., Tan L. 2014. CD33 in Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, 49:529-535.
- [10] Jiang, Y.T., Li H.Y., Cao X.P., Tan L. 2018. Meta-analysis of the association between CD33 and Alzheimer's disease, *Annals of translational medicine*, 6(10).
- [11] Karch, C.M., Jeng A.T., Nowotny P., Cady J., Cruchaga C., Goate A.M. 2012. Expression of Novel Alzheimer's Disease Risk Genes in Control and Alzheimer's Disease Brains, *PLoS One*, 7(11).
- [12] Laing, A.A., Harrison C.J., Gibson B.E.S., Keeshan K. 2017. Unlocking the potential of anti-CD33 therapy in adult and childhood acute myeloid leukemia, *Experimental Hematology*, Volume 54:40-50.
- [13] Li, X., Shen N., Zhan S., Liu J., Jiang Q., Liao M., Feng R., Zhang L., Wang G., Ma G., Zhou H., Chen Z., Jiang Y., Zhao B., Li K., Liu G. 2015. CD33 rs3865444 polymorphism contributes to Alzheimer's disease susceptibility in Chinese, European, and North American populations. *Molecular neurobiology*, 52(1), 414-421.
- [14] Licht, E.A., McMurtry A.M., Saul R.E., Mendez M.F. 2007. Cognitive Differences between Early and Late-Onset Alzheimer's Disease. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*, 22(3):218-222.
- [15] Mao, Y.F., Guo Z.Y., Pu J.L., Chen Y.X., Zhang B.R. 2015. Association of CD33 and MS4A cluster variants with Alzheimer's disease in East Asian populations, *Neuroscience letters*, 609:235-239
- [16] Mayeux, R., Stern Y. 2012. Epidemiology of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(8): 1-18.
- [17] Mirandei, J.V.H., Audrain M., Fanutza T., Kim S.H., Klein W.L., Glabe C., Readhead B., Dudley J.T., Blitzer R.D., Wang M., Zhang B., Schadt E.E., Gandy S., Ehrlich M.E. 2017. Deficiency of TYROBP, an adapter protein for TREM2 and CR3 receptors, is neuroprotective in a mouse model of early Alzheimer's pathology, *Acta Neuropathol* 134:769-788.
- [18] Misra, A., Chakrabarti S.S., Gambhir I.S. 2018. New genetic players in late-onset Alzheimer's disease: Findings of genome-wide association studies, *Indian J Med Res* 148, 135-144.
- [19] Panegyres, P.K., Chen H.Y. 2013. Differences between early and late onset Alzheimer's disease, *American journal of neurodegenerative disease*, 2(4):300-306.
- [20] Reitz, C., Mayeux R. 2014. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochemical Pharmacology*, 88: 640-651.
- [21] Rosenberg, R.N., Lambracht-Washington D., Yu G., Xia W. 2016. Genomics of Alzheimer disease: a review. *JAMA neurology*, 73(7), 867-874.
- [22] Selekler, K. 2010. Alois Alzheimer ve Alzheimer hastalığı. *Türk Geriatri Dergisi*, 13(3): 9-14.
- [23] Wang, M.M., Miao D., Cao X.P., Tan L., Tan L. 2018. Innate immune activation in Alzheimer's disease, *Annals of translational medicine*, 6(10):177.
- [24] Wes, P.D., Sayed F.A., Bard F., Gan L. 2016. Targeting microglia for the treatment of Alzheimer's Disease. *Glia*, 64(10), 1710-1732.



## Önemli Bazı Bitkisel İnektisitler

Mehmet KARAKAŞ\*

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü 06100 Tandoğan-Ankara

\*Sorumlu Yazar:

E-posta:mkarakas@science.ankara.edu.tr

Geliş Tarihi : 19 Haziran 2018

Kabul Tarihi: 12 Kasım 2018

### Özet

Tarım alanlarında bilinçsizce ve aşırı kullanılan yüksek toksik özellikli kimyasal pestisitlerin kalıntıları farklı yollarla toprağa, havaya ve yeraltı sularına karışmakta ve bu alanlarda yaşayan her türlü canlıya zarar vermektedir. Kimyasal pestisitlerin söz konusu zararlarından dolayı son yıllarda tarımsal mücadelede kullanılabilecek bitkisel inektisitlerin araştırılmasına dayalı çalışmalar yapılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Biyoinektisit, Bitkisel inektisit, Biyolojik kontrol

### Some Important Herbal Insecticides

#### Abstract

Residues of highly toxic chemical pesticides unconsciously and widely used in agricultural fields penetrate into land, air and underground water through various means and give harms to all living organisms in the environment. Due to these harms of chemical pesticides, in recent years much research has been focusing on the use of botanical insecticides that can be used in agricultural control.

**Keywords:** Bio-insecticide, Botanical insecticide, Biocontrol

### GİRİŞ

Dünyada temel besin kaynaklarının önemli bir yüzdesini bitkiler oluşturmaktadır. Bütün canlılarda olduğu gibi bitkiler de pek çok hastalık ve zararlı ile etkileşim halindedir. Bu zararlı organizmalar bitkilerde doğrudan beslenmek, besinlerine ortak olmak, yumurta bırakmak, konak olarak kullanmak, farklı hastalık etmenleri için vektör olmak gibi etkileşimler ile bitkilere zararlı olmaktadır.

Bitkilerin kendileri için zararlı olan canlıların saldırılarından korunmak için tıpkı insan ve hayvanlarda olduğu gibi çeşitli savunma mekanizmalarına sahip olduğu bilinmektedir. Bitkilerde biyokimyasal olaylardan sonra sentezlenen sekonder metabolitler bitki-zararlı ilişkilerinde önemli role sahiptirler. Zararlılar üzerinde davranışsal ve fizyolojik etkilere sahip olan bu metabolitler farklı şekillerde gruplandırılmaktadır. Bunların en bilinenleri terpenoidler, aminler, glikozidler, alkaloidler, fenoller ve saponinler'dir [19].

Kökene bitkiler ya da bitkisel kaynaklı maddelerin oluşturduğu bitkisel kökenli inektisitler (böcek öldürücü ilaçlar), doğal inektisitler adı altında biyoinektisitler, feromonlar gibi başlıklarla da anılmaktadır.

Organik klorlu ve organik fosforlu inektisitlerin keşfinden önce (1930-1940), tarımsal alanlarda ürün zararlı mücadelesinde bitkisel kökenli inektisitlerin kullanımı önemli bir yer tutmuştur. İlerleyen yıllarda sentetik inektisitlerin, bitkisel kökenlilere göre daha etkili ve etki sürelerinin daha uzun olması sebebiyle kullanılmaları daha yaygın hale gelmiştir. Ayrıca gelişmiş ülkelerde sentetik inektisitlerin gelişen teknoloji sayesinde daha ucuz elde edilebilir olmaları, bunlara olan ilgiyi daha da artırmıştır.

Fakat sentetik inektisitlerin zaman içinde bilinçsizce kullanımı sonucu zararlılarda ilaca karşı direnç oluşumu, insan ve hayvan sağlığına olan olumsuz etkisi, kalıntı sorunu ve çevre kirliliği gibi toksik etkiler bilimsel çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır.

Diğer bir ifadeyle, günümüzde tarım alanlarında önemli ürün kayıplarına sebep olan bitkisel hastalıklar, zararlı böcek türleri ve yabancı otlar ile mücadele çoğunlukla kimyasal mücadele yöntemi kullanılmaktadır. Fakat tarımsal mücadele amacıyla, kimyasal mücadelenin tercih edilmesi çevre sorunlarını da beraberinde getirmiştir. Tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan kimyasal ilaçların diğer bir adıyla pestisitlerin her türlü kalıntıları çeşitli yollarla toprağa, havaya ve yeraltı sularına karışmaktadır. Toksik özelliği yüksek olan bu pestisitler, çevrede yaşayan her türlü canlıda zamanla birikmekte ve sonuçta kanser ve genetik kusurlu hastalıklar gibi ciddi anormalliklerin ortaya çıkmasına da sebep olabilmektedir. Bunlara ilaveten, tarım alanlarında kullanılan bu pestisitlere karşı tarımsal zararlılarda direnç gelişebilmekte ve aynı zamanda bu kimyasal ilaçlar doğal düşmanları da öldürerek doğal dengeyi bozmaktadır. Ekolojik dengede önemli role sahip çeşitli bitki ve hayvan türlerinin zarar görmesi sonucu daha önce sorun yaratmayan ya da baskılanan zararlıların baskın hale gelerek ekonomik yönden zararlı haline gelmesi gibi sonuçlar da ortaya çıkabilmektedir. Tarım alanlarında kimyasal ilaçların bilinçsiz ve kontrolsüz uygulamalarının sonucu ihraç edilen tarım ürünlerindeki standardizasyona uygun olmayan pestisit kalıntıları da önemli bir sorun teşkil edebilmektedir.

Bu olumsuz sonuçlar araştırmacıları tarımsal zararlılarla savaşta başka alternatif maddelerin arayışına yöneltmiştir. Bu yüzden bitkisel kökenli inektisitlere olan ilgi yeniden önem kazanmaya başlamış ve son yıllarda organik tarımla birlikte bu konudaki çalışmalar daha da yoğunluk kazanmaya başlamıştır.

Bitkilerin inektisit etkisi olduğu önemli kaynaklar olduğu ve birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir. Prakash ve Rao [15] 866, Ahmet ve Greainge [1] ise 1535 bitkinin tarımda zararlı olan böceklerle farklı şekillerde etkili olduğunu belirtmişlerdir. Öncüler [14] ise günümüzde bu

sayının 2000 in üzerinde olduğunu bildirmiştir. Bu kadar çok bitkinin insektisit özelliğinin bilinmesine karşın pratikte yararlanılanları çok az sayıdadır. Bunun nedenlerini Isman [11], doğal kaynakların kısıtlı olması, standartizasyon ve ruhsatlandırılmadaki zorluklar olarak bildirmiştir.

Insektisit özelliği gösteren bitkisel kökenli bu maddeler, bitkilerden farklı yöntemlerle elde edilmektedirler. Bunlar işlenmemiş bitkisel materyaller, bitki ekstraktları ve bitkilerden izole edilen saf bileşikler gibi değişik formlarda olabilirler.

Biyolojik mücadele amacıyla kullanılan bitkisel kökenli bu insektisitlerin, sentetik insektisitlere göre bazı avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Bitkisel kökenli insektisitler, güneş ışığında, nemde ve rüzgârlı hava koşullarında çok hızlı bir şekilde parçalanır. Bu sebeple hasattan kısa bir süre önce kullanılabilir. Bu doğal insektisitlerin çoğu böcekleri hızlı bir şekilde öldürmese de, beslenmelerini hızlı bir şekilde durdururlar. Bu nedenle böceklerin ölümü için bazen günler geçmesi gerekse de zararı önleme bakımından hızlı etki gösterirler. Nikotin gibi sıcakkanlılarda zehirli bazı bitkisel kökenli insektisitlerin haricinde bu bileşiklerin çoğu memelilere ve çevreye çok toksik değildirler. Hızlı parçalanma ve mide zehiri şeklinde etki göstermeleri, bitkisel kökenli doğal insektisitlerin, bitki ile beslenen bazı zararlı böceklere karşı daha seçici olmasını sağlar. Bitkisel kökenli insektisitler çoğunlukla fitotoksik olmadığı gibi çimlenme, büyüme ve ürünün kalitesine olumsuz etkileri de yoktur. Doğal formlarda kullanıldığında direnç oluşturma riskleri de pratikte oldukça düşüktür.

Bitkisel kökenli insektisitlerden birisi olan nikotinin bazı süs bitkilerine karşı olumsuz etkilerinin olabileceği ifade edilmiştir. Genellikle az gelişmiş ve işçilik maliyeti düşük olan bölgelerde yetiştirildikleri için o bölgede sentetik insektisitlere göre daha ucuz ve kolay elde edilebilirler. Bu bahsedilen avantajlarının yanında bazı dezavantajlarının da olabileceği ifade edilmiştir. Bitkisel kökenli insektisitler doğada hızlı parçalandıklarından, ilaçlama zamanının çok iyi ayarlanması ve daha sık uygulamayı gerektirirler. Buna ilaveten etkin maddenin bitkiden elde edilmesi sırasında her zaman aynı oranı yakalamak güçtür. Bu nedenle standart bir etki beklenemez. Bu yüzden ruhsatlandırma aşamasını geçmiş bitkisel kökenli preparatlar çok azdır. Ayrıca bitkisel kökenli insektisitlerin özellikle de bitki ekstraktlarının depolanması oldukça zordur. Bu yüzden hazırlandıktan sonra hemen kullanılmalılar gereklidir.

Bitkisel kökenli insektisitlerin her ne kadar daha az toksik oldukları düşünülse de, akut toksisitesi yüksek olan retenon ve nikotin gibi preparatların dikkatli uygulanmasına özen gösterilmelidir. Biyolojik mücadele amaçlı kullanılan bu doğal bitkisel kökenli insektisitlerin ruhsatlı preparatları olmadığından kronik toksisite ve gıdalardaki tolerans değerleri hakkında bilgiler henüz yeterli değildir.

Bitkisel kökenli insektisitlerin bir kısmı doğrudan öldürücü olarak kullanılırken, bir kısmı da öldürücü etkinin yanında veya ayrı olarak uzaklaştırıcı (repellent), beslenmeyi engelleyici (antifeedant), gelişme ve çoğalmayı engelleyici yönleri ile de kullanılabilirler. Bu doğal insektisitler içinde çevre ve halk sağlığında sorun olan zararlılara karşı kullanılacak maddeler de mevcuttur. Bu amaçla bu derlemede dünyada üzerinde en çok durulan bazı bitkisel kökenli insektisitler ve bunların tarımsal alanlarda zararlı olan böcekler üzerindeki etkileri ele alınmıştır.

## Bitkisel Kökenli İnsektisitler

### Azadirachtin

Son yıllarda bitkisel kökenli insektisit olarak üzerinde en çok çalışılan bitki *Azadirachta indica* türüdür (Şekil 1) [17]. Bu bitki yaprak veya kabuklarının kurutulmasıyla toz halinde veya tohum kabuğundan elde edilen yağ gibi farklı şekillerde zararlılara karşı kullanılmaktadır [18].

Azadirachtin, böceklerde beslenmeyi engelleyici (antifeedant), uzaklaştırıcı (repellent), kısırlaştırıcı, doğurganlığı azaltıcı, öldürücü, yumurta bırakmayı önleyici, gelişme ve büyüme bozucu etkiler göstermektedir [3 ve 18].

Ayrıca *A. indica* tohumundan ekstrakte edilen dihidro-azadiraktin etken maddesinin de böceklerde beslenmeyi engelleyici ve öldürücü etkileri olduğu da kayıtlara geçmiştir.



Şekil 1. *Azadirachta indica* [21]

### Nikotin

Tütün yapraklarının sulu ekstraktlarının emici tipte ağız yapısına sahip olan böceklere karşı insektisit olarak kullanılması oldukça eskidir. Sulu ekstraktların bu özelliği, yaprakların içerdiği nikotin öncelikli nornikotin ve anabasin alkaloidlerinden kaynaklanmaktadır. Nikotin çeşitli ekstraksiyon metodlarıyla *Nicotiana tabacum* ve *N. rustica* (Şekil 2) dan ortalama %2-8 oranında, nornikotin özellikli olarak *N. sylvestris* ten ve anabasin ise genellikle *Anabasis aphylla* (Şekil 3) dan elde edilmektedir [16].

Böceğe genellikle gaz formunda trake sistemi yoluyla giren nikotin, merkezi sinir sistemindeki asıl uyarıcı sinir iletimini sağlayan asetilkolin gibi faaliyet göstermektedir. Sinaptik hücrelerden asetilkolin salınımından sonra, nikotinik asetilkolin alıcılarına bağlanarak, katyon kanallarının çalışmasını sağlar. Böylece alıcının normal işlevini bozarak böceğin önce felcine bunu takip eden süreçte de ölümüne sebep olmaktadır. Bundan başka kontakt ve mide zehiri şeklinde de etki göstermektedir [20].

Nikotin sıcakkanlılara son derece toksik bir maddedir. Bu nedenle kullanılırken dikkat edilmelidir.



Şekil 2. *Nicotiana tabacum* [22]





Şekil 3. *Anabasis aphylla* [23]

### Pyrethrum

Pyrethrum, *Tanacetum cinerariaefolium* (Şekil 4) bitkisinin çiçeklerinden çeşitli metotlarla ekstrakte edilen bir üründür. Bilinen insektisitlerin içinde en eski ve en güveniliridir. Halen geniş alanlarda kullanılan tek bitkisel kökenli insektisittir. Bu bitkinin ekstraktları esas olarak krizantemik ve piretrik asitlerinin, pyrethrolone, cinerolone ve jasmolone isimli üç alkolle birleşmesinden meydana gelmiştir. Chrysanthemik asidin esterleri pyrethrin I, cinerin I ve jasmolin I dir. Phyrethrik asidin esterleri ise pyrethrin II, cenerin II ve jasmolin II den meydana gelmiştir. Bu altı ester pyrethrum ekstraktlarının insektisit etkilerini oluşturmaktadır.

Pyrethrum, etkin dozda böceklerde kontakt etki göstermekte ve sinir hücrelerinin hipereksitasyonu yani aşırı uyarılması ile kasların istemsiz olarak sürekli kasılmasına, bunun sonucunda sinir hücrelerinin elektrolit dengesinin bozulmasına ve bunun sonucu depolarizasyonun diğer bir ifadeyle gerekli uyarı eşiğinin oluşmaması sonucu kasların kasılmayarak felç oluşumuna neden olmaktadır. Bunun sonucunda ise böcekte hızlı bir ölüm gerçekleşmektedir [5 ve 6].



Şekil 4. *Tanacetum cinerariaefolium* [24]

### Rotenon

Bitkisel kökenli insektisitlerden birisi olan rotenod yapıdaki rotenon, *Lonchocarpus* sp. (Şekil 5) *Derris* sp. (Şekil 6) ve *Terphrosia* sp. (Şekil 7) bitkilerinin köklerinden ekstrakte edilerek kullanılmaktadır. İnce ve uzun olan kökler önce kurutulur sonra ufalanarak toz haline getirilir. Kil, kükürt gibi bazik olmayan çözücüler ile çözümlerek,

%0.75-1,5 rotenon içeren toz şeklinde insektisit olarak kullanılır. Sıvı formülasyonları ise köklerin eter ve aseton ile ekstraksiyonu sonucu yapılmakta ve %30-40 rotenon içermektedir.

Rotenon böceklerde hem kontakt hem de mide zehiri olarak etki göstermektedir. Ani ölüme sebep olmamakla beraber böceğin ağız parçalarını felç ederek beslenmeyi engellemektedir. Ölüm daha yavaş bir süreçte ortaya çıkmakta ve çoğunlukla solunum metabolizmasında elektron taşıma zincirinin engellenmesi şeklinde olmaktadır [9 ve 10].



Şekil 5. *Lonchocarpus* sp. [25]



Şekil 6. *Derris* sp. [26]



Şekil 7. *Terphrosia* sp. [27]



### Ryania

*Ryania speciosa* (Şekil 8) isimli bitkinin kök, yaprak ve gövdesinden ekstrakte edilen alkaloid yapıdaki ryania, uzun yıllardır bitkisel kökenli bir insektisit olarak kullanılmaktadır [20].

