
Journal Of Tekirdağ Agricultural Faculty

Sayı/Issue: 1 Ocak/January 2019

ISSN: 1302-7050

DOI:10.33462/jotaf

Journal Of Tekirdağ Agricultural Faculty, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi' nin ulusal, uluslararası ve hakemli dergisidir.

Yayımlanan makalelerin sorumluluğu yazarına/yazarlarına aittir.

Journal Of Tekirdağ Agricultural Faculty is the official peer-reviewed, international journal of Tekirdağ Namık Kemal University Agricultural Faculty. Authors bear responsibility for the content of their published articles.

Dergi Hakkında/About the Journal

Adı/ Name

Journal Of Tekirdağ Agricultural Faculty (Ocak 2019/January 2019)

ISSN: 1302-7050

İmtiyaz Sahibi/Owner

Prof. Dr. Ahmet İSTANBULLUOĞLU

Yayın Kurulu/Editorial Management

Prof. Dr. Mustafa MİRİK (Baş Editör/Editor-in-Chief)

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Dr. Öğr. Üyesi HARUN HURMA (Editör/Editor)

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Ar .Gör. Cansu AYVAZ (Editör/Editor)

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Editoryal Danışma Kurulu/Editorial Adviser Board

Prof. Dr. Mustafa MİRİK, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Prof. Dr. Fatih KONUKÇU, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Prof. Dr. Ali İhsan ACAR, Ankara Üniversitesi, Ankara

Prof. Dr. Bryan M. JENKIS, California University, Amerika

Prof. Dr. Peter KISS, Szent Istvan University, Macaristan

Prof. Dr. Ümit GEÇGEL, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Prof. Dr. Eugenia BEZIRTZOĞLU, University of Thrace, Yunanistan

Prof. Dr. Muhammet ARICI, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul

Prof. Dr. Adnan ORAK, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Prof. Dr. Sezen ARAT, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Prof. Dr. Şule ARI, İstanbul Üniversitesi, İstanbul

Prof. Dr. Kasim BAJROVIC, Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, Bosna Hersek

Prof. Dr. Zoran POPOVSKI, Cyril and Methodius University, Makedonya

Prof. Dr. Edo D'Agaro, University of Udine, İtalya

Prof. Dr. Tuğrul GİRAY, University of Puerto Rico, Amerika

Prof. Dr. M. Ömer AZABAĞAOĞLU, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Prof. Dr. Gamze SANER, Ege Üniversitesi, İzmir

Prof. Dr. Dimitar NIKOLOSKI, University of "St. Kliment Ohridski", Makedonya

Prof. Dr. Mariana IVANOVA, University of Agribusiness and Rural Development, Bulgaristan

Prof. Dr. Aydın ADILOĞLU, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Prof. Dr. M. Rüştü KARAMAN, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon

Doç. Dr. Zubair ASLAM; University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan

Doç. Dr. Christos KARELAKIS, Democritus University of Thrace, Orestiada, Greece

Doç. Dr. Süreyya ALTINTAŞ, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Doç. Dr. Fulya TAN, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Doç. Dr. Özgür SAĞLAM, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Dil Editörü/Language Editor

Doc.Dr. Petru GOLBAN, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

Akademik İçerik Danışmanlığı/Content Advisor

Online Bilgi

Telefon: +90 (216) 693-2272 **Web:** <http://onlinebilgi.com.tr/>

Elektronik posta: feyza.saritas@onlinebilgi.com.tr

Tasarım ve Uygulama/Graphic Design

Online Bilgi

Baskı Öncesi Hazırlık/Prepress

Online Bilgi

Yayın Türü/Type of Publication

Yerel Süreli Yayın/International Periodical

Yayın Dili/Type of Language

Türkçe ve İngilizce /Turkish and English

Yayın Periyodu/Publishing Period

Dört ayda bir Ocak, Mayıs ve Eylül aylarında yayımlanır/Triannual (January, May & September)

Tarandığı İndeksler/Indexed by

TR DİZİN (ULAKBİM - Ulusal Akademik Ağ ve Bilgi Merkezi) CABI, AGRIS/CARIS (FAO-AGRIIS veri tabanı), ProQuest, Scopus, ESCI

Yayın Tarihi/Publication Date

Ocak 2019/January 2019



İletişim/Correspondence

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi

Telefon: +90 282 250 20 00/22 62

Web: <http://jotaf.nku.edu.tr/Anasayfa/0/s/8236/10965>

Elektronik posta: ziraatdergi@nku.edu.tr

İçindekiler / Contents

Edirne İli Uzunköprü İlçesinde Yetiştirilen Ayçiçeği (<i>Helianthus annuus L.</i>) Bitkisinin Bazı Makro Besin Elementi İçeriklerinin Belirlenmesi Sevinç ADILOĞLU, Ali DERİN	1-10
An Optimization Study for The Production of Origanum Onites Tincture by Response Surface Methodology: Effect of Liquid/Solid Ratio, Ethanol Concentration and Storage Period Mahmut KAPLAN, Mustafa Mücahit YILMAZ, Rabia USLU, Serap KÖPRÜ, Hürmet GÖZELLE, Gamze MUHDEREM	11-22
Trans Yağ Asidi İçermez Beyanı Bulunan Bazı Endüstriyel Gıdaların Yağ Asidi Profilleri Bekir Alper DEMİR, Murat TAŞAN	23-33
Farklı Bitki Uçucu Yağların <i>Erwinia amylovora</i>'ya Karşı Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi Benian Pınar AKTEPE, Kerem MERTOĞLU, Yasemin EVRENOSOĞLU, Yeşim AYSAN	34-41
Determination of Silage Yield and Quality Characteristics of Some Maize (<i>Zea mays L.</i>) Varieties Fatih ÖNER, Adem GÜNEŞ	42-50
Bazı Korunga (<i>Onobrychis viciifolia</i>) Çeşit ve Popülasyonlarının Mikrosatellit Belirteçleri Kullanılarak Genetik Karakterizasyonu Selman ÖZKAN, Behiye Banu BİLGİN	51-60
Effect of Drought Stress and Seed Pretreatment with CCC on Yield and Yield Components of Maize Varieties Amir SOLTANBEİGİ	61-70
Tarımsal Üretimde Kadınların Karar Alma Süreçlerine Katılımı ve Kooperatiflerden Beklentileri Emine YILMAZ, Gülen ÖZDEMİR, Yasemin ORAMAN, Gökhan UNAKITAN, Sema KONYALI	71-81
Agronomic Performance of Seeds of Some Bread Wheat (<i>Triticum aestivum L.</i>) Cultivars Exposed to Drought Stress Alpay BALKAN	82-91
Ganos Dağları Doğal Florasında Bulunan Kültür Asmalarının (<i>Vitis vinifera L.</i>) Moleküler ve Ampelografik Karakterizasyonu Elman BAHAR, İlknur KORKUTAL, Nihan ŞAHİN, Fatma Seren SAĞIR, Demir KÖK, Onur ERGÖNÜL, Tamer UYSAL, Zeliha Orhan ÖZALP	92-102
Improvement of Grain Yield and Yield Associated Traits in Bread Wheat (<i>Triticum aestivum L.</i>) Genotypes Through Mutation Breeding Using Gamma Irradiation Alpay BALKAN, Oğuz BİLGİN, İsmet BAŞER, Damla BALABAN GÖÇMEN, Alp Kayahan DEMİRKAN, Birol DEVİREN	103-111

Edirne İli Uzunköprü İlçesinde Yetiştirilen Ayçiçeği (*Helianthus annuus L.*) Bitkisinin Bazı Makro Besin Elementi İçeriklerinin Belirlenmesi*

Determination of Some Macro Element Contents of Sunflower (*Helianthus annuus L.*) Plant Grown in Uzunköprü District

Sevinç ADILOĞLU¹, Ali DERİN²

Öz

Bu çalışma Edirne ili Uzunköprü ilçesinde yetiştirilen ayçiçeği (*Helianthus annuus L.*) bitkisinin bazı makro besin elementi içeriklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bunun için Uzunköprü ilçesinin 25 farklı ayçiçeği bitkisi tarlasından yaprak örneği alınarak analiz edilmiştir. Yaprak örneklerine ait analiz sonuçları referans değerler ile karşılaştırılarak incelenen ayçiçeği tarlalarının bazı makro besin elementi durumları ve beslenme sorunları tespit edilmeye çalışılmıştır. Elde edilen bulgulara göre, ayçiçeği tarlalarından alınan örneklerin N, P, K, Ca ve Mg içerikleri sırasıyla %2,63– %3,83; %0,15 – %0,54; %1,31– %5,67; %2,18 – %5,41 ve %0,18– %0,80 arasında bulunmuştur. Bu sonuçlar sınır değerleri ile karşılaştırıldığında; N %100 yeterli; fosfor %52 yeterli, %48 eksik; K %80 yeterli, %20 eksik, %4 fazla; Ca %64 yeterli %36 yüksek ve ise Mg %64 yeterli %36 eksik olarak belirlenmiştir.