Ryania böceklerin kas sistemine etkili olmaktadır. Kaslardaki hücrelerin kasılmasını sağlayan bir organel olan sarkoplazmik retikulum da bulunan kalsiyum kanallarına bağlanarak bu kanalların açık kalmasına neden olmakta ve hücreye devamlı olarak kalsiyum iyonunun akışını sağlamaktadırlar. Bunun sonucu kas membranında gerekli uyarı eşliğinin oluşmadan kasılmasına devam etmesine neden olarak önce felcine daha sonra da hızlı ölümüne sebep olmaktadır [13].



Şekil 8. *Ryania speciosa* [28]

### Sabadilla

*Schoenocaulon officinale* (Şekil 9) tohumunun su, alkol ve petrol ile ekstraksiyonu veya toz halinde öğütülmüş şekli direkt zararlılara karşı kullanılmaktadır. İnsektisit özelliği, tohumun yapısında bulunan %3-6 oranındaki cevadine ve veratridine alkaloidlerinden kaynaklanmaktadır [4].

Sabadilla'nın zehirli olan alkaloidleri, böcekte kalp, sinir ve çizgili kas hücrelerinin membranında bulunan sodyum kanallarının işleyişini bozarlar. Bunun sonucunda sinir hücreleri görev yapamamakta ve böceğin önce felcine ve daha sonra da ölümüne neden olmaktadır. Bazen felç dönemi bir ya da iki gün sürebilmektedir [7].



Şekil 9. *Schoenocaulon officinale* [29]

### Quassia

*Quassia armara* (Şekil 10) ve *Picrasma excelsa* (Şekil 11) ağaçlarının gövdesinden ekstrakte edilen quassin, neoquassin ve picrasmin alkaloidlerinin insektisit özelliğe sahip olduğu bilinmektedir [8]. Quassia böceklerde kontakt ve mide zehiri olarak etki etmektedir. Nikotine benzer şekilde olan bu etki mekanizmasının yanında nikotin kadar zehirli değildir. Fakat quassin'in bazı bitkilerde fitotoksik etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bu yüzden dikkatli kullanılmalıdır.



Şekil 10. *Quassia armara* [30]



Şekil 11. *Picrasma excelsa* [31]

### Sarımsak

Sarımsak (*Allium sativum*) (Şekil 12) ekstraktı böcekler için etkin bir uzaklaştırıcı etkiye sahiptir. Fakat kokusundan dolayı tarımsal alanlardaki kullanılabilirliği kısıtlı olmuştur. Uzaklaştırıcı etkisinin ekstraktındaki kükürt içeren sekonder metabolitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Sarımsak zararlı böcek bitkiye gelmeden önce kullanılmalıdır. Aksi takdirde böcek bitkiyle beslenmeye başladıktan sonra uzaklaştırıcı etkisinin yeterli olmadığı bildirilmiştir [2].



Şekil 12. *Allium sativum* [32]

#### Yağ asitleri

Bitkilerde oluşan yağ asitleri, hedef organizmanın hücre membran içeriğini bozarak, hızlı bir şekilde çözünmesini sağlayarak sonuçta ölümüne neden olmaktadır. Bazı tip bitkisel yağ asitlerinin ise fungusit ve herbisit etkilerinin de olduğu kaydedilmiştir.

#### Capsaicin

Capsaicin, *Capsicum* cinsine (Şekil 13) bağlı bitkilerde acı tattan sorumlu olan bileşiktir. Biber meyvelerinin ekstraksiyonu ile elde edilir ve genellikle sarımsak, hardal veya çeşitli yabancı otların ekstraksiyonları ile birlikte kullanılır.

Capsaicin, zararlılar için daha çok uzaklaştırıcı olarak kullanılmasına rağmen öldürücü etkisinin de olduğu bilinmektedir. Bu etki daha çok hardal ekstratı ile birlikte kullanıldığında ortaya çıkmaktadır. Capsaicin hücre membranında delikler açarak bir sinir toksini olan hardal ekstratının bu delikler aracılığıyla hücreye girişi ve daha sonrada böceğin sinir hücrelerinde zehir etkisi yaparak ölümüne neden olmaktadır. Bu mekanizma ancak zararlının düşük popülasyon düzeylerini baskılamak için yeterli olmaktadır. Bazı preparatları ise nematisit ve fungusit etki de göstermektedir.



Şekil 13. *Capsicum* sp. [33]

#### Bitkisel yağlar

Belirli uçucu yağlar uzun yıllardır zararlılara karşı uzaklaştırıcı olarak kullanılmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, bitkisel yağların sadece uzaklaştırıcı değil aynı zamanda kontakt ve solunum yoluyla da etkili zehirler olduklarını göstermiştir. Bu etki onların yapısındaki fenol ve terpenoid yapıları maddelerden kaynaklanmaktadır [12].

Bitkisel yağlar bitkilerin çiçek, gövde ya da yaprak gibi yapılarından elde edilmektedir. Kullanımları genelde kısıtlıdır. Bunun nedeni zararlı böcek popülasyonlarının azaltılması için kullanılan bitkisel yağ miktarı, sentetik insektisitlerle kıyaslandığında oldukça fazla olup çevrede daha çok kalıntı sorunu yaratmaktadır. Bitkisel kökenli yağların çevreye, hedef dışı ve yararlı organizmalara ve bitkilere uzun vadeli etkileri henüz tam olarak çalışılmadığından bu boyutlardaki kalıntıların etkisinin ne olacağı halen tam olarak açıklığa kavuşturulmamıştır. Bu sebeple bitkisel yağların kullanımı çeşitli ülkelerde sınırlandırılmıştır [14].

## SONUÇ

Bitkisel kökenli insektisitlerin kullanımı, sentetik insektisitlerin keşfinden önce oldukça yaygın olmuştur. Fakat sentetik insektisitlerin, bitkisel kökenli olanlara göre daha etkili, etki sürelerinin daha uzun ve kolay elde edilebilir olmaları kullanımlarını daha yaygın hale getirmiştir. Sentetik insektisitler bu avantajlarının yanında başta kalıntı, dayanıklılık ve çevre kirliliği gibi dezavantajlara da sahiptir. Zararlılar ile etkin mücadeleyi sağlayabilecek alternatif maddeler içinde bitkisel insektisitlerin sentetik insektisitlerin yerini alabilecek potansiyele sahip oldukları saptanmıştır. Fakat birçok bitkinin insektisit etkisi bilinmesine karşın ruhsatlı olanlarının sayısı oldukça azdır. Gelecek yıllarda bu bitkisel insektisitlerin üretiminin, sentetik insektisitlerin yerini alabileceği düşünülmekte ve bu tür insektisitlerin hem kalitesinin hem de sayısının artacağı kesindir. Özellikle organik tarımın popüler olduğu son yıllarda bitkisel insektisitlerin kullanımına gerek duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Ahmed, S. and M. Grainge. Handbook of Plants with Pest Control Properties. John Wiley & Sons Limited, 470 p. (1988).
- [2] Auger, J., Dugravot, S., Naudin, A., Abo-Ghalia, A., Pierre, D and E. Thibout. Potential of *Allium* allelochemicals for safe insect control. Bulletin OILB/SROP, 25(9): 295-306 (2002).
- [3] Awad, T. I., F.Önder ve Ş. Kısmalı. *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) ağacından elde edilen doğal pestisitler üzerinde bir inceleme. Türk. entomol. derg., 22(3): 225-240 (1998).
- [4] Bloomquist A., Jeffery R. Insecticides: Chemistries and Characteristics. In Radcliffe's IPM World Textbook. Eds. E.B. Radcliffe and W.D. Hutchinson. University of Minnesota, St. Paul. <http://ipmworld.umn.edu/chapters/bloomq.htm>. (1996).
- [5] Casida, J.E. Pyrethrum, The Natural Insecticide. Academic Press, New York, 329 p. (1973).
- [6] Casida, J.E. and G.B. Quistad. Pyrethrum Flowers: Production, Chemistry, Toxicology and Uses. Oxford University Press, New York, 356p. (1995).
- [7] Catteral, W. A. Neurotoxins that act on voltage sensitive sodium channels in excitable membranes. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 20: 15-43 (1980).
- [8] Clark, E.P. Quassin I. preparation and purification of Quassin and Neoquassin, with information concerning their molecular formulas. J. Americ. Chem. Soc., 59: 927-931 (1937).
- [9] Fukami, J. and M. Nakajima. Rotenone and the rotenoids. Pages 71-97 in Naturally Occurring Insecticides. Eds M. Jacobson and D.G. Crosby, Marcel Dekker, New



York, (1971).

[10] Fukami, J. Effects of rotenone on the respiration enzyme system of insect muscle. Bull. Nat. Inst. Agric. Sci. Ser. C. (Plant Pathol. Entomol.) 13: 33-45 (1961).

[11] Isman, M. B. Neem and other botanical insecticides: Barriers to commercialization. Phytoparasitica, 25(4): 339-344 (1997).

[12] Isman, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. Crop protection, 19: 603-608 (2000).

[13] Lehmborg, E. and J. E. Casida. Similarity of insect and mammalian ryanodine binding sites. Pesticide Biochemistry and Physiology, 48(2): 145-152 (1994).

[14] Öncüer, C. Tarımsal zararlılarla savaş yöntem ve ilaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları No:13, 4. Baskı, Aydın, 333 s. (2000).

[15] Prakash, A. and J. Rao. Botanical Pesticides in Agriculture. CRC Press. Lewis Publishers, 461 p. (1996).

[16] Schmeltz, I. Nicotine and other tobacco alkaloids. Pages 99-136 in Naturally Occurring Insecticides. Eds M. Jacobson and D.G. Crosby, Marcel Dekker, New York (1971).

[17] Schumutterer, H. Properties and potential of natural pesticides from neem tree *Azadirachta indica*. Annu. Rev. Entomol. 35: 271-297 (1990).

[18] Schumutterer, H. The Neem Tree; Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes. VCH, Weinheim, Germany, 696 p. (1995).

[19] Shanker, C. and K.R. Solanki. Botanical insecticides: A historical perspective. India, Asian agrihistory 4(2): 21-30 (2000).

[20] Ujvary, I. Nicotine and other insecticidal alkaloids. Pages 29-69 in Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor. Eds I. Yamamoto and E. J. Casida. Springer Verlag, Tokyo, Japan (1999).

[21] [https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/azadirachta\\_indica.htm](https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/azadirachta_indica.htm)

[22] <http://desert.com/smoking/>

[23] <https://www.naturalmedicinefacts.info/plant/anabasis-aphylla.html>

[24] <https://www.gardenia.net/plant/tanacetum-parthenium-aureum-feverfew>

[25] [http://zipcodezoo.com/index.php/Lonchocarpus\\_sericeus](http://zipcodezoo.com/index.php/Lonchocarpus_sericeus)

[26] <https://www.flickr.com/photos/68834419@N03/8741541834>

[27] <http://www.ehorticulture.com/tree-plants-seeds/medicinal-plants/tephrosia-purpurea-detail.html>

[28] <https://www.flickr.com/photos/52033111@N08/13314958614>

[29] <https://www.flickr.com/photos/visrec01/28487699572>

[30] <http://plantinfo.co.za/plant/quassia-amara/>

[31] <http://healthbeautyarticles.blogspot.com.tr/2015/06/quassia-picrasma-excelsa-overview.html>

[32] <https://modernbotanicals.org/category/garlic-allium-sativum/>

[33] <https://www.pepperscale.com/siling-labuyo>



## Flora of Dedegül Mountain and Its Effects to Agricultural Production of Lakes Region

Hasan ÖZÇELİK \*

\*S. Demirel Univ., Faculty of Science and Arts, Department of Biology, Isparta, Türkiye

\*Corresponding Author

E-mail: hasanozcelik@sdu.edu.tr

Received: June 11, 2018

Accepted: November 13, 2018

### Abstract

Dedegül mountain has an important plant gene center and microclimatic effects. The most effective factor in formation of these features is seen as the floristic richness and topographical structure of Dedegül Mountain and environs. This paper emphasizes the relationship between the Dedegül Mountain and the agricultural production in the region.

It is known that the ancestors of agricultural plants and the agricultural plants grown in a geographical area are closely related to the wild flora. As a parallel to the Turkish Flora, the Lakes Region also has an important plant diversity. Although the flora of Antalya is not fully known, but it is estimated it has 3000 vascular plant taxa. It is known that Isparta carries 2300 (as 600 endemics) and Burdur 1600 (as 450 endemics) taxa. It is stated in the scientific sources that the Mediterranean Region is the center of the differentiation of some genera from the four important families of medicinal and aromatic plants: Lamiaceae / Labiatae, Apiaceae / Umbelliferae, Rosaceae and Papaveraceae. Production and diversity of coriander, cumin, fennel in Burdur; carrot in Isparta; dill, radish, turnip; poppy, apple, fat rose, strawberry, blackberry, quince, deer apple, hawthorn in Lakes Region are very high. The vilayets have also a significant potential in harvested wild plants. Sütçüler thyme (*Origanum minutiflorum*), rosehips (*Rosa dumalis* subsp. *boissieri* var. *antalyensis* etc.), sage (*Sideritis*, *Salvia*, *Nepeta* spp.) are some of these. Secret of this success in the agricultural products of the Region is many ecological factors belong to Dedegül Mountain rows like Bozburun, Sultan, Beyşehir Lake, Kızıldağ, Köprülü Kanyon, Kovada Lake National Parks and Eğirdir Lake. which is the extension of this mountain.

**Keywords:** Dedegül Mountain, Gene center, Agricultural production, Lakes Region

### INTRODUCTION

“Dedegül” is the name of a mountain range among Yenişarbademli, Aksu, Eğirdir, partly Sütçüler (Isparta) and Beyşehir (Konya) districts. Beyşehir Lake on one side and Kızıldağ National Park and Eğirdir Lake on the other. It is the highest mountain in the Lakes Region. Dedegül Tepe is at the height of 2992 m altitude. Other peaks; Kartal peak is 2983 m, Karçukuru peak is 2932 m high [1 and 2].

Dedegül Mountain is a mountain range 15-18 km wide between the Beyşehir and Eğirdir Lakes to the east of the Lakes Region, extending about 60 km in the north-south direction. Beyşehir is the eastern border of the area and it forms Büyükçay’s arms, which are poured into this Lake. The west border is Davras Mountain, Aksu Creek and the basin. It is surrounded by Beyşehir Lake, Kurucaova town, Dumanlı village and Yeşildağ city in the east; Şarkikaraağaç city, Sultan Mountains, Eğirdir Lake, Aksu in the north; Sarp Mountain in the west; Köprüçay valley and Emerdin mountain, Sütçüler city, Kesme and Derebucak towns in the south. Bird flight in north-south direction, the field is generally mountainous and rugged rocks. Geological structure of it is tectonic in general. Its rocks are generally serpentine, volcanic and limestone. The area: 138568 ha, Coordinates: 31,25°E, 37,74°N. Altitude is between 820-2992 m. It is mostly located in vilayet Isparta (Şarkikaraağaç, Gelendost, Eğirdir, Beyşehir, Yenişarbademli, Aksu, Sütçüler cities) and partially in Konya province (Beyşehir district). No protection status of the area. May be harmed.

Zindan Cave (in Aksu city), Pinargözü Cave (in Yenişarbademli, 16 km in length) are the most attractive caves of Türkiye. Rock type and karstic structure have been very influential in the formation of caves and boulders. It is the richest area of the Lakes Region in terms of vegetation and animal diversity. The mountain was selected as one of

Türkiye’s 122 Important Plant Areas [3 and 4]. At the same time, it is one of the Important Nature Areas of Türkiye [2]. These ones are an international project and book names. The important fresh water resources of the region are the effects of this mountain. Especially Karagöl (in 2350 m) is an interesting karst formation. This lake, which is fed with snow water, has its base paved and its edges are clay. The waters leaking from the bottom of this lake are transformed into important rivers on the side of Antalya and these waters are mainly used for agricultural production.

Dedegül peak is integrated with the Anamas mountains. Cedar and larch forests dominate up to 2000 m. It is one of the areas where the nomads are settled and lived their migratory traditions. The Çayır, Barak, Sorkun plateau and the valleys are important pedestrian precincts. Mountaineering festivals are being held on the Melikler plateau for 19 years [1]. It is thought that this mountain flora is important in its agricultural structure due to its fauna, rock structure, climatic effects. This article has been prepared for this purpose.

### MATERIAL AND METHOD

The voucher herbal materials of the work have been collected by the author at various dates since 1994. Almost 1200 specimens were collected from the area. After being made according to the techniques of addition, pressing and drying, they were bonded on herbarium cartons and placed to **GUL Herbarium** which is in the Department of Biology (Isparta) of Süleyman Demirel University, Science and Literature Faculty. Identification of the specimens were made by the author by help of Flora of Turkey and the East Aegean Islands [2, 4 and 5]. Findings were obtained within the scope of scientific projects carried out on various dates. These projects were later transformed into scientific publications and reports [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14].



The flora and vegetation that should be monitored and endangered are determined for these studies. The floristic, topographical, climatic and geological structures of the area has been interpreted in order to explain the effects on the agriculture of the local people. The satellite image of the study area is shown on Map 1.

No record of plants collected from the field in the paper. A list of the taxa threatened on a global scale, on a European scale or throughout the country, and the hazard categories were determined according to the literature [2, 3]. However, the collection of plants has been done by author and from general diagnosis books [2, 4 and 5]. The endangered taxa with little or no distress in the danger category have not been added to the list of mountains. They must be added to the list.

Effects to agricultural production in the region of Dedegül Mountain was done by the author's interpretation. After the flora and vegetation of the mountain and the region were revealed, the geological and geomorphological structures was compared with the plants dominant in the agricultural production of the Lakes Region and the results were interpreted.

The flora of the mountain, the vegetation and the threats on its natural geological and topographic structures have been determined by observations in the field. Some suggestions have been made to protect this mountain against the identified threats.



Map 1. View of research area from SATellite (from <https://earth.google.com/web>).

## FINDINGS AND DISCUSSION

There are different ecological habitats in Dedegül Mountain. These habitats have been an important factor in the development, spread and diversification of various plants. Dedegül is the richest mountain in terms of floristics of the Lakes Region. Flora of it is not exactly known. According to our work called "Flora of Isparta"; this mountain is home to at least 900 vascular plant taxa. Approximately 650 of these are endemic. 40 of the endemics are only grown on the mountain of Dedegül. So this mountain is the only address in the world of the plant taxa.

*Pinus brutia* as a local community, *Platanus orientalis* and *Tilia platyphyllos*, *Populus* spp. along the Aksu stream are widely distributed near the village of Kasımlar. The high parts of the Dedegül Mountain are quite rich in plant diversity. Especially in recent years, linden has been grown in urban parks. Most of the people need linden tea. *Populus nigra* and other varieties are grown in abundance in Lakes Region for the purpose of lumbering. Crops can be cut in a maximum of 20 years.

### 3.1. Plant taxa specialised to the mountain and its environs:

*Aubrieta anamasica*, *Alyssum cephalotes*, *Hesperis ozcelikii*, *H. pisidica*, *Ranunculus gueneri*, *Delphinium gueneri*, *Geranium cinereum* subsp. *subcaulescens* var. *pisidicum*, *G. glaberrimum*, *Erodium pelargoniflorum*, *Minuartia umbellulifera* subsp. *salbacica*, *Saponaria pamphylica*, *Silene guerbuezii*, *S. caramanica*, *S. caryophylloides* var. *echinus*, *S. cariensis*, *S. isaurica*, *S. phrygia*, *S. ruscifolia*, *S. lycaonica*, *S. oreades*, *S. pharmaceifolia*, *S. capillipes*, *S. akmaniana*, *S. deliculata* var. *pisidica*, *Minuartia anatolica* var. *phrygia*, *Herniaria pisidica* *Astragalus sorgerae*, *Trigonella polycarpa*, *Sempervivum ispartae*, *S. pisidicum*, *Rosa dumalis* subsp. *boissieri* var. *antalyensis*, *Eryngium trisetum*, *Centaurea kizildaghensis*, *Helichrysum chasmolycicum*, *Ballota cristata*, *Nepeta plinux*, *Lamium pisidicum*, *Polygala pruinosa* subsp. *megaptera*, *Verbascum adenocarpum*, *V. sorgerae*, *V. pumilum*, *V. spodiotrichum*, *Rindera dumanii*, *Valeriana oligantha* and *Crocus asumaniae*.

### 3.2. The narrow-spread taxa that grow on the Dedegül mountain but also grow in other areas:

*Hesperis matronalis* subsp. *cilicica*, *Thlaspi papillosum*, *Papaver strictum*, *Matthiola montana*, *Isatis cappadocica* subsp. *alysifolia*, *Hypericum monodenum*, *Silene amana*, *S. sipylea*, *S. leptoclada*, *S. tunicoides*, *S. cryptoneura*, *S. cariensis*, *Dianthus eldivanus*, *Saponaria syriaca*, *Paronchia davisii*, *Geranium lasilopus*, *Genista burdurensis*, *Trigonella lycica*, *Astragalus barbarae*, *Astragalus panduratus*, *A. sparsipilis*, *Cephalaria lycica*, *Sempervivum brevipulum*, *S. ispartensis*, *Sedum hispanicum* var. *planifolium*, *Kundmannia syriaca*, *Helichrysum heywoodianum*, *Centaurea germanicopolitana*, *Euphorbia isaurica*, *Verbascum pinardii*, *V. cilicicum*, *Sideritis leptoclada*, *Lamium lycium*, *Thymus samius* and *Asyneuma isauricum*.

*Saponaria pamphylica* is a threatened species on European scale. It grows abundantly in Kızıldağ National Park and near Beyşehir Lake. It is an endemic of the Lakes Region. Damage to the mountain is a threat to these species.

Although *Silene ruscifolia* were registered from Kayseri (Pınarbaşı), Sivas and Erzincan provinces, it was not found in there by us, but there was in a small area of Gelendost (Isparta).

*Silene caryophylloides* has very good variation in the mountain.

*Sedum hispanicum* var. *planifolium* was registered from Kütahya. Dedegül Mountain is the area of second spread. In the mountain, it is growing the best. *Sempervivum brevipilum*, *S. ispartensis* are also endemics to the region. It grows mostly on Dedegül Mountain. It is spread by birds. There are many ornamental plants of *Sedum* genus and relatives.

*Minuartia umbellulifera* subsp. *salbacica* was registered from Denizli. However, varieties of the species are growing abundantly in the mountain.

**3.3. Plant taxa in the VU (at risk) category in the mountain:** *Acer hyrcanum* subsp. *sphaerocaryum*, *Asphodeline turcica*, *Bupleurum davisii*, *Echinops onopordum*, *Eremopoa attalica*, *Erodium pelargoniflorum*, *Gaudiniopsis macra* subsp. *micropyroides*, *Glycyrrhiza asymerica*, *Hypericum ternatum*, *Iris pamphylica*, *Muscari muscarimi*, *Omphalodes ripleyana*, *Ricotia varians*, *Silene delicatula* subsp. *pisidica*, *Stachys antalyensis*, *Trigonella pamphylica*, *Valeriana oligantha*, *Veronica panormitana* subsp. *baradostensis*, *Ranunculus gueneri* and *Rosa dumalis* subsp. *boissieri* var. *antalyensis*.

**3.4. Plant taxa in the CR (Critical) category in the mountain:** *Stachys chamosericea*.

**3.5. Plant taxa in the EN (Endangered) category in the mountain:** *Campanula antalyensis*, *Cerastium pisidicum*, *Crocus asumaniae*, *Globularia trichosantha* subsp. *longisepala*, *Herniaria pisidica* and *Stefanoffia insoluta*.

It is a field where the Mediterranean enclaves (vegetation with foreign origin) are seen in the region. For this reason, it is a mountain that has links to other regions in terms of geological structure and plant formations. There are a large number of monumental trees in the area (registered as Beyçamı by the TR. Forestry ministry), and even 600-800-year-old larch forests or remains. *Quercus vulcanica* and *Abies cilicica* subsp. *isaurica* are also present as enclaves. Most of these trees are monumentals. It is a rare plant from Tertiary (3rd time) that can reach to the day. For this reason, they are both a relicts and endemics. Along the canyon (Kapiz) is an enclave of European Siberian taxa. There are small remains from these enclaves in the upper parts of the canyon.

According to our work; Dedegül mountain is gene center of *Rosa* genus and *Rosa dumalis* subsp. *boissieri* var. *antalyensis*. *R. dumalis* in the area, a rosehip species, is the highest quality rosehip species in Türkiye. Vitamin C in *R. dumalis* growing the mountain is above of world standards. Worldwide, the maximum rate of vitamin C was 4 mg / 100 g, while in *R. dumalis* it was 4.2-4.5 mg / 100 g. The other components are also more qualified than the other rosehips. This kind of farming industry should be established. It shows a lot of *Rosa* species variation. There are almost 60 *Rosa* genotypes belong to 12 species in the mountain [12]

We have to think the Dedegül Mountain together its surrounding. Especially from Bozburun Mountain and Köprülü Canyon National Park, we can not think separately from the Beyschir Lake National Park. This area has been declared by the state largely as national park, protected area and so on. Among the other bulbous and tuberous plants that we have cultivated, there are Şakayık, Ayıgülü (*Paeonia mascula*), Kardelen (*Galanthus gracilis*, *G. elwesii*), Boynubükük, Gölsoğanı (*Leucojum aestivum*), Ağlayangelin (*Fritillaria* spp.), Çiğdem (*Crocus*, *Colchicum* spp.), Lale (*Tulipa* spp.), Süsen, Zambak (*Iris* spp.), Tükrikotu (*Ornithogalum* spp.) and are also abundant and varied in this mountain. Members of the Crassulaceae family are particularly important for the *Sedum* and *Sempervivum* genera, as well as *Populus* and *Salix* genera.

*Origanum minutiflorum* is one of the endemic species of the region and is known as Sütçüler kekiği (Aş kekiği, Çorba kekiği, Tota kekiği). It is the most important plant of Türkiye's exports. The volatile oil content is about 3% and the use of oil components is very convenient.

*Paeonia mascula* is a very valuable ornamental plant. At International EXPO 2016 fair held in Antalya, this plant was preferred instead of flowers as a symbol of flowers and children.

Onions of *Galanthus gracilis* and *G. elwesii* are very valuable in economy. As a taxonomic, *Galanthus* species are often mixed with *Leucojum aestivum* species. All three species are exported to Europe. These species are also produced by the villagers of mountainous areas and their onions are sold. However, not producers, usually win European traders in trade.

The onions are sold by 5-6 TL/kg from Türkiye to European traders. In Europe, the bulbs are grown, they are sold individually and in high price in the form of flowering pots. It is also understood that these plants are used for the production of organic medicinal drugs. Children paralysis are at the beginning of these diseases. Several active substances, especially galanthamine from the genus *Galanthus*, are isolated and sold as organic drugs for a multitude of diseases. Due to the extreme disintegration, the natural distribution areas within the territory of Yenişarbademli are protected by the state and dismantled. For this reason, production studies have been started. If these plants are produced, there is no market strain. European states are the most important market. The floristic characteristics of the area are given in Table 1 as a comparison with their surroundings.

**Table 1.** A comparison of the floristic studies performed in and around the study area.

\*: The order of first three families involving the most taxa; \*\*The order of first three genera involving the most taxa; \*\*\*: It has been determined by removing it from the related publication. **Med. el.:** Mediterranean element; **Ir.-Tur. el.:** Irano-Turanian element; **Avr.-Sib. el.:** Euro-Siberian element.

Floras of Research Areas	Total Taxa	Endemism Ratio %	The biggest 3 families*	The biggest 3 genera**	Med. el. %	Ir. Tur. el. %	Avr.-Sib. el. %
Kasnak Oak Nature Protection Area (Isparta) [14]	442	15,61	Fabaceae, Asteraceae, Lamiaceae	<i>Trifolium, Astragalus, Silene</i>	27,38	9,28	6,33
Yaylabel (Isparta)[16]	271	13,65	Asteraceae, Fabaceae, Lamiaceae	<i>Silene, Astragalus, Centaurea</i>	25,46	8,86	5,54
Dedegül Mountain (Isparta-Konya)[17]	824	18,69	Asteraceae, Fabaceae, Caryophyllaceae	<i>Silene, Astragalus, Ranunculus</i>	18,57	10,92	4,73
Sütçüler (Isparta)[7]	587	26,20	Fabaceae, Asteraceae, Caryophyllaceae	<i>Silene, Trifolium, Ranunculus</i>	29,0	15,6	6,2
Aksu (Isparta)[6]	658	25,20	Asteraceae, Lamiaceae, Caryophyllaceae	<i>Silene, Veronica, Astragalus, Centaurea</i>	23,1	11,4	9,2
Barla Mountain (Isparta)[18]	645	17,05	Asteraceae, Fabaceae, Lamiaceae	<i>Astragalus, Centaurea-Trifolium- Silene-Euphorbia, Veronica</i>	21,65	11,92	3,71
Bozburun Mountain (Antalya-Isparta-Burdur)[19]	645	16,12	Fabaceae, Asteraceae, Lamiaceae	<i>Silene, Trifolium, Ranunculus</i>	32,1	7,9	5,1
All of Burdur vilayet[11]	1580	25,31	Asteraceae, Fabaceae, Lamiaceae	<i>Astragalus, Verbascum, Centaurea</i>	-	-	-
Kızıldağ National Park (Isparta) [20]	786	15,72	Asteraceae, Fabaceae, Rosaceae-Poaceae	<i>Ranunculus, Allium, Veronica</i>	16,76	17,56	4,59
Davras Mountain (Isparta)[21]	415	25,80	Fabaceae, Asteraceae, Brassicaceae	<i>Silene, Veronica, Astragalus</i>	35,0	15,6	5,5
Kovada Gölü National Park (Isparta)[22]	367	15,25	Fabaceae, Asteraceae, Brassicaceae	<i>Silene, Trifolium, Astragalus</i>	21,52	10,62	4,90
Gölcük Lake (Isparta)[23]	227	28,20	Fabaceae, Caryophyllaceae Asteraceae	<i>Astragalus, Silene, Vicia</i>	21,1	17,6	6,2
Kovada Arboretum (Isparta)[15]	350	12,3	Asteraceae, Fabaceae Lamiaceae	<i>Galium, Silene, Ranunculus</i>	28,8	14,4	6,8
Beyşehir Lake and its Environs (Konya) [24]	-	10,12	Fabaceae, Poaceae, Asteraceae	<i>Trifolium, Astragalus, Trigonella</i>	18,32	12,40	5,06
Köprülü Kanyon National Park(Antalya-Isparta) [12]	707	32,50	Lamiaceae, Fabaceae, Asteraceae	<i>Ranunculus, Veronica, Geranium</i>	30,97	10,46	07,07
Yeşildağ-Kurucuova (Konya)[25]	512	11,52	Poaceae, Asteraceae, Brassicaceae	<i>Astragalus, Trifolium, Silene</i>	20,89	15,13	4,48
Sultan Mountains (Afyon-Isparta-Konya[3 and 26])	587	14,0	Asteraceae, Fabaceae, Poaceae	<i>Astragalus, Silene, Hypericum</i>	12,50	13,0	5,70
Yandağ (Isparta)[27]	729	13,80	Fabaceae, Asteraceae, Poaceae	<i>Salvia, Astragalus, Trigonella</i>	19,80	16,30	3,80
Akşehir (Konya)[28]	-	0,80	Asteraceae, Poaceae, Fabaceae	<i>Ranunculus, Juncus, Polygonum, Potamogeton</i>	11,20	25,60	8,80
Derebucak-İbradı-Akseki[29]	960	17,3	Asteraceae, Caryophyllaceae Liliaceae	<i>Sideritis, Astragalus, Silene</i>	-	-	-
All of Isparta vilayet [9]	2280	28,50	Asteraceae, Fabaceae, Poaceae	<i>Astragalus, Silene, Verbascum</i>	-	-	-



According to the information received from the people in the region, especially shepherds and forestry; the public believes that Dedegülçiçeği (*Centaurea bornmuelleri* or a *Jurinea* sp.) will bring good luck, and they keep the flowers of its at home for a while. For many illnesses, its tea is brewed and drunk. It is short-lived, rhizomatous, perennial, light blue or whitish-flowering, and even pleasant-smelling. In the place where the tomb of Dedegül is located, it is a rare endemic growing on the rocky slopes between Karagöl and the peak. Tourists climb to the top of the mountain to see this species. Some of them can see, but some can not. Others think of other fragrant plants as degenerate flowers.

There is also Dedegülçayı (*Cyclotrichum origanifolium*) at the mountain. It is named "Kafaotu, Kafasüpürgesi or Karabaşotu" in Senirkent. It grows on damp bare rocks and at high altitudes. The Yaka villagers sells locals from the tops of the village and sells them in Pınarpazarı of Eğirdir. It is used against diabetes, infectious diseases; it is brewed and drunk for a delicious fragrant tea. It is a well known, popular and sold plant in the region. Agriculture can not be done. However, it can only be produced on fields in forest openings in high mountains.

Marsuvan otu / Herdemtaze / Altınotu (*Helichrysum plicatum*) is a very important economic value and must be cultured. It is also an important medical plant in the mountain. Its tea is drinking against the urinary tract disorders. The local people collect the upper parts of this plant, especially the flowering part in the growing season, dried in the shade, and used especially in the winter season. They are sold in bundles in transit.

This mountain is very important in local agriculture. It is known that the plant geography, ecological conditions and floristic structure of the mountain are important in the selection of the plant to be cultivated. Lakes Region is the center of roses and fruit production in Türkiye. More than 50 % of the fruit trees in Türkiye belong to the Rosaceae family. This success is due to the fact that the Dedegül mountain. It is a genetic center for the *Rosa* genus. Almost all of the fruit trees have a few wild forms in this mountain flora.

### 3.6. Some plants growing naturally on Dedegül Mountain and in high economic importance:

#### 3.6.1. Mushrooms:

There are edible mushroom taxa in the mountain. Kuzugöbeği (*Morchella* spp.), Çayır mantarı (*Agaricus campestris*), İstiridy mantarı, Çıntar (*Pleurotus ostreatus*), Domalan / Türüf mantarı (*Tuber* sp.). *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* have been produced in the region especially in Isparta and Burdur in recent years. The quality of produced *Morchella* species is poor as well as the production experiment. For this reason, there is a market problem. Only natural breeders can be sold as fresh 100-125 TL/kg, dried 800-1000 TL/kg. When the species are fresh, the water is used to treat eye diseases. Protein is high. It's the top quality mantle.

#### 3.6.2. Herbaceous plant taxa:

For medical and aromatic purposes: Dedegülçiçeği (*Centaurea bornmuelleri* or *Jurinea* sp.), Altın otu / Marsuvanotu / Solmazçiçek (*Helichrysum plicatum* and other *Helichrysum* spp.), Rezene / Arapsaçı (*Foeniculum vulgare*), Kekik / Zahter (*Thymus*, *Thymbra*, *Corydanthus*, *Origanum*, *Satureja* spp.), Bayır çayı / İncir kekiği (*Origanum majorana*), Sütçüler Kekikiği / Aşkekiği / Tota Kekikiği / Yayla kekiği (*Origanum minutiflorum*), Acı yavşan / Pelin (*Artemisia absinthium*), Isırgan otu

(*Urtica dioica*, *U. urens*), Şalba / Bozot / Adaçayı (*Salvia tomentosa* and so on.), Oğlanotu (*Teucrium polium*), Yarpuz / Nane (*Mentha spicata*, *M. longifolia*), Adaçayı / Eşekotu / Dağçayı / Yaylaçayı (*Sideritis* spp.), Yılanburçağı (*Arum* spp.), Suteresi / Gerdeme (*Nasturtium officinale*), Karağan / Laden / Pamuklukotu (*Cistus* spp.), Salep (*Orchis*, *Ophrys*, *Cephalanthera* spp.), Kantaronotu / Binbirdelik otu (*Hypericum* spp.), Ayvadana / Civanperçemi (*Achillea* and some *Tanacetum* spp.), Papatya (*Anthemis*, *Tripleurospermum* spp.), Ebegömeçi (*Malva neglecta*, *M. sylvestris*), Yabani soğan (*Allium* spp.), Beyşehirçöğeni / Çevgen (*Gypsophila arrostii* var. *nebulosa*), Sümbül (*Muscari* spp.), Yakıotu (*Epilobium* spp.), Çiğdem (*Crocus* spp.), Gelincik (*Papaver*, *Glaucium* spp.), Sirken / Akpazı (*Chenopodium* spp.), Eşekmarulu (*Taraxacum* and *Sonchus* spp.), Güneğik / Karakavuk (*Cichorium intybus*), Topuzluk (*Echinops* spp.), Oğul otu (*Melissa officinalis*), Siğil otu (*Chrysophora tinctoria*), Böğürtlen, Börtlek (*Rubus* spp.), Sığirdili (*Anchusa* spp.), Deve dikenini (*Onopordum* spp.), Hardal (*Sinapis arvensis*), Sakız otu (*Chondrilla juncea*), Menekşe (*Viola* spp.), Yabani turp (*Raphanus sativus*), Demirdikeni / Deveçökerten (*Tribulus terrestris*), Bitirak (*Arctium tomentosum*), Ayrıkotu (*Cynodon dactylon*), Yaylaçayı / İnceçay / Dağçayı (*Sideritis libanotica*), Balotu / Emzikotu (*Onosma isauricum*), Gelincik (*Papaver rhoeas* etc.), Sinirotu / Sinirliot / Kırkdamarotu (*Plantago major* subsp. *intermedia*), Zambak (*Lilium* spp.) and Abdestbozan (*Sarcopoterium spinosum*) etc.

#### 3.6.3. Ornamental plants:

Şakayık / Ayıgülü (*Paeonia mascula*), Menekşe (*Viola* spp.), Dağ lalesi (*Anemone* spp.), Sarmaşık (*Hedera helix*), Dağkaranfili (*Dianthus* spp.), Keçibiciği (*Michauxia campanuloides*), Eğreltiotu (*Dryopteris filix-mas*), Kartaleğreltisi (*Polypodium vulgare*), Acı çiğdem / Kılıç otu (*Gladiolus italicus*), Süzen / Zambak (*Iris* spp.), Nergiz (*Stenbergia lutea*), Kardelen (*Galanthus* spp.), Ağlayangelin (*Fritillaria* spp.), Lale (*Tulipa* spp.), Damkoruğu / Sabirotu (*Sedum* spp.) and *Sempervivum* spp., Gölotu / Boynubükük (*Leucolum aestivum*), Kardelen (*Galanthus gracilis* and *G. elwesii*), Çuhaçiçeği / Dağmarulu (*Primula veris*, *P. vulgaris*), Topalak (*Cyclamen* spp.) and Süsen / Zambak (*Iris* spp.).