Anahtar Kelimeler: Makro besin elementi, ayçiçeği, yaprak analizi, Uzunköprü

Abstract

This study was done to determine the some macro element contents of sunflower (*Helianthus annuus L.*) plant of Uzunköprü district in Edirne province. For this purpose, leaf samples, which were collected from 25 different agricultural areas of Uzunköprü district and were analyzed. At the end of this research, the leaf samples results were compared with the critical reference values. According to the leaf samples analyzed results, min and max values of N, P, K, Ca and Mg macro nutrient elements; 2,63%- 3,83%; 0,15%- 0,54%; 1,31%- 5,67%; 2,18%- 5,41% and 0,18%- 0,80% were obtained, respectively. When these results were compared critical values, N 100% sufficient; P 52% sufficient, 48% deficient; K 80% sufficient, 20% deficient; Ca 64% sufficient, 36% excess and Mg 64% sufficient, 36% deficient were obtained.

Keywords: Macro nutrient element, sunflower, leaf analysis, Uzunköprü

¹**Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Sevinç Adiloğlu, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü. Süleymanpaşa, Tekirdağ. E-mail: sadiloglu@nku.edu.tr,  OrcID: 0000-0002-0062-0491

²Ali Derin, E-mail: ali-derin@windowslive.com,  OrcID: 0000-0002-0516-0711

Atf/Citation: Adiloğlu, S., Derin, A. Edirne ili Uzunköprü ilçesinde yetiştirilen ayçiçeği (*Helianthus annuus L.*) bitkisinin bazı makro besin elementi içeriklerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 1-10.

*Bu araştırma Yüksek Lisans Tezinden hazırlanmıştır. Bu çalışma, NKÜBAP tarafından NKUBAP.03.YL.16.045 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Extended Summary

In recent years, due to the fact that agricultural areas continuously reducing because of many factors such as out of purpose uses, therefore it is necessary that the production in the existing agricultural areas be sustainable in order to get the maximum product from the unit area. The amount of product obtained from the soil depends on many factors such as the use of certified seed, not to use seeds of unknown origin, climate, time, and the cultivation technique. It is important to reveal the nutritional status of the Sunflower (*Helianthus annuus L.*) which takes an important place in cultivation in the Thrace Region of Turkey. Moreover, it is crucial to carry out the fertilization program for this plant in an appropriate way. For this purpose, the results of the leaf analysis of the plant are considered as a guide to reveal the nutritional deficiencies. Some macro nutrient element contents were determined in leaf samples taken from sunflower plants (Jones ve ark. 1991) grown in 25 different fields in Uzunköprü district of Edirne province. Then, the results of the analysis were compared with the critical values for each element and the nutritional status of plants was determined accordingly. Sunflower plant leaf samples were taken from Hamitli, Kurtbey, Kadıköy, Çakmak, Çöpköy, Ömerbey, Yeniköy, Kavacık, Karapınar and Türkobası villages of Uzunköprü district. Total N, P, K and Ca elemental contents were determined (Kacar and İnal, 2010). Nitrogen contents of plant samples were determined to be between 2.63% and 3.83% in this research. Nitrogen contents of sunflower leaf samples taken from 25 points were compared with the limit values specified by Jones et al. (1991) and all were found to be sufficient. Phosphorus contents of plant samples were determined to be between 0.15% and 0.54%. When the results were compared with those of Jones et al. (1991), 42% of them were found to be deficient and 52% of them were found to be sufficient. Potassium contents of plant samples were determined to be between 1.31% and 5.67%. The potassium contents of 20% of the plants were deficient while 76% were sufficient and 4% were in excess levels when compared with the results of Jones et al. (1991). Calcium contents of plant samples were determined to be between 2.18% and 5.41%. The calcium contents of 64% of the plants were sufficient and 36% of them were in excess levels when compared with the results of Jones et al. (1991). Magnesium contents of plant samples were determined to be between 0.18% and 0.80%. In the sunflower samples, the desired magnesium limit values suggested by Jones et al. (1991) varies between 0.25% and 1.00%. The magnesium contents of 64% of the plants were sufficient and 36% of them were insufficient when compared with the results of Jones et al. (1991). It was found that the nitrogen contents of the sunflower plants in the subject area subject were at a sufficient level in all samples and these values were among the reference values. When all of the phosphorus-based leaf analyzes was evaluated according to the critical level, 52% of the plants had sufficient phosphorus contents, while 48% of them did not have enough phosphorus content. This result suggests that phosphorus fertilizer application was not balanced, so a healthy fertilization program should be done according to the results of the leaf analyses. While 76% of the potassium analysis results were found to be sufficient, 20% of the samples were deficient and 4% had excess potassium. These results show that appropriate fertilizer having nitrogen, phosphorus, and potassium should be applied to the soil of the research areas by taking the soil analysis results of the sunflower plant into account. While calcium levels were sufficient in 64% of sunflower plant samples, it was found to in excess levels in 36% of the plants. Magnesium deficiency was found 36% of the plant samples while 64% of them were sufficient in terms of magnesium. Fields should be subject to magnesium containing fertilizer application according to the results of the research. This research is very important for sunflower.

Son yıllarda tarım alanlarının amaç dışı kullanım gibi birçok faktör sebebiyle sürekli olarak daraltılması nedeniyle birim alandan maksimum ürün alınması için, mevcut tarım alanlarındaki üretimin sürdürülebilir olması gereklidir. Toprakta kaldırılan ürün miktarı; toprak, bitki, sertifikalı tohum kullanılması kökeni bilinmeyen tohumların kullanılmaması, iklim, zaman yetiştirme tekniği gibi birçok faktöre bağlıdır. Toprak faktörü içerisinde ise, besin elementi durumunun tespiti ve buna göre yapılması gerekli olan gübreleme programı önemli bir yer tutmaktadır (Sağlam, 2012; Bellitürk 2011).

Toprağın verimliliğinde en önemli husus, topraktaki bitki besin elementlerinin bitkilere yarıyışlı ve elverişli miktarının en hassas ve doğru bir şekilde belirlenmesidir. Verimli toprak irdelendiğinde bitki besin elementleri bitkilerde yeterli miktarlarda ve dengeli oranlarda bitki kök bölgesinde bulunması gerekir. Ayrıca bitki gelişimi açısından toprakta toksik ağır metallerin veya hastalık gibi olumsuz koşulların oluşmaması gerekmektedir (Karaman ve ark., 2012).

Tarım alanlarının amaç dışı kullanımını, kirlilik gibi birçok nedenlerle azalması insanoğlunun beslenme ihtiyacının karşılanmasını gittikçe güçleştirmiştir. Bu ihtiyacı gidermek için birim alandan en yüksek verimi almanın önemi daha da artmaktadır. Yüksek verim almak içinde bilinçli ve etkin tarım sistemlerinin kullanılması gerekmektedir. Doğru ve etkin gübreleme ve sulama programları bitkisel üretiminde önceliğini artmıştır (Adiloğlu ve Eraslan, 2012).

Ülkemizde ayçiçeği (*Helianthus annuus L.*) yetiştiriciliğinde ilk sırayı alan Trakya Bölgesi için önemli bir kültür bitkisi olan ayçiçeği bitkisinin beslenme durumunun net olarak ortaya konulması ve gübreleme programının doğru bir biçimde yapılması büyük önem taşımaktadır. Bunun için de bitkinin yaprak analizi sonuçları beslenme noksanlıklarının ortaya konulmasında bir rehber olarak kabul edilmektedir.

Türkiye’de ayçiçeği ekilen alan son yıllarda yaklaşık olarak 5 milyon dekar ile 6 milyon dekar arasında değişmektedir. 2013-2016 yılları arasında ayçiçeği üretimi ise 1.380.000 ton ile 1.500.000 ton arasında değişmektedir. Verim açısından irdelendiğinde son dört yılda ortalama verimin 265-244 kg/da arasında değiştiği görülmektedir. Edirne ili olarak ayçiçeği tarımı değerlendirildiğinde son dört yıldaki veriler ülke geneli değerlerinin altında olmakla birlikte Uzunköprü ilçesinde Edirne ili değerlerinin üzerinde olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda Uzunköprü ilçesi ayçiçeği tarımı açısından Edirne ilinin diğer ilçeleriyle karşılaştırıldığında ilk sırayı almaktadır (TÜİK, 2017).

Ayçiçeği bitkisi, tohumunun içeriğinde önemli miktarlarda protein, karbonhidrat ve yağ bulundurması nedeniyle insan beslenmesinde olduğu kadar, hayvansal üretimde hayvan yemi olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca ayçiçeği bitkisi son zamanlarda bir süs bitkisi olarak park ve bahçelerde de kullanılmaktadır. Ayçiçeği bitkisi sağlıklı beslenme bakımından değerlendirildiğinde de önemli bir kültür bitkisidir. Ayçiçeği bitkisinin özellikle potasyum ve E vitamini içeriği yüksektir. Ayçiçeği çekirdeği aynı zamanda önemli bir linoleik asit kaynağıdır (Büyükliz, 2016).