#### 3.6.4. Food plants:

İlabada / Kuzukulağı / Evelik / Efelek (*Rumex* spp.), Böğürtlen / Börtlek (*Rubus* spp.), Horozibiği (*Amaranthus retroflexus*), Isırgan (*Urtica dioica*), Tokmekan / Tokmakan / Semizotu (*Portulaca oleracea*), Acı çiğdem / Kılıçotu (*Gladiolus illyricus*), Çiğdem (*Crocus biflorus*, *C. chrysanthus*) Sığirdili (*Anchusa azurea*), Çobançantası (*Capsella bursa-pastoris*), Çakır dikenini (*Eryngium campestre*, *E. billardieri*), Ebegömeçi (*Malva neglecta*, *M. sylvestris*), Hardal (*Sinapis arvensis*), Yabani bakla (*Vicia sativa*), Gıvışganotu (*Silene vulgaris* var. *vulgaris*), Yemlik / Tekesakalı (*Tragopogon latifolius* var. *angustifolius*, *Scorzonera cana*), Madımak / Çobandegneği / Kuşekmeği (*Polygonum cognatum*, *P. aviculare*), Körmen (*Allium scorodoprasum* subsp. *rotundum*), Salep (*Orchis laxiflora*; *O. tridentata*), Dağ Eriği / Çakal eriği (*Prunus divaricata* subsp. *ursina*), Çördük / Turşu otu / Tarhana otu (*Echinophora* spp.), Çöven (*Gypsophila arrostii* var. *nebulosa*). Edible plants from aromatic and these plants can also be added to this group.



### 3.6.5. Woody taxa:

**Essential oil plants and aromatics:** Sumak / Mavru (*Rhus coriaria*), Ihlamur (*Tilia argentea*), Yağlıardıç / Kokarardıç (*Juniperus foetidissima*), Murt / Mersin (*Myrtus communis*), Kebere / Gebere (*Capparis spinosa* var. *spinosa*, *C. ovata*), Karaçalı / Çaltıdiken (*Paliurus spina-christi*), Defne / Tehni / Tehnel (*Laurus nobilis*), Karağan / Laden / Pamuklukotu (*Cistus* spp.), Tesbih çalısı / Ayıfındığı (*Styrax officinalis*), İledin / Köknar / Gökknar (*Abies cilicica* subsp. *isaurica*), Çam / Şam (*Pinus* spp.), Sedir / Katran ağacı (*Cedrus libani*), Kuşburnu / İtburnu (*Rosa dumalis* subsp. *boissieri* var. *antalyensis* and other *Rosa* spp.), Sığla/ Günlük (*Liquidambar orientalis*) and Çınar / Kavak (*Platanus orientalis*).

### 3.6.6. Wild fruits:

Kızılçık/ Ergen (*Cornus mas*), Elma (*Malus sylvestris*), Armut / Ahlat (*Pyrus* spp.), Kuşkirazı / Kiraz (*Prunus* spp.), Dağmuşmulası / Kürt (*Cotoneaster* spp.), Üvez (*Sorbus* spp.), Payam / Badem (*Amygdalus* spp.), Kuşburnu / İtburnu (*Rosa dumalis*, *R. canina*, *R. pulverulenta*, *R. horrida* etc.), Alıç / Kızılçık / Yemişen (*Crataegus* spp.), Kızılçık / Ergen (*Cornus mas*), Menengiç / Çıtırık (*Pistacia terebinthus*), Çakaleriği (*Prunus spinosa* subsp. *dasyphylla*), Geyikeması (*Eriolobus trilobatus*), Doğan ağacı / Çitlembik (*Celtis australis*).

### 3.6.7. Forest trees:

Karaçam (*Pinus nigra*), Katran / Sedir (*Cedrus libani*), Dikenardıç (*Juniperus oxycedrus*), Yağlı ardıç/ Kokarardıç (*Juniperus foetidissima*), Boylu ardıç / Bozardıç / Kara ardıç (*J. excelsa*), İledin/ Gökknar (*Abies cilicica* subsp. *isaurica*), Şimşir / Akçaağaç (*Acer* spp.), Dişbudak (*Fraxinus* spp.).

### 3.6.8. Plants for ornamental / landscaping purposes:

Papazkühlahı (*Eunymus latifolius*), Karaçalı / Çaltıdiken (*Paliurus spina-christi*), Şimşir / Akçaağaç (*Acer* spp.), Dişbudak (*Fraxinus* spp.) Karamuk / Kadıntuzluğu / Hanımtuzluğu (*Berberis vulgaris*, *B. crataegina*), Karaçam (*Pinus nigra*), Çınar / Kavak (*Platanus orientalis*), Pınal meşesi / Pinyar (*Quercus coccifera*), Kasnak meşesi (*Quercus vulcanica*), Söğüt (*Salix* spp.), Kavak (*Populus* spp.), Sandal / Kocaağaç (*Arbutus andrachne*), Erguvan / Gelinyemişi (*Cercis siliquastrum*), Dumanağacı (*Cotinus coggygria*) and Papaz külahı (*Eunymus latifolius*).

**3.6.9. Plants in horticulture / Agroforest: Fruits** (apple, cherry, apricot, strawberry, quince, new world, pearl, pear, hawthorn etc.), **wild deer, fruits, cutting roses** (in Antalya) and **oil rose production** (in Burdur, Isparta, Afyonkarahisar) are belonging to microclimatic effects produced by this mountain in the region. Strawberry (especially produced successfully in Şarkikaraağaç in recent years), the apple of Isparta (22 % of Türkiye's apple production from Isparta). Isparta is leader in the oil roses production of world. In recent times, lily production in Isparta has also been increased and turned into an industrial product.

*Iris germanica* (Zambak in Turkish) is produced in the vicinity of Keçiborlu for this aromatic oil purpose. The productions of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) are around 350 da in the vicinity of Keçiborlu. Isparta oil rose (*Rosa damascena*)

is produced in the region since the Ottoman time. In recent years, oil rose production has been reached 35000 da areas. *Papaver somniferum* (Haşhaş in Turkish) has also been produced for medicinal purposes since the Ottoman period. Its production is supervised.

Şekerfasülye, Akçabelen fasülyesi (sugar bean) which is a high quality and brand-name produced in the related area is a result of microclimate that flows the Akçabelen village neighborhood of Beyşehir and also Yakaavşar town of Aksu (Isparta). A lot of sugar bean (Şeker fasülye) varieties are produced in especially Iğın, Seydisehir, Yalvaç, Şarkikaraağaç, Yenişarbademli, Eğirdir, Aksu (especially Yakaavşar town) in the region. Sugar beans carry a geographical sign for the region. Not only sugar beans, but also many kinds of vegetables such as pea, chickpea, cowpea, red kidney beans are produced. This success is thought to be due to the fact that Leguminosae family is from large families in the mountain flora and that microclimate is effective. Protein value is around 18% in normal beans and about 30% in this bean. There is a project that is protected by the World Bank for the protection of this bean [31].

Honey production in the region is important as economic. There are varieties such as lavender honey, Yaylabalı (ie. plateau honey) and Karakovan honey. It is known that honey quality and production are related to floristic variety and vegetation. The rose honey, lavender honey, and pine honey can be produced in the future. The quality of the products in the region is high and therefore there is no problem in sales. Honey is also produced in lavender, rose, lily, thyme fields and fruit gardens and natural fields.

There are many kinds of medicinal and aromatic plants collected from the mountain. Significant revenues are gained from these crops both in Türkiye and abroad. Most of these plants are herbaceous and geophyt plants, which are commercial values and sold abroad from Türkiye [30].

Zindan Cave (in Aksu), Pınargözü Cave (in Yenişarbademli, 16 km in length) are the most attractive caves of Türkiye. Especially Karagöl (in 2350 m) is an interesting karstic formation. Rock type and karstic structure of the area have been very influential in the formation of caves and boulders. In here, the local people can store the foods (cheese, butter etc.) for a long time. This tradition is still maintained in some parts.

Dedegül mount is the richest area of the Lakes Region in terms of vegetation and animal diversity. It was selected as one of Türkiye's 122 Important Plant Areas. At the same time, it is one from Important Nature Fields [2 and 3].

The rock variety of Dedegül Mountain has been an important factor in the soil diversity of agricultural areas. It is known that after the climate, the soil factors are effective in the growth of plants, and soil in some plants it is the first factor. The diversity of volcanic rocks in the region has been influential in the formation of fertile agricultural lands.

The main rock in the area is limestone. Locally small blocks of serpentine are visible. It is known that the rock variety is effective in chemical composition of water. There are underground lakes in Dedegül mountain. The rivers that come out of the mountain go out with the increase of the water level there, decrease and increase. Because it is the highest mountain and big in the region. It receives the highest rainfall and these rains descend inferior in time. Dungeon cave such as Karagöl, Pınargözü is also nourished by the precipitation. Başpınar, Beyşehir Lake and Eğirdir Lake's water resources from the bottom of this mountain is the extensions of the mass of water to the earth. This wet

and damp structure have been influential in the formation of wetlands, meadows and marshes around the mountain. An important part of these mers are the shores of Beyşehir Lake and Yalvaç, Hüyükülü, Şarkikarağaç Göksöğüt, Çiçekpınar. It's around Senirkent Trotter. In these areas, pastures management was projected with the works of the Provincial Directorate of Food, Agriculture and Livestock [13] to improve the animal husbandry and to distribute the facilities equally to the people in the rural areas. Significant distances have been taken in these studies. This success is due to the fact that there is microclima and water source which is formed by the related mountain.

## CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS

Since the area is located between Central Anatolia and the Mediterranean, the flora and vegetation must reflect the characteristics of the Mediterranean and Iran-Turan regions. Mediterranean forests, alpine steppe, stony slopes and steep rocky vegetation cover vast areas. In the lower parts, maquis communities, plains, steppes, red pine (*Pinus brutia*), river-coastal plant communities, agricultural areas; mixed forests of cedar / tar (*Cedrus libani*) and larch (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*), up to 2000 m in height. On the tree border (2000 m), it consists of mountain steppes, juniper (*Juniperus excelsa*), fragrant juniper (*J. foetidissima*) communities and steep rocky vegetation cover.

**Endemic plant taxa to the area** and its environment: approximately 40,

Plant taxa in the **VU** (at risk) category in the mountain: 20,

Plant taxa in the **CR** (Critical) category in the mountain: 1,

Plant taxa in the **EN** (Endangered) category in the mountain: 6,

Rare and endangered plant taxa in the area: 52,

Number of endangered species on a global scale 1 (*Acer hyrcanum* subsp. *sphaerocaryum*); Number of endangered species on European scale 49,

According to the **Bern Convention**, the number of endangered natural habitats is 5 (West Taurus *Abies cilicica* forests, *Pinus nigra* subsp. *pallasiana* forests, South Anatolian *Pinus brutia* forests, Taurus *Juniperus excelsa* forests, Taurus cedar (*Cedrus libani*) forests) [5 and 11].

Farming, animal husbandry and forestry are made in the mount. Foliage and vegetable cultivation are carried out in the covered districts. Apple, rose, strawberry is one of the important income sources of Isparta and the region. This success is due to the floristic structure of the Dedegül mountain and the effect of microclimate on the environment.

The area has been the scene of many civilizations throughout history. BC. Etiler (Hittites) in 4000 BC, Phrygians in 1500 BC Ions in 800 BC Lydians in 600 BC, Persians in 450 BC in 190, the Romans, AC. in 395 the Byzantines were dominant in the region. The dungeon of Aksu is one of these ancient cities [1].

After the Malazgirt Victory in 1071, Anatolia joined to the Seljuk lands in 1142. During the Seljuk period, Sultan Alaaddin Keykubat built the Kubat-Abad city and made the second capital, saying: "Heaven is here or under this place". This word is still valid for this day and indicates the uniqueness of the area [1].

Wild plants have been used as important food in

prehistoric communities. The transition to plant and animal breedings between the years 6000-7000 (Neolithic period) reduced the importance of wild plants, but during the famine period wild plants were used as food. In Anatolia, wild apples (*Malus sylvestris* subsp. *orientalis*), Hibiscus / Ebegümeçi (*Malva sylvestris*), Palamut meşesi (*Quercus ithaburensis* subsp. *macrolepis*) and many other plant foods were used as raw or cooked. The role of these civilizations is great in the cultivation of the region and in agricultural plants.

Today, around 3000 plants are cultivated for food purposes in the world. The number of natural plants used as food is more than 10.000 [32]. According to the 11th volume of Flora of Turkey, the number of plant species in our country is 11.014 and 3.708 is endemic [5c]. Dedegül Mountain is an important center for bulbous, medicinal and aromatic purposes as well as fruit trees.

Mount Dedegül is the highest mountain in the region. It is also linked to other mountains. Thus microclimate was formed in the region and ecosystems came to the foreground. Every ecosystem has its own plants and animals that feed and shelter those plants. In Lakes Region, most of the plants are grown naturally in this mountain. People around the area are more likely to benefit from the flora than other places. Thyme, sage, caravan etc. It is collected and sold for commercial purposes. Boynubükük / Gölsoğanı (*Leucojum aestivum*) only grows in an small area on the edge of this mountain and is protected by the Nature Conservation and National Park Directorate. In MAREM, located in Eğirdir, experiments on reproduction of this plant have been made. The symbol of the EXPO 2016 Fair held in 2016, Ayigülü / Şakayık (*Paeonia mascula*) grows best and best on this mountain. The people of the region depend on agriculture for the first time. Almost all of the plants produced in agriculture grow naturally in this mountain. Therefore, this seedling / breeding, rootstock etc. are obtained. In addition, the presence of the wilds of agricultural plants to be produced on a mountain is an indication of the success of the cultivation of that plant group in the relevant area. Irrigation and water features are very important in agriculture. In both drinking water and agricultural irrigation, the water reserve of the mountain concerned is quite significant and important. It is known that the freshwater resources are decreasing in our country and its importance increasing.

The sources of the floristic richness in the area is due to its mikroklima, soil and rock properties. The fact that our study area is mainly influenced by the Mediterranean phytogeographical region, although the endemics of Türkiye are mostly in the range of 1000-2000 m. The fact that most of the cultivation is carried out at these heights is the most important factor in the low rate of endemism. The excessive number of taxa may be another factor that reduces the endemism rate.

Although the Long Period Development Plan (UDGP) of the Beyşehir Lake National Park exists, the plan is not implemented. Our idea is that; the private company that prepared the plan probably drafted the plan depending on the literature to reduce the cost and the experts in the field did not review it. Therefore, the plan has no provisions.

**4.1. Hazard Categories and Protection Status:** Only a small part of Dedegül Mountain is protected because it is included in the scope of Beyşehir Lake National Park. There is no protection status for the other part. Despite the fact that the area is very important, there is no its protection status. For this reason, the destruction has been made clear in recent

years. Marble and mines are opened by taking advantage of legal space and wildlife is damaged. The change of topography and microclimate due to vegetation is a threat to agricultural production, underground and super fresh waters and biodiversity on the ground. It is suggested that state and national care should be taken to protect all natural structures, especially topographic changes, up to the taking of the area protection status.

Local people living in or around protected areas such as National Park, Nature Conservation Area opposed to protected areas by complaints from their restrictions on their movement. While maintaining biodiversity in the local population, it is widely believed that the human needs of the people are not considered enough. However, biodiversity is health, education, economy. The only way to overcome this misconception and protect biodiversity is again education, project, skilled human power.

#### 4.2. The area is the target of biotools.

Every year, there are aliens who smuggle in this area. Local guides should be given to foreign tourists and the aims of the tourists should be well established. Especially in ecotourism, the danger of biofuels is higher. Consciousness of the local people is important.

Excessive grazing and cutting trees are other important threats. But the above threats are of higher priority. The cut is usually carried out by the General Directorate of Forestry. It is very damaging to the area. The removal of the historic larch forests in this way causes a new structure in the ecological structure. It changes the flora and vegetation of it. It is estimated that the number given in Table 1 is increased by at least 50 species and 20 endemic taxa in the mount. Plant diversity also encouraged the diversity of the field animals. Especially the apollo butterfly (*Parnassius apollo*) is an indication and endemic of the area. The diversity and populations of butterflies increase in the area where a lot of rose hip crops [33].

#### The effects on the local agriculture of Dedegül Mountain can be summarized as follows:

There are many medical and aromatic plants growing in the mountain. These plants are collected from nature or produced and contribute to the economy and health of the local people. The most important of these is undoubtedly the poppy.

Fruit farming is leading in local agriculture. Especially strawberry, apple, quince, rose, rosehip, cherry, plum, pear etc. They grow as wild plants in the mountains. In the same way (grape), fig (nut) also naturally grows in the relevant area. This situation indicates that such fruit plants are the natural spreading area and ecologically the most suitable growing area in the region.

There are many wetlands around the mountain. The importance of wetlands is increasingly understood. Some of these areas are considered as meadow-pasture. This situation is also an important contribution to local animal husbandry.

Source streams such as Aksu, Başpınar and Pınargözü are important services in both drinking water, agricultural irrigation and fishing. Fish farms in Aksu are fed from this source.

The knowledge and experience inherited by the ancient civilizations in the region are also important in the food and agriculture. When all the features are combined, the Seljuk Sultan reminds the words of Alaaddin Keykubat: "Heaven is here, or underneath". Protecting the area is very important for this reason.

## REFERENCES

- [1] Anonymous, 2017. <http://www.aksubaspinar.com/doga/anamas-yaylaları.aspx>, Date of access: 22.09.2017.
- [2] Güner, A., 2005. 122 Important Plant Areas of Turkey (Edt: N. Özhatay, A. Byfield, S. Atay). WWF Turkey Wildlife Conservation Foundation), pp. 220-221.
- [3] Eken, G., Bozdoğan, M., Isfendiyaroğlu, S., Kılıç, D.T., Lise, Y. 2006. Important Nature Areas of Turkey: I. Doğa Derneği, Ankara, p: 342-347.
- [4] Özhatay, N., Byfield, A., Atay, S. 2006. 122 Important Plant Areas of Türkiye. ÖBA Project, WWF, Istanbul, Türkiye.
- [5a] Davis, P.H., 1965-1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. I-X, Edinburgh Univ. Press.
- [5b] Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K., 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol.: X. Edinburgh Univ. Press.
- [5c] Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. (eds), 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (supplement). Vol.: XI, Edinburgh Univ. Press.
- [6] Özçelik, H., Öztürk, Ş. 1999. Contributions to the Flora of Aksu (Isparta). Bio-Science Research Bulletin, 15, 2: 125-140.
- [7] Özçelik, H., Korkmaz, M. 2002. Contributions to the Flora of Sütçüler-Isparta (Turkey). Bio-Science Research Bulletin, 21B(1): 1-19.
- [8] Özçelik, H. 2000. Studies on Protections of Endemic and rare Plants of Lakes Region. Bulletin of Pure and Applied Sciences, Vol.: 19B(2): 93-116.
- [9a] Özçelik, H., Serdaroglu, H. 2000. Isparta Florasına Ön Hazırlık. SDÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü Derg., 4(1): 135-154.
- [9b] Özçelik, H., Çinbilgel, İ., Muca, B., Tavuç, İ., Koca, A., Bebekli, Ö. 2016. Terrestrial and Inland Water Ecosystems, Flora Inventory Report of Isparta Province. TR. Ministry of Forestry and Water Affairs, General Directorate of Nature Conservation and National Parks, 6th Regional Directorate and EKO-İZ Ltd. Ltd. Sti, Ankara.
- [10] Özçelik, H., Özgökçe, F., Ünal, M., Korkmaz, M. 2012. The Diversity Centers and Ecological Characteristics of Rosa L. (Rosaceae) Taxa in Turkey. International Research Journal of Plant Science, 3 (10): 230-237.
- [11] Özçelik, H., Çinbilgel, İ., Muca, B., Tavuç, İ., Koca, A., Bebekli, Ö. 2016. Plant Inventory of Burdur Province (Economic, Rare and Endemic Plants of it); Part III, Burdur Municipality Culture Publications, Sistem Ofset and Matb., Ankara, ISBN: 978-605-66372-0-9.
- [12] Özçelik, H. 2018. Flora inventory of Köprülü Kanyon National Park (Antalya-Isparta). Turkish Journal of Forestry, 19(1): 40-50.
- [13] Serin, Y., Tan, M., Koç, A., Zengin, H., Karaca, A., Sentürk, T., Özbay, O., Özçelik, H.... 2008. Pasture Plants. TR Ministry of Agriculture and Rural Affairs, General Directorate of Agricultural Production and Development, Meadow, Pasture, Feed Swamps and Basin Development Department, Ankara.
- [14] Özen, M., Fakir, H. 2015. Flora of Isparta Kasnak Meşesi Nature Protection Area and Surrounding Area. J of SDU. Institute of Science and Technology, 19(3): 48-65.
- [15] Çetinkaya, M. 2005. Kovada Çayı Arboretumu Florası. Süleyman Demirel Üniv., Fen Bilimleri Enst. Müd., Biyoloji Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi), Isparta.
- [16] Şenal, B., 2011. Yaylabel (Sütçüler-Isparta) Yöresi'nin Florası. SDÜ. Fen Bilimleri Enst., Orman Mühendisliği Anabilim Dalı (Y. Lisans Tezi), Isparta.

[17] Pesmen, H., Güner, A. 1976. Flora of Dedegöl Mountain (Isparta). Project No. TBAG-164. Ankara.

[18] Bekat, L. 1987. Flora and Vegetation of Barla Mountain (Eğirdir). Project of TUBİTAK, TBAG-570, SDÜ. Fen Bilimleri Enst., Biyoloji Anabilim Dalı, Y. Tezi, Isparta.

[19] Fakir, H. 2006. Flora of Bozburun Mountain and Its Environs (Antalya-Isparta-Burdur / Türkiye. Turkish Journal of Botany, pp. 149-169.

[20a] Mutlu, B., Erik, S. 2003. Flora of Kızıldağ Mountain (Isparta) and Environs. Turkish Journal of Botany. 27: 463-493.

[20b] Erik, S., Mutlu, B., 1997. Flora of Kızıldağ (Isparta) National Park. TUBİTAK (Project No: TBAG-1320), Ankara.

[21] Özçelik, H., Karaca, S., Şan, H.M. 2001. Flora of Davras Mountain (Isparta). Eğirdir Symp. Booklet, Isparta, pp. 665-680.

[22] Fakir, H. 2007. Kovada Gölü Milli Parkı (Isparta) Göl Çevresi Florası. Göller Kongresi (Göller Yöresi, İç Anadolu Gölleri ve Sorunları) Bildiriler Kitabı. 9-10 Haziran 2007, Isparta.

[23] Fakir, H., Dutkuner, İ. 1999. Studies on Flora of Isparta Gölcük Natural Park. 1. International Symposium on Protection of Natural Environment & Ehlami Black Pine (*Pinus nigra* Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe var. *pyramidata*) Pissing, Kütahya, pp.: 77-87.

[24] Küçüköyük, M. 1988. Beyşehir Gölü Florası. TUBİTAK, Doğa Botanik Derg., 13(1): 55-79.

[25] Serin, M., Çetik, R. 1984. Flora of Yeşildağ-Kurucuova (Beyşehir). J. of SU. Science, 3: 7-45.

[26] Ocakverdi, H. 1984. Flora of Seydisehir Mining Region (Konya) and Its Environment. J. of SÜ. Science, 3: 91-129.

[27] Kargioğlu, M., Ertuğrul, K. 1995. Contributions to Yandağ (Isparta) Flora. Herb Systematic Botany Journal, 2: 19-46.

[28] Küçüköyük, M., Çetik, R. 1984. Akşehir Gölü ve Kıyılarının Flora ve Vejetasyonu. S.Ü. Fen-Edb. Fak. Fen Dergisi, 3: 47-81.

[29] Demirelma, H., Ertuğrul, K. 2009. Endemic Disease and Hazard Categories in the Region Between Derebucak (Konya), İbradı-Cevizli (Antalya). J. of SÜ. Science Faculty, 34: 137-148.

[30] Özhatay, N., Koyuncu, M., Atay, S., Byfield, A. 1997. The Wild Medicinal Plant Trade in Turkey. Doğal Hayatı Koruma Derneği (DHKD) and Fauna and Flora International (FFI).

[31] Ünüvar, M., Özçelik, H., 2016. Beans World Recognizes. Akçabelen Tarımsal Kalkınma Kooperatifi, Beyşehir (Konya), World Bank, SPG Program, Support Project, Ankara, Türkiye.

[32] Baytop, T. 1999. Treatment with Herbs in Türkiye. Nobel Publication Distribution, 480 pp., Istanbul.

[33] Özçelik, H. 2013. General Appearances of Turkish Roses. SDU. Journal of the Institute of Science and Technology, 17 (1): 29-42.





## Organik Katı Atıkların Aerobik Şartlarda Biyoteknolojik Yöntemlerle Kompostlaştırılması

Ülküye Dudu<sup>1,2</sup> GÜL Erdem NAZİLLİ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sağlık Hiz. MYO, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik, Türkiye

<sup>2</sup>Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik, Türkiye

<sup>3</sup>Biyoteknoloji Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik, Türkiye

\*Sorumlu Yazar:

E-posta: erdemnazilli7@gmail.com

Geliş Tarihi :24 Nisan 2018

Kabul Tarihi:13 Kasım 2018

### Özet

Son yıllarda dünya genelinde üretimin artmasıyla birlikte tüketim miktarı da artmıştır. Bu durum sonucunda atıkların bertarafı problemi ortaya çıkmıştır. Plastik, cam, metal ve karton gibi atıklar endüstriyel faaliyetler ile geri dönüştürülebilir. Organik atıklarında biyoteknolojik yöntemlerle kompostlaştırılarak geri kazanılması ülkemiz genelinde yaygınlaşmaya başlamıştır. Kompostlama işlemi mikroorganizmaların atıklardaki organik maddeleri ayrıştırması işlemine verilen isimdir. Kompost ise mikroorganizmalar tarafından mineralize edilmiş ürüne verilen isimdir. İyi bir kompostun biyolojik parçalanabilirliğinin fazla olması, organik madde miktarının yüksek olması ve zararlı maddelerden arındırılmış olması gerekmektedir. Bu çalışmada organik atıkların biyoteknolojik yöntemler kullanılarak kompostlaştırılması konusu üzerine literatür incelenmiştir. Literatürde belirtildiği üzere kompost ürünlerinin nitelendirilmesi konusunda kesin bir standartlaşma bulunmamaktadır. Buna karşın kompostlamaya etki eden faktörler; dane yapısı, karbon azot oranı, pH, sıcaklık, havalandırma ve su içeriği olarak belirlenmiştir. Kompost üretiminin çeşitli faydaları bulunmaktadır. Bu faydalar; zemin boşluk hacmini artırma ve havalandırmasını kolaylaştırma, zor işlenen toprakların kolay işlenmesini sağlama, zeminin su tutma kapasitesini artırma, besin maddelerinin daha iyi kullanılmasını sağlama, toprağa bol miktarda bakteri verme, zeminde besin maddelerinin artmasını sağlama, humus üretimine katkıda bulunma ve erozyonu engelleme şeklinde listelenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Katı atık, kompost, mikroorganizma

## Compositing of Organic Solid Wastes with Biotechnological Methods in Aerobic Conditions

### Abstract

In recent years, the amount of consumption has increased with the increasing of production worldwide. As a result, the problem of waste disposal has arisen. Wastes such as plastic, glass, metal and cardboard can be recycled by industrial activities. Composting organic wastes by biotechnological methods has started to be widespread throughout our country. Composting is the name given to the process by which microorganisms separate the organic matter in the wastes. Compost is the name given to the product mineralized by microorganisms. A good compost requires that the high biodegradability, high amount of organic matter and being free from harmful substances. The literature on the composting of organic wastes using biotechnological methods has been examined in this study. According to the literature there is no definite standard for the qualification of compost products. On the other hand, factors affecting compost production are determined as grain structure, carbon nitrogen content, pH, temperature, ventilation and water content. The benefits of composting are listed as increasing the volume of the floor space and facilitating ventilation, increasing the water holding capacity of the ground, making better use of the nutrients, giving plenty of bacteria to the soil, increasing the nutrients on the ground, contributing to humus production and preventing erosion.

**Keywords:** Solid waste, compost, microorganism

### GİRİŞ

Günümüzde insan nüfusunun artışı ile birlikte oluşan katı atık miktarında da artış olmuştur. Bu nedenle organik katı atıkların ıslahı ve bertarafı sorunlarının çözümüne yönelik yeni yöntemler araştırılmaya başlanmıştır. Son yıllarda organik katı atıkların kompostlaştırma yöntemiyle geri kazanımı yöntemi ön plana çıkmıştır [5]. Diğer taraftan kompostlaştırma eski zamanlardan günümüze kadar sürekli kullanılmıştır [6]. Organik maddelerin uygun şartlar altında biyolojik süreçlerden geçerek toprağa benzer bir ürün haline gelmesine 'Kompost' adı verilmektedir [9]. Yapılan çalışmalarda topraktaki organik madde eksikliğinin kompost ile giderilebileceği belirtilmiştir [10]. Toprağın yüksek organik maddeye sahip olması için kompostun hammaddesinde bulunan karbon ve azotun aynı oranda yüksek olması gerekmektedir [11]. Literatürde bitkisel ve hayvansal atıkların kompostlaştırılarak tarımda kullanılmasının sağlanması önerilmiştir [3].

Kompostlaştırma için sıralı yığın kompostlaştırma, pasif havalandırılmalı yığınlar, havalandırılmalı statik yığınlar, reaktörlerde kompostlaştırma vs. gibi farklı yöntemler uygulanmaktadır [7]. Tüm bu kompostlaştırma yöntemleri için ortak etki faktörleri bulunmaktadır. Sadece reaktörlerde kompostlaştırma yapılırken hammaddenin oksijen ile temasının devam ettiğinden emin olunması gerekmektedir. Açık alanda ve biyoreaktörlerde yapılan kompostlaştırma işlemlerinin en önemli farkı ise biyoreaktörlerde enzim kullanılmasıdır. Enzimatik kompostlaştırma olarak bilinen bu yöntemin en önemli avantajı ise zamandan tasarruf sağlamasıdır. Bu çalışmanın amacı aerobik koşullarda organik katı atıkların kompostlaştırılması, kompost oluşumunu etkileyen faktörler ve kompostlaştırma da kullanılan yöntemlerle ilgili literatürde bulunan makaleleri incelemektir.

### Kompostlaşmaya Etki Eden Faktörler

Tüm yöntemlerde kompostlaşmaya etki eden ortak faktörler; dane yapısı, C/N oranı, pH, sıcaklık, havalandırma ve su muhtevasıdır.

#### 1. Dane Yapısı

Dane yapısı küçük olan katı atıkları parçalamak mikroorganizma faaliyeti için daha fazla yüzey alan sağlamaktır. Bu durumda reaksiyonun süresini kısaltabilmektedir.

#### 2. Karbon/Azot (C/N) Oranı

Mikroorganizmalar enerjilerini karşılamak üzere karbon (C) ve çoğalmak için de azot'a (N) ihtiyaç duyarlar. Kompostlama için optimum değer 25 – 35 arasında değişir. Eğer bu oran 35'i geçerse biyolojik aktivite yavaşlar ve işlemin süresi uzar. 25'in altında ise amonyak açığa çıkar ve mikroorganizmalar zarar görür. Ayrıca açığa çıkan amonyak koku oluşumuna da yol açmaktadır.

#### 3. pH

Her mikroorganizmanın yaşadığı belirli bir pH bölgesi vardır. Kompostlaşma sürecinde kullanılan bakterilerin optimal pH ortamı 6 - 8 arasındadır. İşlem sürecinde ortam ısınmaya başlayınca bakterilerin salgıladığı organik asitlerle pH 4 – 5 'e düşmektedir. Termofilik faza geçiş ile ortamın pH değeri tekrar 8'e kadar yükselmektedir. pH ölçülürken % 10 distile su ile homojen karışıma dönüştürülerek ölçüm yapılmaktadır [8].

#### 4. Sıcaklık

Kompostlaşmada kullanılan mikroorganizmalar organik maddelerle beslenirler. Bu aktivite sırasında ısı oluşmaktadır. Ortamdaki ısının yükselmesi patojen mikroorganizmaların ölmesini de sağlamaktadır. Patojen giderimi için 2 veya 3 gün kompost sıcaklığının 60°C üstünde olması gerekmektedir [12].

#### 5. Havalandırma

Ayrışma işleminin koku sorunu oluşturmadan meydana gelmesi için, aerobik şartları sağlayacak yeteri kadar oksijen bulunmalıdır. Kompostlama, yığının karıştırılmasıyla daha hızlı seyreder çünkü bol miktarda havanın mikroorganizmalara ulaşmasıyla kompostlama işlemi daha hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir [2].

#### 6. Su Muhtevası

Nem komposttaki mikroorganizmaların büyümesi ve çoğalması için gereklidir. Nem içeriği alt aralık olarak yaklaşık % 40 – 45 kadardır. Üst aralık ise gözeneklerin, oksijenin mikroorganizmalara ulaşmasını sağlayacak şekilde açık tutulmasıyla belirlenir [12].

Kompostlama işlemi için en uygun koşullara ait değerler Çizelge 1'de verilmiştir [17].

**Çizelge 1.** Kompostlaştırma İçin Gereken Uygun Şartlar

Koşullar	Kabul Edilen Aralık	Önerilen Aralık
C/N Oranı	20 – 40	25 – 35
Su Muhtevası	% 40 – 65	% 45 – 60
Havalandırma	> % 5	> % 10
pH	5,5 – 9	6,5 – 8
Sıcaklık (°C)	43 – 66	54 – 60

Evsel katı atıklar, (civa) Hg, (kadmium) Cd, (bakır) Cu, (çinko) Zn, (kurşun) Pb, (krom) Cr gibi ağır metalleri bünyelerinde taşımaktadırlar. Katı atık madde gruplarının içerdiği ağır metallere ait kuru ağırlık oranları Çizelge 2'de verilmiştir [13]. Çizelge 2'ye göre en fazla çinko ve kurşun bulunurken en az civanın olduğu görülmektedir.

**Çizelge 2.** Katı Atık Madde Gruplarının İçerdiği Ağır Metal Oranları

Ağır Metaller	Simgeler	Kuru Ağırlık (mg/kg)
Kadmium	(Cd)	10
Kurşun	(Pb)	600
Krom	(Cr)	100
Bakır	(Cu)	550
Civa	(Hg)	0,4
Çinko	(Zn)	600

Kompostta ağır metal miktarı arttıkça sıcaklık düşer. Sıcaklık düşüşleri; mikroorganizmaların metabolik faaliyetlerinin yavaşladığını, hatta bazılarının öldüklerini göstermektedir. Bu durum organik ayrışmanın hızının yavaşlamasını ve hijyenik koşulların sağlanmasını önlemektedir [14].

## KOMPOSTLAŞTIRMA YÖNTEMLERİ

### 1. Aerobik Kompostlaştırma

Aerobik koşullarda mikroorganizmaların katı organik atıkları parçalaması ile kompost üretim şeklidir. Sızdırmaz zemin üzerinde karıştırma ile havalandırma yapılarak ve su ilavesi ile gerçekleştirilen işlemdir [15].

### 2. Anaerobik Kompostlaştırma

Anaerobik şartlarda gerçekleştirilen kompost oluşturma işlemidir. Kapalı reaktör içerisinde uygun pH , sıcaklık , nem ve oksijensiz ortam şartları oluşturularak yapılan yöntemdir [15].

## KOMPOSTLAŞTIRMA AŞAMALARI

Kompostlaştırma aşamaları sırasıyla; ayırma, parçalama (öğütme), karıştırma ve depolama şeklindedir [6].

### 1. Ayırma

Kompostlaştırılmayan katı atıkların proses başlangıcında ayrılması gerekmektedir. Bu ayırma aynı zamanda cam, plastik, karton ve metal gibi maddi değeri olan atıkların geri kazanımını sağlamaktadır [6].

### 2. Parçalama (Öğütme)

Ayırma işleminden sonra evsel veya hayvansal organik atıkların kompostlaştırılmasını kolaylaştırmak için parçalama işlemi gerçekleştirilir. Bu aşama sonunda homojen bir karışım elde edilmektedir [6].

### 3. Karıştırma

Mikroorganizmaların gerekli oksijene ulaşabilmesi için yapılan bu işlem, yığının içinde biriken amonyak gazının dışarıya salınmasını da sağlar [6].

### 4. Depolama

Kompostlaştırılması sağlanan organik atıkların trommel elekte elenmesi ve kapalı bir alanda depolanması işlemidir [6].

### 5. Kompost Ürünü İle Gübre Arasındaki Farklar

Kompost gübre değildir. Gübre toprağa bitkilerin gelişmesi için gerekli besin maddesini kazandıran maddelerden oluşmaktadır. Kompost ise toprağın yapısını düzenleyen sağlayan üründür. Kompost içerisinde belli oranlarda azot, fosfor ve potasyum ilavesi ile üstün kalitede

gübre eldesi mümkün olabilmektedir. Ayrıca oluşan bu gübre tüm yapay gübrelerden daha yararlıdır. Özellikle de yapay tat sorununu ortadan kaldırmaktadır [16].

#### 6. İdeal Kompostun Özellikleri

İdeal bir kompostun sahip olması gereken özellikler;

1. Kompostun hijyenik yönden kusursuz olması, insan ve tüm canlı sağlığını tehdit etmemesi,
2. Karbon/Azot oranının 35'den daha büyük olması halinde azot beslemesi yapılabilmesi,
3. Piyasaya sürülen kompostun su muhtevasının % 50' yi geçmemesi,
4. Piyasaya sürülen kompost içinde cam, cüruf, metal, plastik, deri gibi maddelerin toplam ağırlığının % 2'sini geçmemesi,

şeklinde listelenebilir. [17]

#### 7. Olgunlaşmış Kompost için Yapılan Analizler

Numune alma esaslarına uygun olarak alınan kompostlar 4 mm elekten geçirildikten sonra elekten geçen maddeler analize alınır. Tamamlanmış kompostun özelliklerinin belirlenmesi için aşağıdaki yapılan analizlerde ise; kimyasal ve bitki fizyolojisi yöntemleri, fiziksel ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. [17]. Kompost özelliklerinin belirlenmesi için yapılan fiziksel ve kimyasal analizler; pH değerinin saptanması, makro besin elementleri tayini, mikro besin elementleri veya iz elementlerin tayini şeklindedir [17].