Güneri ve ark. (2016) tarafından yapılan bir araştırmada artan miktarlarda fosfor ve potasyumlu gübre uygulamalarının kamkat (*Fortunella margarita L.*) bitkisinin fidan gelişimi, meyve özellikleri, verim ve beslenme düzeylerine etkisi incelenmiştir. Saksı denemesi yapılarak bitkilere üç farklı doz fosfor (10, 40 ve 80 mg/kg) $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ formunda ve üç farklı doz potasyum (150, 300 ve 450 mg/kg) K_2SO_4 şeklinde birbiri ile kombine edilerek modifiye edilmiş Hoagland çözeltisine ilave edilerek topraktan uygulanmıştır. Denemenin sonunda fosforlu ve potasyumlu gübrelerin 2. dozları (40 mg/kg fosfor ve 300 mg/kg potasyum); bitkinin kök uzunluğu, meyve ağırlığı, meyve sayısı ve verimini en yüksek düzeylere çıkarmıştır. Fosfor uygulamaları bitki yapraklarının N, P, Fe ve Mn kapsamları artmış; potasyum uygulamaları ise bitki yapraklarının sadece K miktarlarında artışa neden olmuştur. Eryılmaz Açıkgöz ve ark. 2017 tarafından roka bitkisi ile ilgili yapılan araştırmada da benzer veriler ortaya konulmuştur.

Ayçiçeği potasyum ihtiyacı açısından mısır bitkisi ile karşılaştırıldığında; ayçiçeğinin potasyumu daha fazla kaldırdığı anlaşılmaktadır. Yapılan birçok çalışma bitkilerde protein sentezinde potasyumun önemli olduğunu göstermiştir. Potasyum ayçiçeğinde yağ sentezini kolaylaştırmakta ve yağ oranını önemli ölçüde etkilemektedir. Farklı pH’ lar da ekstrakte edilebilir potasyumun değişimi yağ oranını etkilemektedir (Adiloğlu ve ark., 2010).

Doğu Karadeniz Bölgesi fındık bahçelerinin beslenme durumlarını toprak ve bitki analizleri ile incelendiği bir araştırmada, 30 farklı fındık bahçesinden toprak ve yaprak örnekleri alınmıştır. Alınan bu örnekler analiz edilmiş ve araştırma bölgesindeki bazı makro bitki besin elementlerinin eksikliklerinin önemli boyutlarda olduğu görülmüştür. Söz konusu bu bitki besin elementi eksiklikleri %73,4 oranında Ca, %50,0 oranında Mg, %26,7 oranında P, %20,0 oranında N ve %6,7 oranında K şeklinde bulunmuştur (Adiloğlu ve Adiloğlu, 2005).

Bu araştırmada Edirne İli Uzunköprü İlçesi'nde yetiştirilen ayçiçeği (*Helianthus annuus L.*) bitkisinin bazı makro bitki besin elementleri içerikleri alınan yaprak örneklerinde yapılan N, P, K, Ca ve Mg analizleriyle ortaya konularak beslenme durumunun yeterli olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Edirne İli Uzunköprü İlçesi'nde 25 farklı tarlada yetiştiriciliği yapılan ayçiçeği bitkisinden alınan yaprak örneklerinde (Jones ve ark. 1991) bazı makro bitki besin elementi (N, P, K, Ca ve Mg) analizleri yapılmıştır. Daha sonra elde edilen analiz sonuçları her bir element için kritik değerler ile karşılaştırılmış ve bitkinin her bir element ile beslenme durumu ortaya konulmuştur.

Ayçiçeği bitki örnekleri Uzunköprü İlçesinin Hamitli, Kurtbey, Kadıköy, Çakmak, Çöpköy, Ömerbey, Yeniköy, Kavacık, Karapınar, Türkobası köylerinden alınmıştır. Alınan bitki örneklerinde toplam N, P, K, Ca ve Mg bitki besin elementi içerikleri belirlenmiştir (Kacar ve İnal 2010).

Bulgular ve Tartışma

Bitkilerin Bazı Makro Besin Elementi İçerikleri

Araştırma noktalarından alınan ayçiçeği bitkisinin N, P, K, Ca ve Mg içerikleri Tablo 1'de verilmiştir.

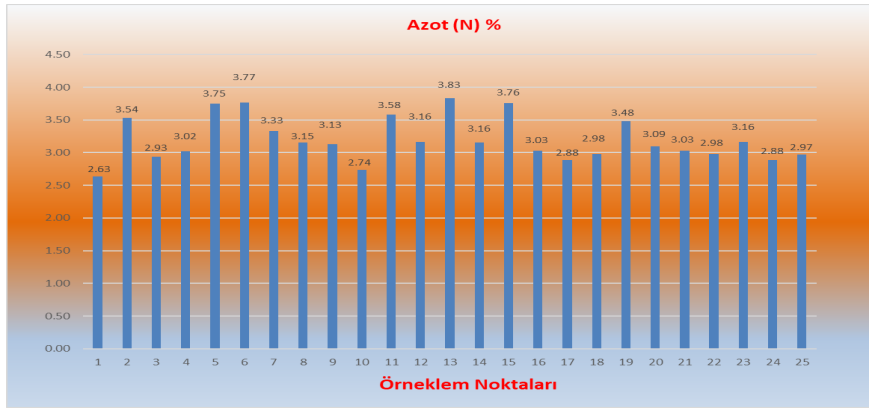
Tablo 1. Ayçiçeği bitkisi yaprak örneklerinin bazı makro besin elementi içerikleri, %

Table 1. Some macro nutrient element contents of sunflower plant samples, %

Örnek No	Azot (N)	Fosfor (P)	Potasyum (K)	Kalsiyum (Ca)	Magnezyum (Mg)
1	2,63	0,26	2,21	2,83	0,26
2	3,54	0,26	2,43	2,44	0,22
3	2,93	0,27	1,89	2,78	0,36
4	3,02	0,18	2,11	2,35	0,24
5	3,75	0,26	2,65	2,61	0,24
6	3,77	0,35	2,67	2,84	0,35
7	3,33	0,24	2,98	2,38	0,25
8	3,15	0,29	3,38	3,40	0,18
9	3,13	0,15	2,34	2,92	0,27
10	2,74	0,22	2,25	2,86	0,24
11	3,58	0,31	2,15	3,08	0,29
12	3,16	0,25	2,54	3,20	0,30
13	3,83	0,28	3,17	2,88	0,26
14	3,16	0,24	2,08	2,66	0,37
15	3,76	0,54	5,67	5,41	0,64
16	3,03	0,33	2,46	3,39	0,20
17	2,88	0,28	2,31	3,44	0,41
18	2,98	0,18	1,98	2,19	0,27
19	3,48	0,23	2,70	2,18	0,18
20	3,09	0,22	1,31	2,86	0,48
21	3,03	0,22	2,28	2,50	0,34
22	2,98	0,23	2,73	2,94	0,18
23	3,16	0,25	1,90	3,02	0,43
24	2,88	0,26	2,18	3,06	0,44
25	2,97	0,24	1,49	3,28	0,80
Min.	2,63	0,15	1,31	2,18	0,18
Max.	3,83	0,54	5,67	5,41	0,80

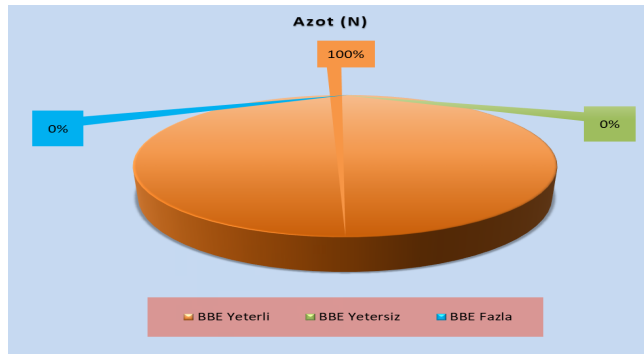
Bitkilerin Azot İçerikleri

Bu araştırmada alınan yaprak örneklerinin azot içeriklerinin %2,63 ile %3,83 arasında değiştiği görölmektedir (Şekil 1.)



Şekil 1. Bitki örneklerinin N içerikleri
Figure 1. Nitrogen contents of plant samples

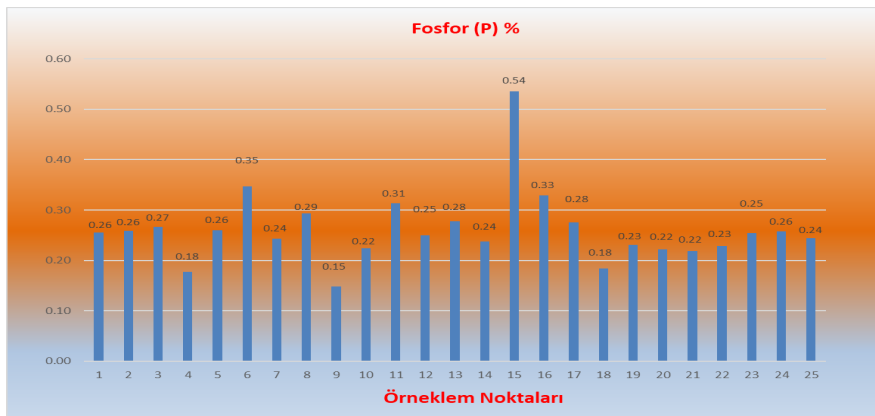
Ayçiçeği yaprak örneklerinin azot içerikleri Jones ve ark. (1991) tarafından belirtilen sınır değerleri ile karşılaştırıldığında 25 noktadan alınan bitki örneklerinin %100'ünde azot miktarlarının yeterli düzeyde olduğu görülmüştür (Şekil 2.). Eryılmaz Açıkgöz (2011) karalahana ile ilgili yapılmış araştırmada farklı hasat olgunluklarında bitkinin makro ve mikro bitki besin elementlerinin içeriğindeki değişim incelenmiştir. Bitki farklı olmakla birlikte azot açısından en yüksek değeri bu bitki için tam hasat olgunluk döneminde yapılan hasatdaki örneklemede olduğu görülmüştür. Ayçiçeği bitkisinde bütün örneklerde yeterli çıkmasının bir nedeninin de bu durum olduğu düşünülmektedir.