##### 7.1. pH Değerinin Saptanması

İdeal bir kompost için pH genellikle 7.0 ve > 7.0 arasında bulunmaktadır [13].

##### 7.2. Makro Besin Elementleri Tayini

Kompostun uygunluğunun belirlenmesi için  $NO_3$ ,  $P_2O_5$ ,  $K_2O$ ,  $CaCO_3$ ,  $MgCO_3$  gibi makro moleküllerin tayini yapılmaktadır [13].

#### 7.3. Mikro Besin Elementleri veya İz Elementleri Tayini

Komposttaki mikro besin elementlerinin belirlenmesi için Mn, B, Cu, Zn, v.b. tayini yapılmaktadır. Sanayi atıklarının arıtılmasından elde edilen arıtma çamurundan kompostlamada kullanıldığında Cr, Pb, Hg, As gibi ağır metallerinde tayini gerekir [13].

#### 8. Organik Maddelerin Tayini

Kompost içinde tayini yapılan organik maddeler besin humusu ve devamlı (dayanıklı) humus olmak üzere ikiye ayrılır [1].

##### 8.1. Besin Humusu

Besin humusu mikroorganizma için besin maddesi ve enerji kaynağı oluşturmaktadır. Toprakta mikrobiyal ayrıştırmayı teşvik ederek azot ve fosfor rezervlerinin oluşmasına yardımcı olmaktadır [1].

##### 8.2. Devamlı Humus veya Dayanıklı Humus

Devamlı (dayanıklı) humus biyolojik ayrışmaya karşı çok dayanıklıdır. Devamlı (dayanıklı) humusun faydaları ise; toprağın su tutma özelliğini artırmak, toprağın tamponlama kapasitesini artırmak, toprağı bağlamak ve erozyon olayını azaltmaktır [1].

#### 9. Kompost Karakteristikleri

Olgunlaşmamış ve olgunlaşmış komposta ait özellikler Çizelge 3'de verilmiştir [20]. Çizelge 3'de görüldüğü üzere olgunlaşmamış ve olgunlaşmış kompostların elementsel içeriklerinin yanı sıra mikrobiyal özellikleri de farklılık göstermektedir.

Çizelge 3. Olgunlaşmamış ve olgunlaşmış kompostların özellikleri

Olgunlaşmamış Kompostlar	Olgun Kompostlar
Azot amonyum olarak bulunur.	Azot nitrat olarak bulunur.
Kükürt kısmen sülfat olarak bulunur.	Kükürt sülfat olarak bulunur.
Oksijen gereksinimi fazladır.	Oksijen gereksinimi azdır.
Çürüme tehlikesi vardır.	Çürüme tehlikesi yoktur.
İz elementleri tespit edilmemiştir.	İz besin elementi vardır.
Az miktarda vitamin ve antibiyotikler vardır.	Fazla miktarda vitamin ve antibiyotik vardır.
Organik madde ayrıştıran bakteriler ve mantarlar fazladır.	Toprakta konaklayan bakteri ve mantar fazladır.
Genellikle besin humusu vardır.	Genellikle devamlı humus vardır.
Su tutma özelliği azdır.	Su tutma özelliği fazladır.

Biyolojik ayrışma düzeyine ve son duruma bağlı olarak kompost 4 sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar ham, taze, olgun ve özel kompost olarak adlandırılmaktadır [19].

#### 9.1. Ham Kompost

Mekanik işlemde geçen fakat dezenfeksiyon veya çürümeye uğramayan atığa ham kompost adı verilmektedir [19].

#### 9.2. Taze Kompost

Ayrışma ve dezenfeksiyonun ilk aşaması sonucu elde edilen kompost taze kompost olarak adlandırılmaktadır [19].

#### 9.3. Olgun Kompost

Kompostlanmış ve dezenfeksiyona uğramış ürün ise olgun kompost olarak tanımlanmaktadır [19].

#### 9.4. Özel Kompost

Eleme, balistik ayırma veya hava ile sınıflandırma, minerallerin eklenmesi gibi işlem görmüş komposta ise özel kompost olarak kabul edilmektedir [19].

#### 10. Kompostlama Katkı Maddeleri

Kompostlaştırmada kullanılan katkı maddeleri ise azot gübresi, mikroorganizma preparatı, su, kireç ve alg preparatıdır. Azot Gübresi (Üre); C/N oranındaki uyumsuzluğu gidermek, mikroorganizma preparatı; prosesin hemen başlaması, su; mikroorganizmaların kompostlaştırması, kireç; pH'ı nötral seviyeye çekmek için kullanılırken, alg preparatı; mikroorganizmalara besin maddesi oluşturmak için kullanılmaktadır.

## SONUÇ

Katı organik atıkların kompost olarak değerlendirilmesi son yıllarda gündeme gelmiştir. Bu derleme çalışmasında kompostlaştırma yöntemleri, kompost oluşum aşamaları, ideal bir kompostun sahip olması gerek özellikler hakkında bilgi verilmiştir. Organik atıkların kompost olarak değerlendirilmesi son derece faydalı bir işlemdir. Kompostun faydaları ise; zemin boşluk hacmini artırma, zemin havalandırmasını kolaylaştırma, zor işlenen toprakların kolay işlenmesini sağlama, zeminin su tutma kapasitesini artırma, besin maddelerinin daha iyi kullanılmasını sağlama, toprağa bol miktarda bakteri verme, zeminde besin maddelerinin artışı sağlama, humus üretimine katkıda bulunma ve erozyonu engellemedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Bagyaraj, D. J., 1991. Ecology of vesicular – arbuscular mycorrhizae. In. Handbook of Applied Mycology, Soil and Plants, vol. 1,(Eds.) by D. K. Arora., B. R.,K. G. Mukerji., and G. R. Knudsen. Marcel Dekker. USA.P.123-126.
- [2] Canpolat, M. Y. 1990. “İğdir Yöresi Topraklarında Kaymak Sertliği (Kırılma Değeri) İle İlgili Araştırmalar.” *Doktora Tezi, Atatürk Üniv. Ziraat Fak., Erzurum*.
- [3] Chen, Y., Inbar Y, Hadar Y, 1988. Composted agricultural wastes as potting media for ornamental plants. *Soil Science* 145: 298-303.
- [4] Gajdos, R., 1997. “Product-oriented composting: from open to closed bioconversion systems.” statement in Swedish and English abstract inserted.Sveriges lantbruksuniversitet.
- [5] Kaçar, B., Gübre Bilgisi A. Ü. 1994. Ziraat Fak. Yayınları No: 198, Ders Kitabı S. 397 Ankara.
- [6] Öztürk, M., and B. Bildik. 2005. “Hayvan çiftliklerinde kompost üretimi. 6-8” *Çevre ve Orman Bakanlığı*” Ankara .
- [7] “Standard Test Methods for Screening of pH in Waste (Test Method B-pH Screening by Electrometric Measurement)” 2003. ASTM International D 4980–89.
- [8] Tosun, C., et al. 2011. “Composting of animal manure.” *Sigma* 3 117-125.
- [9] Tüzel, Y., 1996. Ekolojik Tarım. Ekolojik Tarım Organizasyonu Derneği (ETO), İzmir.
- [10] Tüzel, Y., Boztok, K., Eltez, RZ., 1992. Atık kompostun kullanım alanları. Türkiye IV. Yemelik Mantar Kongresi Cilt 2, s. 1-10. Yalova.
- [11] U.S.E.P.A., 1995. A Guide to the Biosolids Risk Assessment for the EPA Part 503 Rule, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Wastewater Management, EPA832-B-93-005.
- [12] Erdin, E., 1981. Atık Suların Sulamada Kullanılması Su Kimyası ve Teknolojisindeki Son Gelişmeler Semineri 8-12 Haziran İzmir.
- [13] Arslan H.H., Aksu D.S., Özdemir S., Yavuz O., Or M.E., Barutçu Ü.B., 2011. Evaluation of the Relationship of Blood Heavy Metal Trace Element Levels and Antioxidative Metabolism in Cattle Which Are Living Near The Trunk Roads Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 17(A) 77-82.
- [14] EKAÇ (Evsel ve Kentsel Arıtma Çamurlarının Toprakta Kullanılmasına Dair Yönetmelik) 03.08.2010 Tarih ve 27661 Sayılı Resmi Gazete.
- [15] Himanen M., Hänninen K., 2011. “Composting

of bio-waste aerobic and anaerobic sludges – Effect of feedstock on the process and quality of compost” *Bioresource Technology* ,102 ,3, 2842-2852.

[16] Eskicioğlu, A., 2013. “Bitkisel Atıklardan Kompost Gübre Üretim Sisteminin Tasarımı” Tekirdağ.

[17] NRAES. 1992. On-Farm Composting Handbook. Robert Rynk (ed.), Northeast Regional.

[18] Kocasoy, G., 1994 ve 1996. “Atıksu Arıtma Çamuru ve Katı Atık ve Kompost Örneklerinin Analiz Yöntemleri” Birinci Baskı ISBN: 975-518-046-X ve İkinci Baskı ISBN : 975-518-083-4, Boğaziçi Üniversitesi Matbaası, İstanbul.

[19] Brinton W.F., 2000. “Compost Quality Standards & Guidelines” Final Report Woods End Research Laboratory.

[20] TOPAL, M . 2014. Kompost Standartları Üzerine Bir Derleme. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2 (2), 85-108.





## Deney Hayvanlarında Anksiyete Çalışmaları

Aynur KOÇ<sup>1\*</sup> Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hitit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Çorum

<sup>2</sup>Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Konya

\*Sorum Yazar

E-posta: aynrkoc@gmail.com

Geliş Tarihi : 05 Kasım 2018

Kabul Tarihi: 11 Aralık 2018

### Özet

Anksiyete ve korku, canlıların tehlike durumlarında gösterdiği savunma davranışından kaynaklanan duygusal durumlardır. Anksiyete ve strese bağlı bozukluklar günlük yaşam aktivitelerini ciddi şekilde etkilemektedir. İnsan ve hayvanların duygularını ifade ediş şekillerinde benzerliklerin gözlemlenmesi, psikiyatrik bozuklukların memeli hayvanlarda (başlıca kemirgenlerde) çalışılabilme olasılığının doğmasına neden olmuştur. Psikopatoloji için hayvan modelleri, hastalık semptomlarının homologlarını meydana getiren genetik, çevresel veya farmakolojik nedenlerin analizinde paha biçilmez araçlardır. Stres etkilerinin etik ve diğer benzer sebeplerle insanlarda çalışılmadığı durumlarda hayvan modelleri yardımcıdır. Anksiyete modelleri, anksiyolitik yeni ajanların keşfedilmesi ve anksiyete bozukluklarının altında yatan mekanizmaların araştırılması için oldukça faydalıdır. Çalışmayı kurgularken, çalışmanın amacına hangi modelin ve testlerin uygun olduğunu belirlemek, uygun hayvanların seçimi, modelin geçerliliği ve güvenilirliği hakkında bilgi sahibi olmak önemlidir. Bu çalışmada yaygın kullanılan deneysel anksiyete modelleri ve anksiyetenin değerlendirilmesinde kullanılan davranışsal testlerin incelenmesi amaçlanmıştır. Anksiyete modellerini konu edinen bilimsel çalışmalarda kullanılan hayvanlar çoğunlukla fareler ve sıçanlar olduğundan, burada da model ve davranış testleri bu hayvanlar üzerinden açıklanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Anksiyete modelleri, deney hayvanları, davranış testleri

## Anxiety Studies In Experimental Animals

### Abstract

Anxiety and fear are emotional states that arise from the defensive behavior of the organism in dangerous situations. Anxiety and stress related disorders are psychiatric conditions that seriously affect daily activities. Observation of the similarities in the expression of emotions between human and animals has led to the possibility that psychiatric disorders can be studied in mammals (mainly rodents). Animal models for psychopathology are valuable tools in the analysis of genetic, environmental or pharmacological causes that constitute homologues of disease symptoms. Animal models are useful when stress effects cannot be studied in humans for ethics and other similar reasons. Anxiety models are very beneficial for the discovery of new agents and the mechanisms underlying anxiety disorders. When planning the study, it is important to determine which model and tests are suitable for the purpose of the study, to choose the appropriate animals, to know about the validity and reliability of the model. In this review, it is aimed to investigate the experimental anxiety models and behavioral tests used in the evaluation of anxiety. Since mice and rats mostly used in anxiety studies, model and behavioral tests are also described here with this animals.

**Keywords:** Anxiety models, experimental animal, behavioral tests

## GİRİŞ

Anksiyete ve korku, canlıların hayatta kalması veya fiziksel sağlamlığı için tehlike durumlarında gösterdikleri savunma davranışından kaynaklanan duygusal durumlardır [1]. Anksiyete yanıtı gerçek tehlikelere cevap vermede ve uyum sağlamada önemli bir mekanizmadır. Belirli bir olay ya da nesneye dayalı olmayan korku patolojik anksiyete olarak tanımlanır [2]. En yaygın anksiyete bozukluğu alttıpleri yaygın anksiyete bozukluğu, panik bozukluklar, belirli fobiler, sosyal fobi, obsesif-kompulsif bozukluklar ve travma sonrası stres bozukluğudur [3].

Anksiyete ve strese bağlı bozukluklar günlük yaşam aktivitelerini ciddi şekilde etkileyen ve halk sağlığına yüksek maliyetler yansıtan önemli psikiyatrik durumlardır. İnsan ve hayvanların duygularını ifade ediş şekillerindeki benzerliklerin gözlemlenmesi, psikiyatrik bozuklukların memeli hayvanlarda (başlıca kemirgenlerde) çalışılabilmesini aklı getirmiştir [4].

Psikopatoloji hayvan modelleri, belirli bozuklukları olan hastalardaki semptomların homologlarını meydana getiren genetik, çevresel veya farmakolojik sebeplerin

analiz edilmesi için paha biçilmez araçlardır [5]. Tehlikenin kaynağı hayvanlar için avcılar, yükseklik, aydınlatma, ağrı verici uyarı, yeni obje ve yerler, türdeşler ile karşılaşma veya yarışma gibi çevresel uyarı ve durumlar olabilir. Bu zorluklarla mücadele etmek için hayvanlar genellikle 4 temel savunma stratejisi kullanırlar: kaçma, hareketsiz kalma (immobilizasyon), savunma atakları ve teslimiyet [1]. Stres etkilerinin etik ve diğer benzer sebeplerle insanlarda çalışılmadığı durumlarda hayvan modelleri yardımcıdır [6].

Deney hayvanlarının barınma şekillerinde aydınlık derecesi, izolasyon gibi değişiklikler, hareketinde, besin ve su verilmesinde yapılan kısıtlamalar gibi stres oluşturan uygulamalar hayvanların emosyonel olarak uyarılmalarına neden olur. Stres oluşturan etmenler hayvanda ilk olarak anksiyete yanıtının oluşmasına neden olur [7].

Anksiyete modelleri, anksiyolitik yeni ajanların keşfedilmesi ve anksiyete bozuklukları altında yatan mekanizmaların araştırılması için oldukça faydalıdır. Çalışmayı kurgularken, çalışmanın amacına hangi modelin ve testlerin uygun olduğunu belirlemek, uygun hayvanların seçimi, modelin geçerliliği ve güvenilirliği

hakkında bilgi sahibi olmak önemlidir. Bu araştırmada yaygın kullanılan deneysel anksiyete modelleri ve anksiyetenin değerlendirilmesinde kullanılan davranışsal testlerin incelenmesi amaçlanmıştır. Anksiyete modellerini konu edinen bilimsel çalışmalarda kullanılan hayvanlar çoğunlukla fareler ve sıçanlar olduğundan, burada da model ve davranış testleri bu hayvanlar üzerinden açıklanmıştır.

#### Hayvan Davranışları Ve Anksiyete İlişkisi

Anksiyete modeli oluştururken hayvanların temel davranışlarının bilinmesi önemlidir. Hayvanların doğal ortamlarındaki ve laboratuvar koşullarındaki davranış özellikleri, yaşama koşulları çalışmanın tasarlanması aşamasında göz önünde bulundurulmalıdır.

Kemirgenlerde anksiyete benzeri davranışlar incelenirken genellikle yaklaşma-kaçınma davranışı, dikkat durumu veya savunma davranışları değerlendirilir. Yaklaşma-kaçınma paradigması, çevresel bir uyarının tehdit olarak algılandığı durumlarda kullanılır ve potansiyel tehlike olarak görülen yeni bir nesne ile geçirilen süre, bu nesneye yaklaşmanın gecikme süresi anksiyetenin olası bir göstergesi olarak kullanılır. Kemirgenler doğal olarak avlanma riskinin daha az olduğu karanlık ve kapalı ortamları tercih ederler [8]. Kaçınma dürtüsü hayvanın yeni, açık, parlak ışıklı ya da yükseltilmiş ortamlardan doğal olarak korkması gibi koşulsuz oluşmuş durumlardan dolayı veya elektrik şoku ile cezalandırma gibi koşullandırılmış nedenlerden dolayı olabilir [4]. Kaçınma yanıtı hayvanlarda anksiyetenin göstergesi olarak kullanılır. Bu varsayım, hayvanın tehlikeli olduğunu düşündüğü uyarı keşfetme dürtüsü ile kaçınma isteği arasındaki çatışmaya dayalıdır [9].

Farklı barınma koşulları, farklı sosyal ortamın sağlanması ile erkek ve dişi farelerde hafif sosyal veya psikolojik stres etmenlerin modelleri olabilirler. Dişi farelerin kısa bir süre için diğerlerinden izole edilmesi hafif bir stres etkeni olabilir ve farelerde depresyon benzeri etkilere neden olabilmektedir. Erkek fareler ise daha çok diğer erkeklerle aynı yerde barınmaktan etkilenir. Dişi sıçanlar kafeslerinde yalnız bırakıldıklarında daha fazla kortikosteron seviyelerine sahipken, erkek sıçanlar diğerleri ile aynı kafeste bulduklarında daha yüksek kortikosteron seviyeleri sergilemektedirler [10].

Sıçanlar teslimiyetçi postür ya da atak pozisyonu gibi davranışlarla hiyerarşi sistemlerini açıkça ortaya koyarlar. Ancak farelerde tipik hiyerarşi davranışları yoktur. Bu durum sosyal yenilgi ya da değişken barınma koşullarına dayalı hayvan stres modellerinde ilave önem kazanmaktadır. Ayrıca fare ve sıçanlar stresle baş etme konusunda farklılıklar göstermektedirler. Bazı çalışmalar, anksiyete benzeri veya depresyon benzeri davranışları oluşturmak için farelere sıçanlara göre daha şiddetli stres etmenleri uygulanması gerektiğini göstermektedir. Tür farklılıkları davranışı ve fizyolojisi şekillendirmede çok önemli bir rol oynayabilir ve bu nedenle de dikkate alınmalıdır [11].

Hayvanlarda anksiyete değerlendirmesinde süslenme, şahlanma, tigmotaksis ve risk ölçüm davranışları, mekan-zamansal parametrelerle birbirini tamamlayan ya da bunların yerine kullanılan davranışlardır [9].

Şahlanma (rearing) kemirgenlerin keşif davranışıdır. Şahlanma davranışında azalmanın, yüksek anksiyete veya korku duygusu sonucu olduğu düşünülmektedir. Süslenme (grooming) davranışı obsesif kompulsif bozukluğu değerlendirmede faydalı olabilir. Süslenme aktivitesinin düşük olması ya da süslenme paterninin bozulması yüksek anksiyete seviyesinden kaynaklanabilir [12].

Uzamış postür risk ölçüm davranışı olarak değerlendirilir. Potansiyel tehlike ile ilgili bilgi toplama isteği ile birlikte güvenli alanından ayrılma isteksizliği ile ilişkilidir ve yaklaşma-kaçınma çatışmasını yansıtır [9].

#### Anksiyete Modelleri Ve Testleri

Çoğu kez hayvan modeli ve hayvan modelinin geçerliliğini test eden davranış (semptom) arasındaki ayrım net değildir [13, 14]. Model, belli bir derecede tahmini geçerliliği sağlayan, insandaki patoloji durumlarını yineleyen bir organizma veya bir organizmadaki belirli bir durum olarak tanımlanır. Test, genetik, farmakolojik veya çevresel manipulasyonların etkilerini değerlendirmek için tasarlanan hedef davranışsal veya fizyolojik ölçümleri sağlar [15].

Hayvanlarda gözlemlenebilen ve ölçülebilen değişkenler, kontrollü laboratuvar koşulları altında doğal ortamlarındakine benzer şekilde potansiyel olarak anksiyojenik durumlara maruz kaldıklarında ortaya çıkan davranışsal ve fizyolojik cevaplardır. Bu deneysel verileri kaydetmek için kullanılan kurulum ve protokoller genellikle "testler" olarak adlandırılır ve anksiyete ile ilgili parametreleri ölçmeye aracılık ederler. Model daha ayrıntılı bir teorik altyapıya sahiptir ve birkaç test içerebilir [16].

Anksiyete modelleri oluştururken, hayvanın psikik durumuna etki edecek dokunma, barınma koşulları, soy farklılıkları, sıcaklık gibi modelde kullanılması amaçlanan stres faktörünün dışındaki diğer stres etmenleri kontrol altında tutulmalıdır. Ayrıca, sonuçları daha net olarak yorumlayabilmek için öğrenme, genel lokomotor aktivite gibi anksiyete semptomlarına ilişkin farklı parametrelerin aynı deney dizaynında incelenmesi faydalı olacaktır.

Anksiyete ölçümleri tek bir test ile de yapılabilir ancak açık alan (OF= open field) testi, yükseltilmiş artı testi (EPM= elevated plus maze) ve aydınlık-karanlık kutu (LDB= light-dark box) testi gibi bir dizi testi kullanmak daha iyi olabilir. Bu testler kullanılarak davranışsal fenotiplerin değerlendirilmesi farklı koşullar altında gerçekleştirilmiş olur. Çeşitli testlerin verileri birleştirilerek hayvanların davranış profilleri ile ilgili daha bütün bir tanımlama yapılabilir [16].

Maternal separasyon, anksiyetenin genel yönlerini ortaya koyan bir uygulama olarak düşünülebileceği gibi, spesifik bozuklukların modellenmesi olarak da kullanımdadır. Travma sonrası stres bozukluğu, tanısız sınıflandırmadaki mevcut durumu ne olursa olsun, anksiyete özellikleri taşıyan ve anksiyete testlerinde kullanılan uyarılar tarafından üretilen bir klinik durumdur. Kısıtlama, su altında tutma ve elektrik şoku gibi fiziksel stres etmenleri uygulanır. Bazı geleneksel testlerde, kısıtlama veya immobilizasyon stres prosedürleri anksiyete benzeri davranışlara yol açabilir. Travma sonrası stres bozukluğu, hayvana predatöre dayalı psikolojik stres uygulayarak da modellenilebilir [17].

Kemirgenlerde koku duyusunun önemli olmasından yola çıkılarak olfaktor bulbusun çıkartılması (olfaktor bulbektomi), psikopatoloji modelleri oluşturmada kullanılmaktadır. Olfaktör bulbektominin neden olduğu davranışsal değişiklikler, yeni ortamlarda hiperaktivite, ajitasyon, anksiyete benzeri, iritabilite, dürtüsel ve agresif davranışlar gibi yanıtlardır [18].

Kemirgenlerde anksiyete benzeri davranışları değerlendirmede kullanılan test ve/ veya modeller koşulsuz testler (etiyojik temelli) ve koşullu modeller olarak ayrılabilir. En yaygın koşulsuz testler OF test, EPM ve LDB testidir. Bu metotlar yaklaşma-kaçınma davranışını ölçme temeline

dayanır. Ancak, bu testlerin uygulamaları laboratuvarlar arasında oldukça değişkenlik göstermektedir. Bu yüzden sonuçların yorumlanması ve karşılaştırması her zaman kolay ve doğru şekilde olmaz [19].

#### **Koşulsuz Anksiyete Testleri**

Koşulsuz uyarı modelleri etiyolojik temelli paradigmatlardır ve hayvanların kendiliğinden gelişen ve açık bir şekilde ağrı ve rahatsızlık içermeyen stres uyarımına karşı hayvanın doğal reaksiyonlarını içerir [20].

En yaygın kullanılan koşulsuz anksiyete testleri yeni bir ortamı keşfetme ile tehlikeli alanlardaki potansiyel tehlikeden kaçınma dürtüleri arasında yaşanan çatışma duygusu temeline dayanır. Anksiyete davranışı keşif dürtüsünün bastırılması şeklinde kendini gösterir [21].

#### **Açık Alan Testi (Open Field Test= OF test)**

OF testinde hayvan, kaçamayacağı şekilde etrafı duvarlar ile çevrili yeni bir ortama yerleştirilir ve davranışları değerlendirilir [22]. Kemirgenler, büyük, parlak ışıkla aydınlatılmış, açık ve bilmedikleri yeni bir çevreden kaçınma davranışları sergilerler [23].

Test aparatının farklı şekillerde olması (yuvarlak, kare vs.), aydınlatma koşullarındaki çeşitlilikler ve aparata tünel, platform gibi nesnelerin yerleştirilmesi gibi değişiklikler ile OF testinde farklı versiyonlar oluşturulmuştur. Hayvan test aparatının ortasına veya duvara yakın bir yere koyularak 2-20 dk. arasında bir süre boyunca yatay olarak yer değiştirmesi, şahlanma, süslenme (uzun süreli tüylerini temizleme davranışı) gibi davranışsal parametreleri kaydedilir. Çoğunlukla 5 dakikalık test süresi tercih edilir [24]. Sıçanlar, özellikle testin ilk evrelerinde tipik olarak aparatı kenar bölgelerinden başlayarak keşfetmeyi tercih ederler. Kemirgenlerin sergiledikleri bu davranış tigmotaksis olarak tanımlanmaktadır [25]. OF testi sıklıkla hem anksiyete hem de lokomotor aktivitenin değerlendirilmesinde kullanılır. Hayvanın test aparatının merkez bölgesine ilk giriş zamanı ve bu merkezi bölgede geçirdiği süre kullanılan anksiyete parametrelerindedir [8]. Genellikle, merkezde geçirilen sürenin azalması anksiyetenin göstergesi olarak kabul edilir ve bu varsayım farmakolojik ve genetik çalışmalarla desteklenmiştir [12].

OF test aparatına yerleştirilen hayvan kendi ortamından farklı bir ortamda bulunduğu için huzursuz olacak ve etrafı keşfetme isteği ile lokomotor aktivitesi artacaktır [26]. Hayvanı açık alan gibi hiç tanımadığı alıştığı ortamından başka bir ortama koyma orta dereceli stres oluşturma metodlarından biridir [27]. OF testinde agorafobi, hayvanın sosyal grubundan ayrılması, su ve yiyecek kısıtlaması gibi faktörler anksiyeteyi tetikleyebilir [28].

Testte defekasyon sayısı da değerlendirilebilir. Defekasyonun duyu bakımından veya duygusal reaktivitede iyi bir indikatör olduğu düşünülmektedir [29].

OF kemirgenleri emosyonel olarak test etmek için en klasik metotlardandır. Ancak farklı laboratuvarlarda testte kullanılan aparatın boyutu, malzemesi, rengi, şekli gibi özelliklerinin farklı oluşu, testin eleştiriler almasına neden olmaktadır. Kullanılan alanın yeni bir alan oluşu ve caydırıcılığı lokomotor ve keşif aktivitelerinin düzenlenmesi ve tetiklenmesinde temel faktörlerdir [19].

OF testinin tekrarlı şekilde yapılması hayvanın alışmasına neden olabilir. Testin ilk yapıldığı zaman hayvan korkuya bağlı olarak daha çok uzamış postür, aparatın köşe ve kenarlarında hareketler sergilerken, testin tekrar edilmesi durumlarında daha fazla keşif davranışları gösterir [30].

OF testi model oluşturmadan önce ve model oluşturulduktan sonra uygulanabilir. Böylece stres, ilaç vb. uygulamaların öncesi ve sonrasında, OF testi parametreleri karşılaştırılabilmektedir [31,32, 33].

Katettiği mesafe, hız, immobil olarak geçirdiği süre, merkezde geçirdiği süre, duvara yaslanma, şahlanma gibi davranışsal parametreler manuel olarak ölçülebileceği gibi özel yazılım programları ile hesaplanabilir [34].

#### **Yükseltilmiş Artı Testi (Elevated Plus Maze= EPM)**

EPM aparatı birbirine dik aynı ölçülerde (50x10 cm) iki açık kol ve iki kapalı koldan oluşmaktadır. Kapalı kolların yan duvarları 40 cm yükseklikte ve iki açık ve kapalı kolun birleştiği yerdeki küçük kare 10 x 10 cm ölçüsündedir. Aparat yerden 50 cm yükseltilmiştir. Testte, hayvan aparata yüzü açık kola bakacak şekilde kolların birleştiği merkezi platforma koyulur ve 5 dk. süreyle hayvanların açık ve kapalı kollara giriş sayıları ve burada geçirdiği süreler kaydedilir [20]. Kemirgenler kendileri için yabancı olan bir ortamda tedbirli davranarak kapalı kolları tercih ederler. Ancak sadece anksiyete seviyesi azalmış olanlar açık kolları aktifitesini artırır. Bu bağlamda aparatın merkez kısmı hayvanın hangi kolu tercih edeceğine karar verme bölgesidir [35].

Anksiyolitik bileşikler açık kollara giriş ve/veya açık kolları geçirilen zaman yüzdesini artırır. Bu etkiler toplam kollara giriş sayısında bir değişiklik olmaksızın gözlemlenir [36].

EPM' de hayvanların bazal hareketleri, barınma koşulları, aydınlatma seviyesi, sirkadiyen ritim değişiklikleri, önceden uygulanan handling veya stres, teste aşinalık gibi bazı faktörlerden etkilenir. Örneğin, sıçanları bireysel olarak kafeste tutmak anksiyeteyi artırırken, farelerin kafeste bireysel tutulması anksiyeteyi azaltır. Bu durum türler arasındaki sosyal organizasyon farklılığından kaynaklanmaktadır. EPM' ye tekrar maruziyet hayvanın açık kolları araştırma davranışında kayda değer bir azalmaya yol açar ve benzodiazepinlerin anksiyolitik etkilerini tamamen yok edebilir. İlaveten araştırmacının aynı odada bulunması da sonuçları etkileyebilir [4].

EPM' de ortaya çıkan davranış profilleri yenilik korkusu, keşif ve yaklaşma-kaçınma mücadelesi durumlarından kaynaklanıyor gibi görünmektedir; bu yüzden EPM çoğunlukla bir koşulsuz spontan davranışsal mücadele modeli olarak da bilinir [20].

#### **Yükseltilmiş 0 Testi (Elevated Zero Maze= EZM)**

Yükseltilmiş 0 testi (EZM), karşılıklı iki açık ve iki kapalı kadrana sahip dairesel yapıdır ve EPM' nin modifiye bir şeklidir [9]. EPM' de hayvanın alanın orta bölgesinde bulunma durumunda oluşan yorumlama güçlüğünü ortadan kaldırır. EZM, yerden yüksek, aydınlık açık ve karanlık kapalı alanların birbirini takip ettiği dairesel bir düzenektir. Hayvanın 5 dk. süresince açık alana giriş yüzdesi ve açık alanda geçirdiği zaman yüzdesi hesaplanır. Bu modelde diazepam açık alanda geçirdiği zaman yüzdesini ve kafa sokma sıklığını artırır ve kapalı alandan açık alana doğru gergin postür hareketlerin sıklığını azaltır [4].

#### **Yükseltilmiş T Testi (Elevated T Maze= ETM)**

ETM aparatı aynı ölçülerde iki açık kol (50 cm×12 cm) ve bunlara dik, kenarlarında duvar olan bir kapalı koldan (50 cm×12 cm) oluşan yerden 50 cm yükseltilmiş bir aparatır. Bu test ile hayvanın pasif sakınma (inhibitör sakınma) ile aktif sakınma birlikte ölçülebilir. Pasif sakınmada hayvan kapalı kolun en sonuna koyulur ve 30 saniyelik dilimlerden oluşan

3 deneme boyunca bu koldan hayvanın uzaklaşma süresi kaydedilir. Hayvan kapalı koldan ayrılmaz ise denemeler en fazla 300 Sn. sürdürülür. 3. denemeden sonra sıçan açık kollardan birinin sonuna koyulur ve buradan kapalı kola kaçma zamanı kaydedilir. Anksiyolitik bazı ajanların doza bağlı olarak pasif sakinmeyi bozduğu ancak aktif sakinme davranışında değişiklik oluşturmadığı gözlenmiştir. Böylece ETM' de aynı denekte farmakolojik olarak iki farklı tip korku oluşturulmaktadır [37,38].

Koşullu korku, genel anksiyete bozuklukları ile, koşulsuz korku, panik bozukluklarla ilişkilidir. ETM koşullu ve koşulsuz korku durumlarını birbirinden ayırt etmeye yarayan bir modeldir [38]. Koşulsuz korku, hayvanın açık kola koyulduğu zaman yükseklikten ve açık ortamdan doğal korkusu neticesi oluşur ve bu koldan kapalı kola kaçış zamanı aktif sakinme olarak değerlendirilir. Hayvan kapalı kola koyulduğunda açık koldan pasif olarak sakinme öğrenilmiş korkunun göstergesidir. Açık kol hayvan için caydırıcı özelliklere sahiptir, hayvan istemediği durumdan kaçınmak için hareket etmemeyi öğrenmiştir [39].

#### **Aydınlık-Karanlık Kutu Testi (Light-Dark Box Test-LDB Test)**

LDB testi başlangıçta fareler kullanılarak geliştirilen birkaç paradigmadan biridir. Test kemirgenlerin parlak ışıklı ortamlardan doğal olarak hoşlanmama ve yeni bir ortamı keşfetme davranışları temeline dayanır. Testin önceden eğitim gibi zaman alıcı bir uygulamayı gerektirmeden çabuk ve kolay yapılması testin avantajlarından biridir [19].

Test aparatı, iki eşit büyüklükte aydınlık ve karanlık bölmelerden oluşan dikdörtgen kapalı bir kutudur. Aparatın üst kapak kısımları hayvanı yerleştirebilmek için çıkarılabilir yapıdadır. Testin başlangıcında hayvan aydınlık bölmeye koyulur ve etrafı keşfetmesine izin verilir [33]. Testte aydınlık/ karanlık bölmeye toplam geçiş sayısı, aydınlık/ karanlık bölmeye ilk giriş süresi, kat ettiği mesafe ve her bir bölmede geçirdiği süre parametreleri özel yazılım programları ile kaydedilebilir [40]. Test süresi genellikle 5 ya da 10 dakikadır. LDB testinde hayvanın aydınlık ve karanlık bölmeleri tercihi analiz edilerek anksiyete benzeri davranışlar üzerine ilaçların veya diğer hasarların etkileri incelenebilir [41]. Karanlık bölmenin tercih edilmesi ve aydınlık bölmede şahlanma gibi keşif davranışlarının az olması anksiyete benzeri davranışlar olarak kabul edilir. Anksiyolitik ilaçların kullanılması ile aydınlık bölmede geçirilen süre ve keşif davranışları artar [34].

#### **Delikli Tahta Testi (Hole-Board Test)**

Hayvanlar yabancı bir çevre veya nesne ile karşılaştığı zaman keşifçi bir davranış sergiler ve yeni çevrede gezinir, yeniliğe doğru yönelir, yeni nesneye dokunur veya koklar. Keşif, hayvana yiyecek kaynakları, barınma ve çiftleşme olanakları konusunda bilgi sağlar. Ancak, hayvan yeni çevreye girerek veya yeni bir uyarıya yönelerek türdeşlerinin saldırı ve avlanma riskini ve diğer tehlikelerin riskini artırabilir. Hayvanın yeniliği keşfetmesi veya uzak durması yaklaşma-kaçınma mücadelesinin bir sonucu olarak veya neofilik ve neofobik eğilimlerinin arasındaki bir denge olarak tanımlanır. Neofili yeni bir uyarıya merak duygusuyla yaklaşım; neofobi yeni bir uyarıdan korkuya bağlı kaçınma olarak düşünülebilir [42].

1970'lerde araştırmacılar zemininde hayvanların kafasını sokabileceği kafa-daldırma (head-dipping) da denilen deliklerin olduğu etrafı çevrili bir alandan oluşan delikli tahta (hole-board) aparatını kullanmaya başlamışlardır.

Kafa daldırma süresi ve sıklığı hayvanın genel lokomotor aktivitesinden bağımsız olarak neofilin ölçüsü olarak farz edilir. Düşük sayıda kafa daldırma hareketinin hayvanlarda yüksek anksiyete durumunu yansıttığı farz edilir [42].

#### **Emosyonel Hipofaji (Hiponeofaji)**

Kemirgenlerde hiponeofaji ilk kez 1934 Hall tarafından bildirilmiştir. Hall yeni bir çevreye maruz bırakılan hayvanlarda anksiyete benzeri durumların artışı ile beslenmenin baskılanmasını göstermiştir. 1988' de Bodnoff ve ark yenilikle baskılanmış beslenme (Novelty Suppressed Feeding- NSF) testini geliştirmişlerdir. Bu testte hayvanlar 24 saat aç bırakıldıktan sonra tam ortasında üzerine ışık odaklanmış platform üzerinde tek bir pellet yiyeceğin olduğu şeffaf bir kafese koyulurlar. Hayvanların merkezdeki bu platforma ulaşma süreleri ve platformdaki yiyeceği yemeye başlama süreleri kaydedilir [4]. Bu testte yediği yiyecek miktarı da değerlendirmeye alınır. Kemirgenlerin doğuştan sahip oldukları yeniliklere karşı korku duygusu, beslenme davranışının baskılanmasında etkindir [41]. Hiponeofaji, diğer geleneksel paradigmalara göre lokomotor aktiviteye bağlı olmaması yönüyle anksiyete değerlendirmelerinde avantaj sağlar [21].

#### **Sosyal Etkileşim Testi**

Sosyal etkileşim testi, hayvanların önceden eğitilmesini gerektirmez. Fareler ve sıçanlar gibi bir kemirgen çiftinin serbestçe etkileşebileceği bir alanda sosyal etkileşimde buldukları süre kaydedilir. Her bir kemirgenin etkileşim süresi karşısındaki diğer hayvanın (partnerinden) davranışından doğrudan etkilenir. Bu yüzden verilerin toplanmasında eşleştirilmiş iki hayvanın verileri bir birim olarak değerlendirilir. Eğer deneysel dizayn, bir sıçanın ilaç almasını diğerinin kontrol olarak kullanılmasını gerektiriyorsa, ilki tarafından başlatılan etkileşim zamanı bağlı ölçüm olarak kullanılır. Genel lokomotor aktivitenin değişmediği ve sosyal etkileşim süresinin arttığı durumlar anksiyetede azalma olarak yorumlanır [4].