Şekil 2. Azot elementinin sınır değerlerine göre değerlendirilmesi
Figure 2. Evaluation of N contents of plants according to critical values

Bu çalışmanın sonuçları ile benzerlik gösteren bir araştırma Doğu Karadeniz Bölgesi çay tarımının yapıldığı bahçelerde belirlenmiştir (Adiloğlu ve Adiloğlu, 2006). Araştırma konusu çay bahçelerinin tamamında bitkilerin N içerikleri yeterli ve yüksek düzeylerde olduğu ortaya konulmuştur.

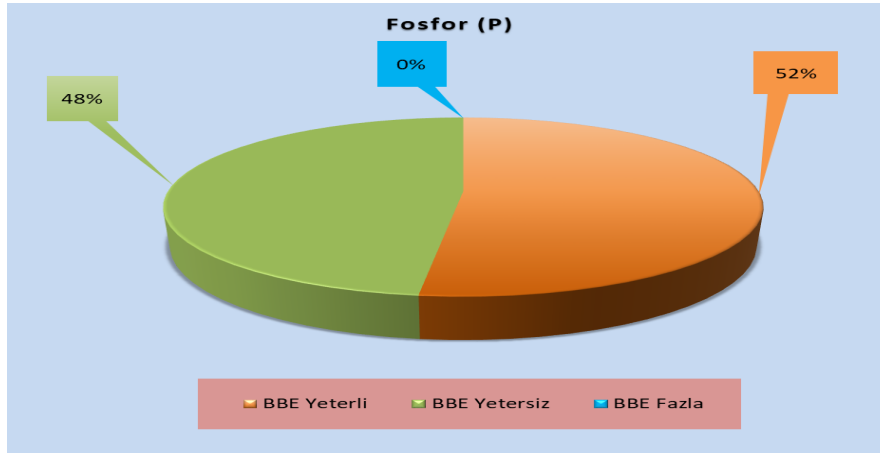
Tekirdağ ili Muratlı ilçesinde yapılan bir araştırmada ise buğday bitkisi yaprak örneklerinde N eksikliği sadece % 10 düzeyinde olduğu belirlenmiştir (Çaktü, 2016).



Şekil 3. Bitki örneklerinin P içerikleri
Figure 3. Phosphorus contents of plant samples.

Bitkilerin Fosfor İçerikleri

Bu araştırmada alınan yaprak örneklerinin fosfor içeriklerinin %0,15 ile %0,54 arasında değiştiği görölmektedir (Şekil 3.) Ayçiçeği bitkisinde fosforun Jones ve ark. (1991)'e göre %0,25 – %0,60 arasında yeterlilik düzeyi bulunmaktadır. Alınan yaprak örneklerinin fosfor içeriklerinin Jones ve ark. (1991) tarafından oluşturulan sınır değerler ile karşılaştırıldığında örneklerin %42' sinde fosfor eksikliğinin olduğu görölmüştür. Bitki örneklerinin %52' sinde ise fosfor düzeyleri yeterli olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.).

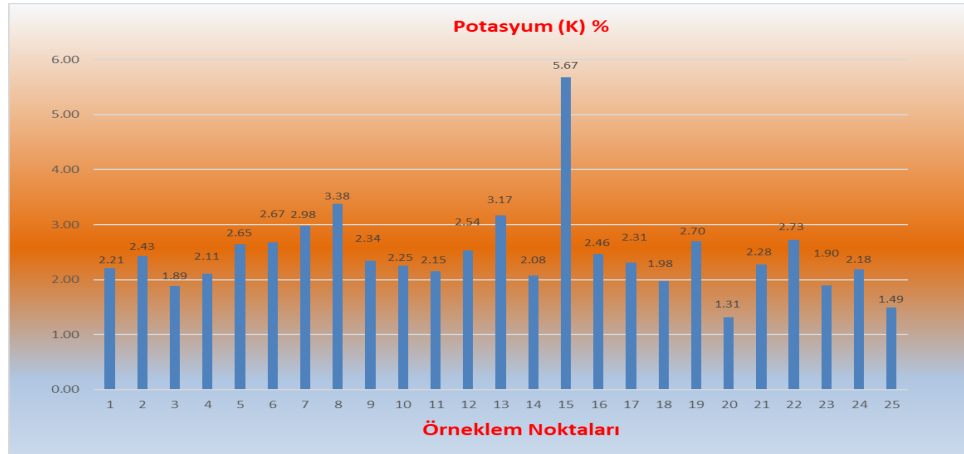


Şekil 4. Fosfor elementinin sınır değerlerine göre değerlendirilmesi
Figure 4. Evaluation of P contents of plants according to critical values

Ceviz bahçelerinin beslenme durumlarının bitki analizleriyle değerlendirildiği bir araştırmada, incelenen bahçelerde bitkilerin P eksikliklerinin %4,39 oranında olduğu, ceviz bahçelerinin %89,13' unda ise bitkilerin fosfor içeriklerinin ise yeterli olduğu belirlenmiştir (Solmaz ve Adiloğlu, 2017).

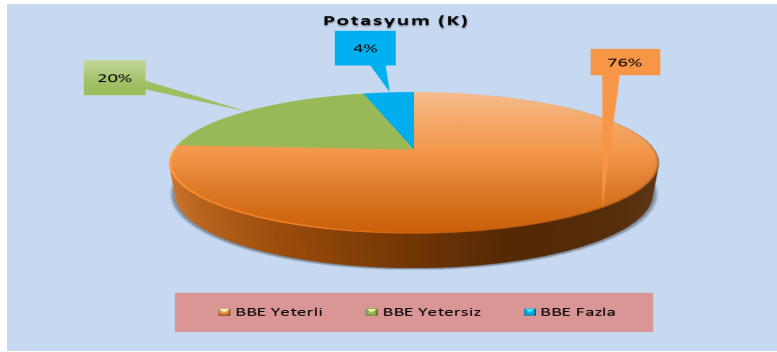
Bitkilerin Potasyum İçerikleri

Bu araştırmada alınan yaprak örneklerinin potasyum içeriklerinin %1,31 ile %5,67 arasında değiştiği görölmektedir (Şekil 5).



Şekil 5. Bitki örneklerinin K içerikleri
Figure 5. Potassium contents of plant samples

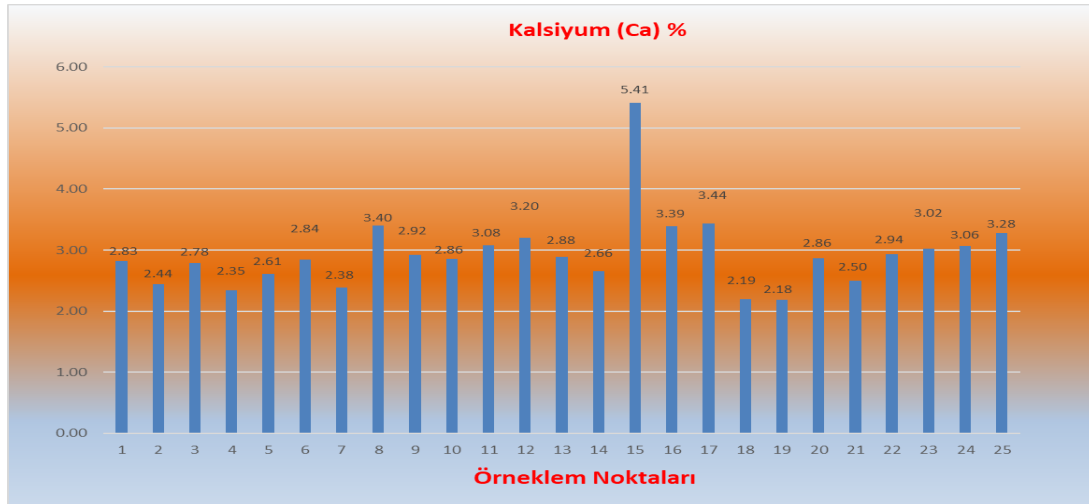
Söz konusu bu değerler Jones ve ark. (1991)' e göre değerlendirildiğinde bitkilerin potasyum içeriklerinin %76' sı yeterli, %4' ü fazla %20' si ise yetersizdir (Şekil 6). Bu çalışmanın sonuçlarına benzer bir şekilde karayemiş (*Prunus laurocerasus L.*) bitkisi ile yapılan bir çalışmada bitki yaprak örneklerinin potasyum içeriklerinin %55 'inin yeterli ve %45' inin ise fazla düzeylerde olduğu belirlenmiştir (Adiloğlu ve ark., 2013).



Şekil 6. Potasyum elementinin sınır değerlerine göre değerlendirilmesi
Figure 6. Evaluation of K contents of plants according to critical values

Bitkilerin Kalsiyum İçerikleri

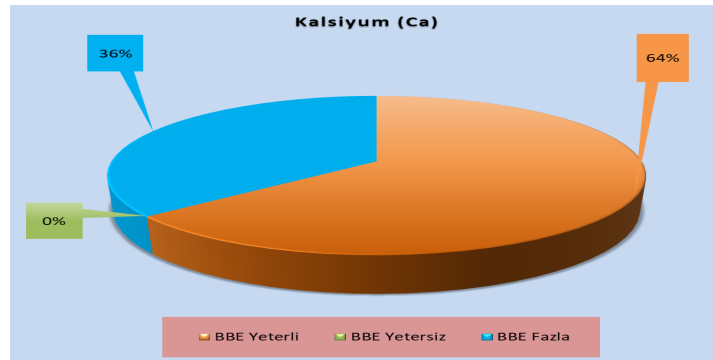
Bu araştırmada kullanılan ayçiçeği yaprak örneklerinin kalsiyum içerikleri %2,18 ile %5,41 arasında değişkenlik göstermiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Bitki örneklerinin Ca içerikleri
Figure 7. Calcium contents of plant samples

Ayçiçeği örneklerinin kalsiyum içerikleri Jones ve ark. (1991) tarafından belirlenen referans verileriyle karşılaştırıldığında örneklerin %36'sının Ca içerikleri fazla ve %64'ünün ise yeterli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 8.).

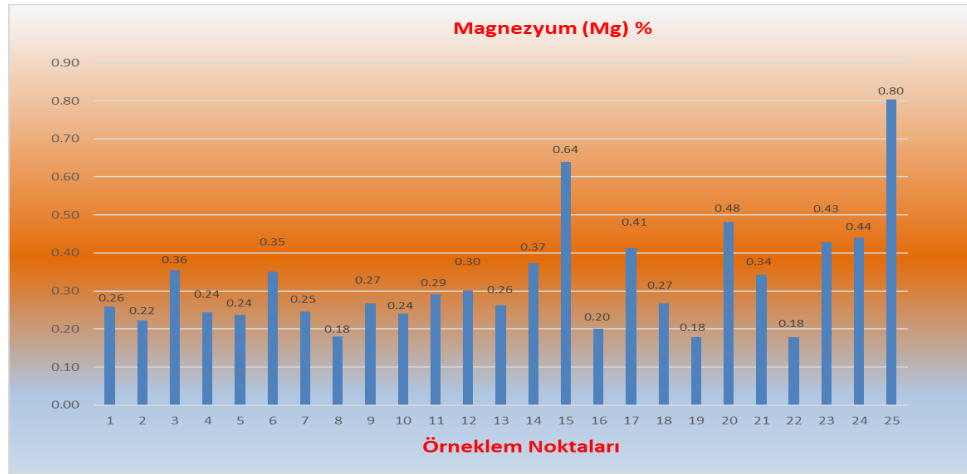
Ceviz bahçelerinin kalsiyum içeriklerinin incelendiği bir araştırmada (Solmaz ve Adiloğlu, 2017), inceleme konusu ceviz bahçelerinin %84,78'inin kalsiyum içeriklerinin yeterli ve %13,04'ünün ise fazla düzeylerde kalsiyum içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 8. Kalsiyum elementinin sınır değerlerine göre değerlendirilmesi
Figure 8. Evaluation of Ca contents of plants according to critical values

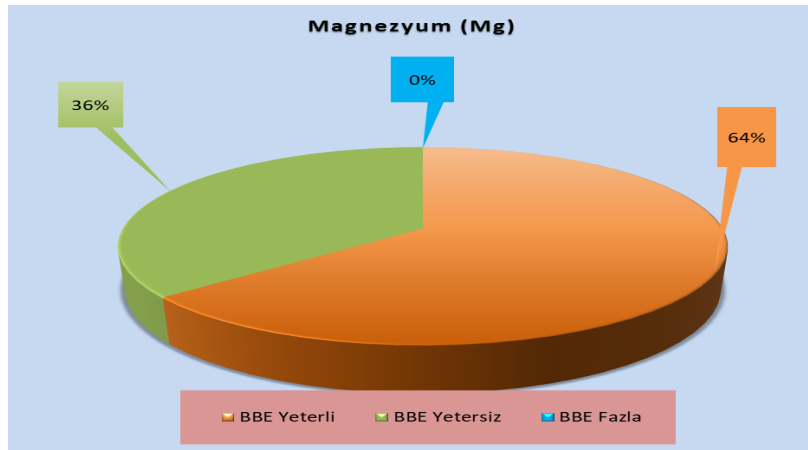
Bitkilerin Magnezyum İçerikleri

Ayçiçeği yaprak örneklerinin magnezyum içeriklerinin %0,18 ile %0,80 arasında değiştiği belirlenmiştir (şekil 9.)



şekil 9. Bitki örneklerinin Mg içerikleri
Figure 9. Magnesium contents of plant samples

Ayçiçeği örneklerinde istenen magnezyumun Jones ve ark. (1991)'e göre yeterlilik sınırı % 0,25 – % 1,00 arasında değişmektedir. Alınan yaprak örneklerinin magnezyum içeriklerinin Jones ve ark. (1991) tarafından belirlenen referans değerleri ile kıyaslandığında örneklerin %64'ü yeterli %36'sı yetersiz olduğu tespit edilmiştir (şekil 10).



şekil 10. Magnezyum elementinin sınır değerlerine göre değerlendirilmesi
Figure 10. Evaluation of Mg contents of plants according to critical values

Sonuç ve Öneriler

Edirne ili Uzunköprü ilçesinde belirlenen köylerde yer alan Ayçiçeği tarlalarının mutlak gerekli bazı makro bitki besin elementi içeriklerinin belirlenmesi amacı ile Uzunköprü ilçesinin 10 farklı köyünde bulunan 25 farklı ayçiçeği tarlasından, bitkilerden alınan yaprak örneklerinin analizleri sonucunda, gerekli analizler yapılarak sonuçları değerlendirilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre araştırmaya konu olan bölgedeki ayçiçeği bitkisinin azot içeriklerinin %100'ünün yeterli seviyede olduğu ve bu değerlerin referans değerleri arasında olduğu görölmüştür. Fosfor aından yaprak analizlerinin tamamı kritik seviyeye göre değerlendirildiğinde, bitkilerin %52'sinin fosfor içerikleri yeterli miktarda iken %48'inin fosfor içeriklerinin yetersiz olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç bize fosforlu gübre uygulamasının dengeli olarak yapılmadığı, toprak ve yaprak analizleri dikkate alınarak sağlıklı bir gübreleme programının yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Diğer bir element potasyum analiz sonuçlarının %76'sının yeterli seviyede olduğu belirlenirken, örneklerin %20'sinde eksiklik, %4'ünde ise potasyum fazlalığı olduğu ortaya konulmuştur. Bu sonuçlar gösteriyor ki ayçiçeği bitkisinin toprak analiz sonuçları da dikkate alınarak azot, fosfor, potasyumlu gübre uygulanmalıdır.

Ayçiçeği bitki örneklerinin %64'ünde kalsiyum yeterli seviyede iken, %36'sında ise fazla olduğu belirlenmiştir. Magnezyum açısından bitki örneklerinin değerlendirildiğinde %64'ü yeterli %36'sında ise magnezyum yetersizliği olduğu belirlenmiştir. Toprak ve bitki analizleri sonucunda eksikliği olan tarlalarda bu eksikliğin giderilmesi için yapraktan magnezyum içerikli gübreler ile gübreleme yapılması gerekmektedir.

Bu araştırmanın sonuçlarına göre, en yüksek besin elementi eksikliği %48 ile fosfor eksikliği, %36 magnezyum eksikliği ve %20 potasyum eksikliği gözlenmiş olup, gübreleme programları bu besin elementlerinin eksiklikleri göz önünde bulundurularak oluşturulmalıdır.

Bu araştırma sonuçlarına göre, bölgede özellikle fosfor, magnezyum ve potasyum gübrelemesine özel bir önem verilmelidir. Diğer taraftan da özellikle gübre kaynaklı kirlilik sonucunda oluşan toksisitenin önüne geçmek ve insan sağlığına etki edecek şartların ortadan kaldırılması için de gübreleme uygulamalarında bilinçli olarak hareket edilmelidir.