Sosyal etkileşim testi, sosyal fobi, sosyal yenilgi/ bozulmalar ve emosyonel gelişmemişlik tedavilerinde anksiyolitik bileşiklerin değerlendirilmesinde oldukça faydalı bir hayvan modelidir. Testte eşleştirilmiş birbirine yabancı sıçan çifti her biri farklı zıt köşede olacak şekilde kafese yerleştirilir ve 10 dk. süreyle tüm motor aktiviteleri ve sosyal etkileşimleri gözlemlenir. Her bir sıçan çiftinin sosyal etkileşim süreleri, karşılıklı koklama ve süslenme, bitişik olarak uzanma, birbiri üzerine tırmanma ve partnerinin altına doğru sürünme, yaklaşma ve izleme süreleri olarak ölçülür [20]. Toplam etkileşim sayısı, aktif temasların toplam süresi, her bir temasın ortalama süresi ve toplam kat ettiği mesafe parametreleri kaydedilir [40].

Fareler için geliştirilmiş olan başka bir sosyal etkileşim testi, birbiri arasında küçük geçitlere sahip 3 eşit bölmeye (20 cm x 40 cm x 22 cm) ayrılmış pleksiglas bir aparatın oluşur. Kenardaki bölmelerden birine yabancı bir fare küçük bir kafes içinde koyulur. Kafes, burunla temasa izin verecek şekildedir ancak olası bir kavgayı önler. Test edilecek fare üç bölmeli aparatın orta kısmına koyulur ve 10 dk. boyunca sosyal etkileşim aparatını keşfetmesine izin verilir. Her bir bölmede geçirdiği süre, bölmelere giriş sayısı hesaplanır. Deneğin 10 dk. süresindeki yabancı fareyi sosyal olarak tercih etmesi hesaplanır. 10 dakikalık ilk testten sonra, bölmeli kutunun diğer kenar bölgesine de ikinci bir yabancı fare daha kafes içinde koyulur. Test yapılan fare, ilk test döneminde henüz keşfetmiş olduğu fare ile yeni yabancı fare



arasında seçim yapacaktır. Farenin her bir yabancı fare ile geçirdiği süreler hesaplanır [40].

#### **Predatöre Maruziyet Testi**

Doğal olarak predatörü (avcısı) olan bir hayvanla karşılaşmanın, sıçanlarda ve farelerde yüksek düzeyde korku ve stres yarattığı, ardından da uzun süren davranışsal ve endokrin yanıtlara neden olduğu gösterilmiştir. Predatör ve idrar kokusu gibi avcıya dair uyarılar bu nedenle hayvan modellerinde travma indüksiyonu için oldukça etkili araçlardır [11].

Predatöre maruziyet testi en çok kullanılan stres etmenlerinden biridir. Birtakım çalışmalarda predatörün kendisine ya da kokusuna kısa bir süre maruziyetin anksiyete ve depresyon benzeri davranışlara yol açtığı bulunmuştur [33]. Predatör stresi olarak kedi kokusu kullanılabilir, kedinin kendisi stres etmeni olarak kullanılacağına ise hayvanın fiziksel olarak zarar göreceği temas engellenecek şekilde düzenek oluşturulur [31]. Fareler için predatör stresi olarak sıçanlar kullanılabilir. Testin yapılacağı aparata hayvan birkaç kez predatör olmaksızın tek başına koyularak alışması sağlanır. Aparat içinde güvenli olacağı bölge vardır ve buradan tünel ile test aparatının diğer bölgelerine geçebilme imkanı bulunmaktadır. Test aşamasında 10 dk. süreyle demir parmaklıklar ile ayrılmış olan sıçan da aparatta diğer uca koyulur ve farenin sergilediği postürünü uzatma sayısı, predatörün bulunduğu yerdeki demir parmaklıklara temas sayısı, koklama, saklanma, donma gibi davranışları değerlendirilir. Hayvanın sergilediği savunma davranışları anksiyolitik ilaçlara duyarlı olduğundan bu test farmakolojik çalışmalar için uygundur [34].

#### **Merdiven Testi (Staircase Test)**

Testte beş eşit ölçüde basamaktan oluşan (2.5 cm x 10 cm x 7.5 cm) tahta merdiven kullanılır. Merdiven dikdörtgen şeffaf bir kutu içine yerleştirilir [43]. Merdiven testi özellikle farelerde anksiyete modeli oluşturmada kullanılır. Bu test için her hayvan yalnız bir kere kullanılabilir. Hayvan, kutu zeminine merdivenin gerisinde olacak şekilde bırakılır ve 3 dk. süresince çıktığı basamak sayısı ve şahlanma sayısı hesaplanır. Bu deneysel modelde kontrol grubunun çıktığı basamak sayısı ve şahlanma sayısı ortalaması 100% olarak kabul edilir ve işlem görmüş hayvanların değerleri kontrol grubunun yüzdesi olarak ifade edilir [20]. Bu testte basamak çıkma keşifçi davranışın bir ölçüsü olarak kabul edilir ve şahlanma davranışının sayısı anksiyete benzeri davranışlar olarak değerlendirmeye alınır [3, 44].

#### **Koşullu Anksiyete Testleri**

Koşullu anksiyete paradigmaları, hayvanın nötral ya da hoşnut olmayacağı bir uyarana karşı yanıtlarını değerlendirmektedir. Açlık/ susuzluk durumları ile ayak şoku gibi ceza alma arasındaki çatışma anksiyolitikler ile giderilir [21].

#### **Geller-Seifter Testi**

Koşullu davranışlar, pozitif ya da negatif pekiştirme olarak bilinen, hayvanın çevresel bir değişikliğe karşı verdiği doğal yanıtlardır. Pozitif pekiştirme (ödül), verilen uyarının daha sonra bu uyarı ile ilişkili yanıtın oluşmasında artışına neden olması durumunda ortaya çıkar. Negatif pekiştirme ise elektrik şoku gibi cezalandırma paradigmalarında görüldüğü gibi eğitilmiş hayvanın hoşuna gitmeyen uyarıdan kaçınma cevabı sergilediği zamanlarda görülür [4].

Geller-Seifter testi eğitim aşamasında çatışmanın olduğu

ve olmadığı dönemler şeklinde iki aşama vardır. Çatışma aşamasında (ceza ile birlikte ödül) 3 dk. boyunca hayvan pedala bastığında sesli veya görsel uyarı ile birlikte elektrik şoku ve yiyecek birlikte verilir. Çatışmanın olmadığı aşamada (cezasız ödüllendirme) ise 15 dk. süresince pedala basma ile elektrik şoku verilmeden yiyecek verilir. Hayvanlar bir süre aç bırakıldıktan sonra yapılan test, 4 çatışma olmayan ve bir çatışma olan evrelerden oluşur. Hayvanın pedala basarak hem elektrik şoku hem besin aldığı cezalı yanıtların sayısı değerlendirilir [45].

Kontrol koşullarında hayvanların cezasız döneme oranla pedala basmasında düşüş görülürken, anksiyolitik ilaçların kullanıldığı durumlarda cezalandırılmış yanıtların oluşmasında artış olur. Morfin gibi opioid agonistlerin uygulanması ile bu etki görülmediğinden, bu yanıtların oluşması antinosisepsiyon etkiden kaynaklı değildir [4].

#### **Vogel Testi**

Vogel testinde hayvanlarda anksiyetenin modellenmesi, susamış olan hayvanların su içmelerine elektrik şoku eşlik ettiğinden, hayvanların şişeye yaklaşma davranışları ile elektrik şokundan korkuları arasında bir çatışma oluşturularak gerçekleştirilir [3].

Bu testte hayvanlar 24 saat susuz bırakılır ve deney kafesinde su şişesini bulabilmeleri için basitçe eğitilirler. Ertesi gün aynı kafese tekrar koyulurlar. Hayvanın su içmek üzere şişenin ağzı ile her 21. temasında zemindeki düzenek ile hayvana 0.5 mA kadar hafif bir elektrik şoku verilir [4]. Anksiyolitik ilaç verilmiş olan hayvanların cezalandırma ile birlikte su içme sayıları artar [46].

Anksiyolitiklerin etkilerini incelemek için geliştirilmiş Vogel testinde motivasyon faktörü olarak susuzluk kullanılmaktadır. Vogel testinde eğitim süresi Geller-Seifter testine göre daha kısadır. Vogel testi uygulamasında çok çeşitli varyasyonlar vardır [17].

#### **Anksiyojenik Ajan Kullanılan Modeller**

Pentilentetrazolün (PTZ) subkonvülsif dozu sıçanlarda anksiyojenik bir uyarı olarak kullanılır. Yöntem, sıçanların PTZ enjeksiyonu yapıldığında yiyecek alabilmek için iki pedal arasından uygun bir pedala basması üzerine eğitilmesini gerektirir. İkinci bir pedala verilen yanıtlar da kaydedilir. Saline enjeksiyonuna karşı PTZ enjeksiyonu ile hatasız uygun pedala basabilen sıçanlar eğitilmiş olarak düşünülür. Anksiyolitik ilaçlar ile muamele PTZ' nin bu ayırıcı özelliğini ortadan kaldırır [20]. Besin kısıtlamasının ardından 2 gün eğitim süresince hayvanlara herhangi bir pedala bastığında yiyecek verilir. Test için hayvanlar saline ve PTZ enjeksiyonu yapıldığında iki enjeksiyonda farklı pedal seçilmek kaydıyla iki pedaldan birine basması için eğitilir. Anksiyolitik bir ilaç verildiğinde PTZ enjekte edilen hayvan saline enjekte edilen hayvanın bastığı pedala (sol pedala) basarsa, bu ilacın PTZ etkisini yok ederek anksiyolitik etki gösterdiği söylenebilir. Kısaca bu test PTZ ayırıcı etkisi ile saline etkisizliğinin birbirini karşılaması esasına dayanır [7].

Fare ve sıçanların stres hormonu olan kortikosteronun ekzojen olarak uygulanmasının anksiyete benzeri davranışları oluşturduğu bildirilmiştir. Sıçanlarda amigdala içine doğrudan kortikosteron uygulaması EPM' de anksiyete benzeri davranışların gelişmesine neden olmuştur [47].

## KAYNAKLAR

- [1] Graeff FG, Zangrossi H. 2002. Animal Models of Anxiety Disorders. In: Biological Psychiatry (ed. D'haenen HAH, den Boer JA, Willner P. John), pp. 879-893. Wiley&Sons, Ltd. London, UK.
- [2] Garg VD, Dhar VJ, Sharma A, Dutt R.2011. Experimental model for antianxiety activity: a review. Pharmacology Online. 1:394-404.
- [3] Cryan CF, Sweeney FF. 2011. The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic action in drug discovery. Br J Pharmacol. 164:1129-1161.
- [4] Campos AC, Fogaça MV, Aguiar DC, Guimaraes FS. 2013. Animal models of anxiety disorders and stres. Rev Bras Psiquiatr. 35(2):101-111.
- [5] Bourin M, Petit-Demouliere B, Dhonnchadha BN, Hascöet M. 2007. Animal models of anxiety in mice. Fundam Clin Pharmacol. 21:567-574.
- [6] Kalueff AV, Tuohimaa P. 2004. Experimental modeling of anxiety and depression. Acta Neurobiol Exp. 64:439-448.
- [7] Uzbay IT. 2004. Psikofarmakolojinin Temelleri ve Deneysel Araştırma Teknikleri. 1. Baskı, pp 103-112. Çizgi Tıp Yayınevi. Ankara.
- [8] Lezak KR, Missig G, Carlezon WA. 2017. Behavioral methods to study anxiety in rodents. Dialogues Clin Neurosci. 19(2):181-191.
- [9] Ennaceur A. 2014. Tests of unconditioned anxiety-Pitfalls and disappointments. Physiol Behav. 135:55-71.
- [10] Palanza P. 2001. Animal models of anxiety and depression: how are females different. Neurosci Biobehav Rev. 25:219-233.
- [11] Schöner J, Heinz A, Endres M, Gertz K, Kronenberg G. 2017. Post-traumatic stress disorder and beyond: an overview of rodent stress models. J. Cell. Mol. Med. 21(10):2248-2256.
- [12] Sahin Z, Solak H, Koc A, Ozen Koca R, Ozkurkculer A, Cakan P, Solak Gormus ZI, Kutlu S, Kelestimur H. 2018. Long-term metabolic cage housing increases anxiety/depression-related behaviours in adult male rats. Arch Physiol Biochem. 20:1-6.
- [13] Dedic N, Walser SM, Deussing JM. 2011. Mouse Models of Depression. In Psychiatric Disorders/ Book 2, InTech in press. 185-222.
- [14] Overstreet DH. 2012. Modeling depression in animal models. Methods Mol Biol. 829:125-144.
- [15] Yan H, Cao X, Das M, Zhu X, Gao T. 2010. Behavioral animal models of depression. Neurosci Bull. 26(4):327-337.
- [16] Steimer T. 2011. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. Dialogues Clin Neurosci. 13(4):495-506.
- [17] Harro J. 2018. Animals, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents. Behav Brain Res. 352:81-93.
- [18] Hirose N, Saitoh A, Kamei J. 2016. Involvement of glutamatergic N-methyl-D-aspartate receptors in the expression of increased head-dipping behaviors in the hole-board tests of olfactory bulbectomized mice. Behav Brain Res. 312:313-320.
- [19] Kuleskaya N, Voikar V. 2014. Assessment of Mouse anxiety-like behavior in the light-dark box and open-field arena: Role of equipment and procedure. Physiol Behav. 133:30-38.
- [20] Kumar V, Bhat ZA, Kumar D. 2013. Animal models of anxiety: A comprehensive review. J Pharmacol Toxicol Meth. 68:175-183.
- [21] Freudenberg F, O'Leary A, Aguiar DC, Slattery DA. 2018. Challenges with modelling anxiety disorders: a possible hindrance for drug discovery. Expert Opin Drug Discov. 13(4):279-281.
- [22] Walsh RN, Cummins RA. 1976. The open-field test: A critical review. Psychol Bull. 83:482-504.
- [23] Seibenhener ML, Wooten MC. 2015. Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. J Vis Exp. e52434:1-6.
- [24] Prut L, Belzung C. 2003. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. Eur J Pharmacol. 463:3-33.
- [25] Lampera MR, Cardenas FP, Setem J, Morato S. 2008. Thigmotactic responses in an open-field. Braz J Med Biol Res. 41:135-140.
- [26] Küçük A, Gölgeci A, Arslan M. 2005. Depresyon oluşturulan sıçanlarda yaşın açık alan parametrelerine etkisi. Erciyes Tıp Dergisi. 27 (3):110-114.
- [27] Küçük A, Gölgeci A. 2002. Emosyonel hipofaji öncesi ve sonrasında farelerde davranış parametreleri. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 11(1):31-35.
- [28] Dolu N, Özesmi Ç. 2004. Anksiyetenin değerlendirilmesinde güncel olarak kullanılan bazı deneysel hayvan modelleri. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni. 14:216-225.
- [29] Pisula W. 1994. Sequential analysis of rat behavior in the open field. Int J Comp Psychol. 7(4):194-201.
- [30] Eweka A, Om'Iniabohs F. 2007. The effects of monosodium glutamate on the open field locomotor activities in adult wistar rats. The Internet Journal of Nutrition and Wellness. 6(2):1-6.
- [31] Burgado J, Harrell CS, Eacret D, Reddy R, Barnum CJ, Tansey MG, Miller AH, Wang H, Neigh GN. 2014. Two weeks of predatory stress induces anxiety-like behavior with co-morbid depressive-like behavior in adult male mice. Behav Brain Res. 275:120-125.
- [32] Huang X, Mao Y, Li C, Wang H, Ji J. 2014. Venlafaxine inhibits apoptosis of hippocampal neurons by up-regulating brain-derived neurotrophic factor in a rat depression model. Int J Clin Exp Pathol. 7(8):4577-4586.
- [33] Chen L, Shen B, Liu D, Li S. 2014. The effects of early-life predator stress on anxiety- and depression-like behaviors of adult rats. Neural Plast. 1-10.
- [34] Hart PC, Bergner CL, Smolinsky AN, Dufour BD, Egan RJ, Laporte JL, Kalueff AV. 2010. Experimental models of anxiety for drug discovery and brain research. Methods Mol Biol. 602:299-321.
- [35] Casarrubea M, Faulisi F, Caternicchia F, Santangelo, Di Giovanni G, Benigno A, Magnusson MS, Crescimanno G. 2016. Temporal patterns of rat behaviour in the central platform of the elevated plus maze. **Comparative analysis between male subjects of strains with different basal levels of emotionality.** J Neurosci Methods. 268:155-162.
- [36] Andreatini R, Bacellar LFS. 1999. The relationship between anxiety and depression in animal models: a study using the forced swimming test and elevated plus-maze. Braz J Med Biol Res. 32(9):1121-1126.
- [37] Graeff FG, Viena MB, Mora PO. 1997. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. Neurosci Biobehav Rev. 21(6):791-799.
- [38] Graeff FG, Netto CF, Zangrossi H. 1998. The

elevated T-maze as an experimental model of anxiety. *Neurosci Biobehav Rev.* 23:237-246.

[39] Zangrossi H, Graeff FG. 1997. Behavioral validation of the elevated T-maze, a new animal model of anxiety. *Brain Res Bull.* 44(1):1-5.

[40] Okuda K, Takao K, Watanabe A, Miyakawa T, Mizuguchi M, Tanaka T. 2018. Comprehensive behavioral analysis of the Cdk15 knockout mice revealed significant enhancement in anxiety- and fear-related behaviors and impairment in both acquisition and long-term retention of spatial reference memory. *PlosOne.* 1-34.

[41] Belovicova K, Bogi E, Csatlosova K, Dubovicky. 2017. Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats. *Interdiscip Toxicol.* 10(1):40-43.

[42] Brown GR, Nemes C. 2008. The exploratory behaviour of rats in the holeboard apparatus: is head-dipping a valid measure of neophilia. *Behav Processes.* 78:442-448.

[43] Magaji MG, Iniaghe LO, Abolarin M, Abdullahi OI, Magaji RA. 2017. Neurobehavioural evaluation of resveratrol in murine models of anxiety and schizophrenia. *Metab Brain Dis.* 32:437-442.

[44] Ago Y, Takahashi K, Nakamura S, Hashimoto H, Baba A, Matsuda T. 2007. Anxiety-like and exploratory behaviors of isolation-reared mice in the staircase test. *J Pharmacol Sci.* 104:153-158.

[45] Bali A, Jaggi AS. 2015. Electric foot shock stress: a useful tool in neuropsychiatric studies. *Rev. Neurosci.* 1-23.

[46] Basso AM, Gallagher KB, Mikusa JP, Rueter LE. 2011. Vogel conflict test: sex differences and pharmacological validation of the model. *Behav Brain Res.* 218:174-183.

[47] Ardayfio P, Kim KS. 2006. Anxiogenic-like effect of chronic corticosterone in the light-dark emergence task in mice. *Behavioral Neuroscience.* 120(2):249-256.



[www.dergipark.gov.tr/derleme](http://www.dergipark.gov.tr/derleme)

NOBEL SCIENCE