Teşekkür

Bu araştırma Yüksek Lisans Tezinden hazırlanmıştır. Bu çalışma, NKÜBAP tarafından NKUBAP.03.YL.16.045 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Kaynakça/References

- Adiloğlu, A. & Adiloğlu, S. (2005). An Investigation on nutritional problems of hazelnut (*Corylus avellana L.*) grown in acid soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 36(15-16), 2219-2226.
- Adiloğlu, A. & Adiloğlu, S. (2006). An Investigation on nutritional status of tea (*Camellia sinensis L.*) grown in Eastern Black Sea Region of Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(3), 365-370
- Adiloğlu, A., Karaman, M.R., Adiloğlu, S. & Karakaş, Ö. (2013). Elemental composition of cherry laurel (*Prunus laurocerasus L.*) grown natural conditions in Eastern Black Sea Region of Turkey. *Soil Water Journal*, 2(1), 753-760.
- Adiloğlu, A., ve Eraslan, F. (2012). Bitki Besleme. (Ed. M.R. Karaman). Bölüm 4. *Gübreler ve Gübreleme Tekniği*, s:347-474, Gübretaş Rehber Kitaplar Dizisi: 2, Dumat Ofset Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.
- Adiloğlu, S., Sümer, A., Gönülsüz, E. & Adiloğlu A. (2010). Determination of suitable chemical extraction methods for exchangeable potassium content of having different pH value soils in Tekirdağ. *Soil Management and Potash Fertilizer Uses in West Asia and North Africa Region, International Symposium of Potash Institute Held*. Antalya, November, 22-25.
- Bellitürk K. (2011). Edirne İli Uzunköprü ilçesi tarım topraklarının beslenme durumlarının belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8(3): 8-15.
- Büyükfiliz, F. (2016). *Vermikompost gübrelenmesinin ayçiçeği bitkisinin verim ve bazı kalite parametreleri üzerine etkisi*. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi Tekirdağ.
- Çaktü, E. (2016). *Tekirdağ İli Muratlı ilçesinde yetiştirilen buğday (*Triticum aestivum L.*) bitkisinin beslenme durumunun bitki analizleriyle belirlenmesi*. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 34 s, Tekirdağ.
- Açıkgöz F.E. (2011). Mineral, vitamin C and crude protein contents in kale (*Brassica oleracea var. acephala*) at different harvesting stages. *African Journal of Biotechnology*, 10:17170-17174.
- Açıkgöz, F.E., Adiloğlu, S., Solmaz, Y. & Adiloğlu, A. (2017). The Influence of potassium fertilizer practices on some macro and micro nutrient element ingredient of rocket (*Eruca vesicaria subsp. sativa*) plant. *Oxidation Communications*, 40(3): 1209-1217.
- Güneri, M., Akat, H., Yağmur, B. & Yokaş, İ. (2016). Effect of phosphorus and potassium applications on growth of kumquat (*Fortunella margarita L.*) swing plant. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*, 33(1): 64-74.
- Jones, J.B., Wolf B. & Mills, H.A. (1991). *Plant Analysis Handbook*. Micro-Macro Publishing, Inc., USA, 213p.
- Kacar, B. & İnal, A. (2010). *Bitki Analizleri*. Nobel Yayınları No:1241.
- Karaman, M.R., Brohi, A.R., Müftüoğlu, N.M., Öztaş, T. & Zengin, M. (2012). *Sürdürülebilir Toprak Verimliliği*. Koyulhisar Ziraat Odası Kültür Yayınları No:1 Güncellenmiş 3. Baskı. ISBN 978-605-86684-0-9.
- Sağlam, M.T. (2012). *Gübreler ve Gübreleme*. Namık Kemal Üniversitesi Yayınları. Yayın No: 14, Ders Kitabı No: 6, Tekirdağ.
- Solmaz, Y. & Adiloğlu, A. (2017). Determination of nutritional status of walnut orchards by leaf analysis in Tekirdağ Region. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(1): 88-92.
- TUİK, 2017. *Tarım İstatistikleri*. Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.

An Optimization Study for The Production of *Origanum onites* Tincture by Response Surface Methodology: Effect of Liquid/Solid Ratio, Ethanol Concentration and Storage Period

Origanum Onites Tentürü Üretim artlarının Tepki Yüzey Yöntemi ile Optimizasyonu: Sıvı/Katı Oranı, Etanol Konsantrasyonu ve Depolama Süresinin Etkisi

Mahmut KAPLAN¹, Mustafa Mücahit YILMAZ^{2,3}, Rabia USLU², Serap KÖPRÜ²,
Hürmet GÖZELLE², Gamze MUHDEREM²

Abstract

In this study, *Origanum onites* was used for the production of tincture, a hydroalcoholic extract, and manufacturing conditions were optimized to determine the processing factor variable levels to increase the final quality of samples. For this purpose, response surface methodology study was applied and Box Behnken design was used for the optimization. Three factors were selected namely liquid/solid ratio, ethanol concentration and storage period for the preparation of samples. Total phenolic content, antiradical activity and efficient of concentration (EC50) values were determined to evaluate the bioactivity of tincture samples. It was observed that the total phenolic content of the tincture samples was affected by ethanol concentration and liquid/solid ratio. Total phenolic contents of tincture samples were in the range of 964.1-7020.8 mg GAE/ L samples while the efficient concentration (EC50) ranged from 44.88 to 89.56. Increase of solid level increased the bioactivity values of samples, but this increment decreased the tincture yield significantly. Optimization results showed that the highest total phenolic content would be at 50% ethanol concentration, 6 ml ethanol level which means the liquid/solid ratio is 1:5 and 15 days storage for the tincture samples.


Keywords: *O. onites*, tincture, bioactivity, optimization, response surface methodology


Öz


Bu çalışmada, bir hidroalkolik ekstrakt tipi olan tentür üretimi amacıyla *Origanum onites* bitkisi kullanılmış ve son ürün kalitesini artırmaya yönelik olarak üretim şartlarını optimize etmek üzere proses faktör seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, optimizasyon işlemi için tepki yüzey yöntemi tabanlı Box-Behnken deneme tasarımından faydalanılmıştır. Örneklerin hazırlanması amacıyla sıvı/katı oranı, etanol konsantrasyonu ve depolama süresi faktör olarak seçilmiştir. Tentür örneklerinin biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi amacıyla toplam fenolik madde miktarı, antiradikal kapasite ve EC50 değeri hesaplanmıştır. Sıvı/katı oranı ve etanol konsantrasyonunun örneklerin toplam fenolik madde miktarı üzerinden etkili olduğu görülmüştür. Örneklerin toplam fenolik madde değerleri 964.1-7020.8 mg GAE/ L, EC50 değerleri ise 44.88-89.56 aralığında değişim göstermiştir. Örnek konsantrasyonunun artışı toplam fenolik madde miktarını artırırken, bu artış tentür veriminde düşüşe yol açmıştır. Optimizasyon sonuçları en yüksek toplam fenolik madde miktarının, %50 etanol konsantrasyonunda, 1:5 katı/sıvı oranında, 15 günlük depolama süresi sonunda elde edilebileceğini göstermiştir.


Anahtar Kelimeler: *Origanum onites*, tentür, biyoaktivite, optimizasyon, tepki yüzey yöntemi


****Corresponding Author:** Mahmut Kaplan, Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü. E-mail: mahmutk@erciyes.edu.tr,


 OrcID: 0000-0002-6717-4115

^{2,3}Mustafa Mücahit Yılmaz, Dr. Yılmaz Klinik, Kayseri. E-mail: dryilmaz@dryilmazilac.com.tr.  OrcID: 0000-0002-6338-4449

²Rabia Uslu, Dr. Yılmaz Tıbbi Bitkiler ve İlaç Hammaddeleri A.Ş. E-mail: rabiauslu@dryilmazilac.com.tr.  OrcID: 0000-0003-1868-3957

²Serap Köprü, Dr. Yılmaz Tıbbi Bitkiler ve İlaç Hammaddeleri A.Ş. E-mail: serapkopru@dryilmazilac.com.tr.  OrcID: 0000-0001-7706-238X

²Hürmet Gözelle, Dr. Yılmaz Tıbbi Bitkiler ve İlaç Hammaddeleri A.Ş. E-mail: hurmetgozelle@dryilmazilac.com.tr.  OrcID: 0000-0002-4094-6672

²Gamze Muhderem, Dr. Yılmaz Tıbbi Bitkiler ve İlaç Hammaddeleri A.Ş. E-mail: gamzeasal@dryilmazilac.com.tr.  OrcID: 0000-0002-9651-5740

Citation: Kaplan, M., Yılmaz, M.M., Uslu, R., Köprü, S., Gözelle, H., Muhderem, G. An optimization study for the production of *Origanum onites* tincture by response surface methodology: Effect of liquid/solid ratio, ethanol concentration and storage period. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 11-22.

Oregano (*Origanum vulgare* L., fam. Lamiaceae) which is a medicinal and aromatic herb grows commonly in Europe and Asia, especially in the Mediterranean region (Josifovic et al., 1974). It is used as a spice by humans all around the world for ancient times and it is a good raw material for the production of tincture to use against some diseases like cold, for digestive and respiratory problems (Ivanova et al., 2005; Leporatti and Ivancheva, 2003). In folk medicine, to treat many health problem like respiratory disorders, dyspepsia, painful menstruation, rheumatoid arthritis and urinary tract disorders, *O. vulgare* is one of the commonly used as medicinal plant (Gruenwald et al., 2000). Oregano was reported that it had strong biological activity in many published papers (Barros et al., 2010; Economou et al., 1991; Kaurinovic et al., 2011; Kosar et al., 2005; Spiridon et al., 2011; Özbek et al., 2008; Sahin et al., 2004). For the biological activity of oregano, in general essential oil of the plant was characterized and in recent years biological activities of the essential oil of *O. vulgare* have intensively been studied (Castilho et al., 2012; Sahin et al., 2004). It was reported that the oregano essential oils and extracts include phenolic substances such as carvacrol and rosmarinic acid and they have strong antioxidant and antibacterial activities (Baydar et al., 2004; Koşar et al., 2003; Pizzale et al., 2002; Tepe et al., 2004). As is well known, antioxidants are compounds capable of delaying, retarding or preventing oxidation. They can react with free radicals or can interrupt the chain reaction in the propagation of oxidation (Valko et al., 2007). Botanical extracts are well recognized sources of antioxidants. The supplementation with phytochemicals such as polyphenols, including flavonoids, could be help to protect the body against diseases. Because they are free radical scavengers and antioxidant compounds having capacity to reduce the negative effect of oxidative stress and free radicals (Seifried et al., 2007). Tincture is a hydroalcoholic extracts of the medicinal plants and they are galenic preparation of many herbs which could be used for the medicinal treatments. This method of plant material extraction used are recommended by several Pharmacopoeias, e.g. European Pharmacopoeia and Polish Pharmacopoeia (Olech et al., 2012). Preparation of tinctures in phytherapy is very common technique to increase the bioactivity of plant on the disease. It is reported that the solid form of the plant powders had common usage in the medicinal treatment but liquid preparation of the herbs have many advantage compared to solid form like easy preparation of a unique formulation and another considerable advantage of liquids is that if properly prepared, they include minimal processing during manufacturing and so they reflect the chemical spectrum of the original herb. Also, tinctures which are the liquid form of the herbs have superior bioavailability because all important phytochemical constituents are already in solution compared to solid-dose preparation. It was also stated that the herbal liquids confer considerable dose flexibility and intake of liquids is every time easier by the children compared to solid ones (Bone, 2003). Due to the stated advantages of the above, tincture is preferred by the doctors compared to solid powder form.

According to our knowledge, there was no published paper regarding the optimization of production conditions for the oregano tincture. The main purposes of the current study was to determine the bioactivity of *Origanum onites* plant and its produced tinctures in terms of total phenolic content, antiradical activity and EC₅₀ values and optimized conditions for the production of tincture having high bioactivity. For this aim, three processing variables were determined as liquid/solid ratio, ethanol concentration and storage period and response surface methodology Box Behnken design was used for the determination of effective factors and optimized production conditions.

Material and Methods

In the current study, *Origanum onites* was purchased from Boralife Medicinal Plant Company (Ankara, Turkey) as dried material. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was purchased from Sigma-Aldrich (Madrid, Spain), and ethanol was from Tekkim Co. (Istanbul, Turkey). Folin Ciocalteu reagent and sodium carbonate were procured from Merck (Germany). All of the reagents used were of analytical quality.

Sample preparation and experimental design

In the current study, both bioactivity of plant and also its tincture were characterized. The plant samples were ground using a grinder for further analysis. To extract the total phenolics as active substance in the plants, the related amount of the plant material was weighed as 1 g (moisture: 9.27%) and placed in a glass jar. After that, ethanol at desired concentration (5 ml, 10 ml or 30 ml) according to the experimental design in Table 1 was incorporated and mixed for 1 minute. Finally, the jars were covered tightly and stored in dark conditions at room temperature during the determined storage time. At the end of the storage period, the samples were filtered using a filter paper and the filtrate was used for further analysis. The tincture production was performed as similarly. As is known, tincture is the ethanolic extract of the plant samples. So, the filtrated samples was used as tincture (Bone, 2003).

Table 1. Box-Behnken design matrix used to evaluate the effects of processing variables on bioactive properties of *O. onites* plant extract and tincture

Runs	Coded values			Actual values		
	X1	X2	X3	Liquid/solid (ml)	Ethanol concentration (%)	Time (day)
1	0.00	0.00	0.00	10	50	8
2	0.00	1.00	1.00	10	75	15
3	0.00	0.00	0.00	10	50	8
4	-1.00	1.00	0.00	30	75	8
5	0.00	1.00	-1.00	10	75	1
6	1.00	-1.00	0.00	6	25	8
7	1.00	1.00	0.00	6	75	8
8	0.00	-1.00	1.00	10	25	15
9	1.00	0.00	1.00	6	50	15
10	-1.00	0.00	-1.00	30	50	1
11	1.00	0.00	-1.00	6	50	1
12	0.00	0.00	0.00	10	50	8
13	-1.00	0.00	1.00	30	50	15
14	-1.00	-1.00	0.00	30	25	8
15	0.00	-1.00	-1.00	10	25	1

Determination of total phenolic content

To determine the total phenolic content of the samples, Folin Ciocalteu method suggested by Singleton and Rossi (1965) was used. For this purpose, 200 µl of sample extract was placed in a tube including 1800 µl of distilled water. Afterthat, 1 ml of Folin reagent (1/10 diluted) was incorporated and waited for 1 min. At the end, 2 ml of sodium carbonate (2% w/v) was added and the tubes were covered, vortexed and incubated for 2 h in a dark place at room conditions (24-25 °C). At the end of the incubation, the absorbance values of samples were measured at 765 nm by a UV-VIS spectrophotometer (Schimadzu, Japan) and the total phenolic content of the plant samples were calculated as mg GAE/g sample for plant material and mg GAE/L for tincture samples.

Determination of antiradical activity

To determine the antiradical activity of samples, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was used as radical substance and scavenging activity of samples was determined as % inhibition. For this purpose, 100 µl of extract sample (diluted as 1/40) was mixed with 3900 µl of DPPH solution (0.1mM in methanol) and vortexed in tube. The absorbance values of the samples were measured at 517 nm after 30 min incubation in dark place at room conditions by using a UV-VIS spectrophotometer (Schidamzu, Japan). The % inhibition value was calculated using following equation:

$$\% \text{Inhibition} = [(Abs_c - Abs_s) / Abs_c] \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

where Abs_c is the absorbance of the control and Abs_s is the absorbance of the sample (Kaplan et al., 2018).

Determination of antiradical efficiency (EC_{50})

To determine the EC_{50} values of the samples, the methodology described by Moreno et al. (1998) and Brand-Williams et al (1995) was used. For this purpose, 100 µl of the extract samples diluted at different concentrations was mixed with 3900 µl of DPPH solution (0.1mM in methanol) and vortexed in tube. The absorbance values of the each sample were recorded at 517 nm after 30 min incubation in dark place at room conditions by using a UV-VIS spectrophotometer (Schidamzu, Japan). The remaining DPPH concentration in the reaction medium was calculated from the following calibration curve equation (Eq.2) determined by linear regression:

$$DPPH_{REM}(\text{mg/ml}) = [37.92 \times Abs_{517} + 0.27] \times 1000 \quad (R^2 = 0.997) (\text{Eq.2})$$

The percentage of the remaining DPPH was also calculated by dividing the DPPH level at the end of the reaction to the DPPH level at the beginning as following equation:

$$\% \text{ DPPH}_{\text{REM}} = \frac{[\text{DPPH}]_t}{[\text{DPPH}]_{t=0}} \quad (\text{Eq.3})$$

The percentage of remaining DPPH against the standard concentration was then plotted to calculate the amount of antioxidant necessary to decrease the initial concentration of radical substance by 50%.

Measurement of tincture yield

The tincture yield of the samples was determined by measuring the liquid volume after filtration of the sample by using a measuring cylinder and the results were given as ml.

Data analysis, modeling and optimization

In this study, a 3-factor-3-level Box-Behnken experimental design (Box and Behnken, 1960) with three replicates at the center point was used to develop predictive models for studied parameters. The factors (processing variables), levels and experimental design in terms of coded and uncoded are presented in Table 1.

$$Y - \varepsilon = \beta_0 + \sum_{i=1}^N \beta_i x_i + \sum_{i=1}^N \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{\substack{i=1 \\ i < j}} \sum_{j=i+1}^N \beta_{ij} x_i x_j ,$$

(Eq.4)

where Y is the corresponding predicted response value, β_0 is the intercept term, β_i is the linear term, β_{ii} is the quadratic term, β_{ij} is the interaction term, and X_i and X_j are the coded levels of the independent variables. The regression coefficients of linear, quadratic and interaction terms were determined by using Design Expert package software for each output parameter.

In this context, ethanol level (6,10 and 30 ml for 1 g plant), ethanol concentration(25, 50 and 75%), time (1, 8 and 15 days) were selected as the processing variables. Design-Expert® Software Version 7.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) was used for the computational work including designation of experimental points, randomization, analysis of variance, fitting of the second-order polynomial models and graphical representations as well as optimization was performed.

Optimization procedure was performed by using desirability function of the Design-Expert® Software Version 7.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) and maximum and minimum values and their conditions were calculated.

Results and Discussion

O. onites plant properties

Table 2 shows the bioactivity values of all plant samples prepared according to the experimental design in Table 1.

Table 2. Bioactivity of *O. onites* plant and tincture samples as affected by processing variables

Runs	O. onitesplant		O. onitestincture		
	PTPC	TTPC	EC ₅₀	ARA	TY
1	45.25	4524.9	42.63	32.3	16
2	31.86	3186.1	80.66	16.4	13
3	45.29	4528.9	53.19	33.0	15.5
4	46.69	1556.4	51.44	10.6	22
5	38.71	3870.8	64.69	27.7	15.5
6	20.07	3345.5	84.99	28.8	15.5
7	34.05	5674.9	73.64	25.0	11.7
8	39.53	3953.2	57.63	22.6	15.9
9	42.12	7020.8	44.88	43.5	10
10	50.30	1737.2	44.97	13.3	21
11	34.61	5767.8	68.53	44.7	9
12	40.51	4050.5	48.72	31.0	14.5
13	46.31	1543.8	55.54	7.4	19.6
14	28.92	964.1	89.56	3.3	20

15	20.97	2096.9	83.22	22.0	13.5
----	-------	--------	-------	------	------

PTPC: Plant Total Phenolic Content (mg GAE/g sample), EC50: Efficient concentration, TY: Tincture yield (ml),
TTPC: Tincture Total Phenolic Content (mg GAE/L), ARA: Antiradical activity (% inhibition for 1/40 diluted samples)

Total phenolic content of samples showed a significant variation depending on the processing variables and it was observed that the lowest total phenolic content of *O.onites* plant was determined for the sample prepared with the lowest solvent level (6 ml) and 25% ethanol concentration for 1 g plant and stored eight days in dark conditions. The highest total phenolic content was determined for the sample prepared with the highest solvent level (30 ml) and 50% ethanol concentration for 1 g plant and stored 15 days in dark conditions (run 10 in Table 1). Ozkan et al. (2009) investigated the harvesting time on total phenolic content of the *O. onites* and reported that they had 106.1-149.4 mg GAE/g extract and they stated that the total phenolic level was significantly affected by the harvesting time. Lucina et al. (2013) also studied the effect of different solvent type on some bioactive parameters of *Origanum vulgare* and reported that the highest total phenolic content was determined for the only water and ethanol to be 235 and 135 mgGAE/g extract, respectively. Similar findings were reported by Teixeira et al. (2013) for the *O. vulgare* and they reported total phenolic content of cold water extract to be 17.8 mg GAE/g sample while the ethanolic extract of the sample was 13.5 mg GAE/g sample. The total phenolic level of the samples was affected by the species of oregano and solvent type significantly. Total phenolic content of *O.onites* plant was affected by the processing variables and especially liquid/solid level and ethanol concentration showed a significant effect on the phenolic level to be extracted from the plantleaves. It was concluded that the extractable phenolics increased by the increase of liquid/solid level ($P<0.05$, Table 3). Fig.1 shows the change of plant total phenolic content (PTPC) according to the change of processing variables and as it could be seen from the 3D surface plots in Fig.1, PTPC increased by the increase of solvent level which added to the constant plant amount (1 g). Ethanol concentration increase provided an increment in the phenolic level of plant samples to the constant extent significantly ($P<0.05$) and more increase of ethanol in the extraction solvent caused a decrease of the extractable phenolic content. Storage period increase also increased the PTPC but this increase was found to be insignificant ($P>0.05$, Table 3) showing that the phenolics could be extracted easily in short time by addition of suitable ethanol concentration which was obtained from the optimization results.

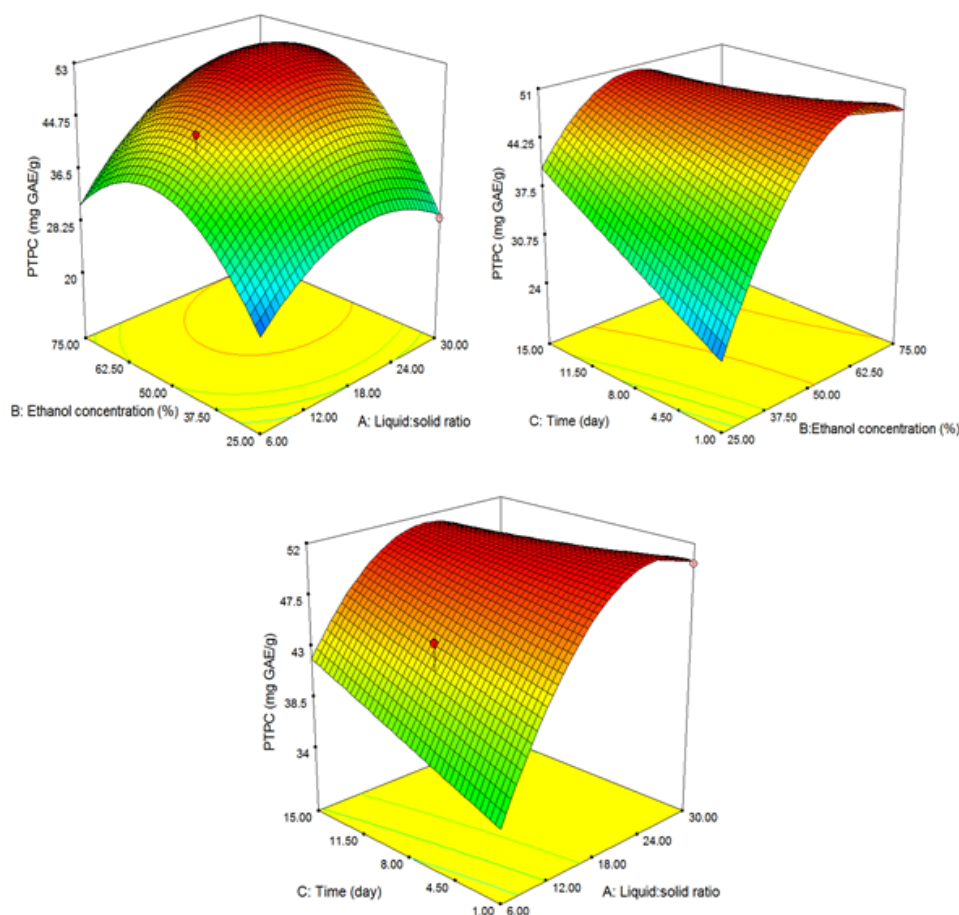


Fig. 1 Effect of processing variables on plant total phenolic content (PTPC) of *O. onites*

Table 3. Significance of the regression models (F values) and the effects of processing variables on bioactive properties of *O. onites* plant extract and tincture

	Df	Parameters [§]				
		PTPC	EC ₅₀	TY	TTPC	ARA
Model	9	0.007 ^a	0.028 ^a	0.007 ^a	0.010 ^a	0.001 ^a
<i>Linear</i>						
<i>A</i> ^φ	1	0.014 ^a	0.031 ^a	0.001 ^a	0.002 ^a	0.001 ^a
<i>B</i>	1	0.005 ^a	0.409	0.706	0.116	0.138
<i>C</i>	1	0.243	0.503	0.808	0.368	0.033 ^a
<i>Cross product</i>						
<i>AB</i>	1	0.186	0.101	0.130	0.499	0.016
<i>AC</i>	1	0.105	0.110	0.448	0.370	0.251
<i>BC</i>	1	0.012 ^a	0.043 ^a	0.135	0.121	0.071 ^b
<i>Quadratic</i>						
<i>A</i> ²	1	0.097	0.082 ^c	0.066 ^b	0.056 ^b	0.215
<i>B</i> ²	1	0.001 ^a	0.003 ^a	0.330	0.026 ^a	0.009 ^a
<i>C</i> ²	1	0.998	0.824	0.071 ^b	0.956	0.807
Residual	5					
Lack of fit	3	0.396	0.269	0.180	0.096	0.059
Pure error	2					
Cor error	14					
<i>R</i> ²		0.955	0.919	0.955	0.947	0.986

^φA: Liquid/solid (ml), B: Ethanol concentration (%), C: Time (day)

[§]PTPC: Plant Total Phenolic Content (mg GAE/g sample), EC₅₀: Efficient concentration, TY: Tincture yield (ml), TTPC: Tincture Total Phenolic Content (mg GAE/L), ARA: Antiradical activity (% inhibition for 1/40 diluted samples), ^a *p*<0.01, ^b *p*<0.05, ^c *p*<0.1

***O. onites* tincture properties**

Tincture is the hydroethanolic extract of the plant samples and produced with the processing of constant level of plant added with ethanol:distilled water for a while like 15 days in dark conditions. Bioactivity of tincture samples such as total phenolic content, efficiency concentration and antiradical activity of diluted at constant level for the determination of optimized values for the tincture production were given in Table 2. Tincture phenolics varied within the wide range depending on the processing variables. The highest tincture total phenolic content was determined to be 7020.8 mg GAE/L for the sample with the addition of 6 ml 50% of solvent for 1 g plant and stored for 15 days while the lowest value (964.1 mg GAE/L) for the tincture samples was for the sample prepared with the addition of 30 ml of 25% ethanol and stored for eight days (run 14 in Table 1). Total phenolic content of tincture sample was significantly affected by the solvent level in the mixture (*P*<0.01, Table 3). Fig.2 shows the change of total phenolic level of tincture samples depending on the plant concentration used for the preparation of tinctures. Increase of liquid level used for the extraction decreased the phenolic concentration of tincture samples significantly (*P*<0.05) because of the dilution in the active substances levels. It could be concluded that the amount of plant used for the preparation of tincture had a significant effect on the bioactivity of tinctures and so, to produce highly concentrated sample in terms of phenolic substance, the ratio between the liquid (solvent) and solid (plant) should be considered and minimized. As could be seen in the Fig.2, phenolic content of tincture samples was recorded to be low when the water or ethanol level was set to be high in the mixture, but the mixtures containing both of liquids at equal level showed higher phenolic level.

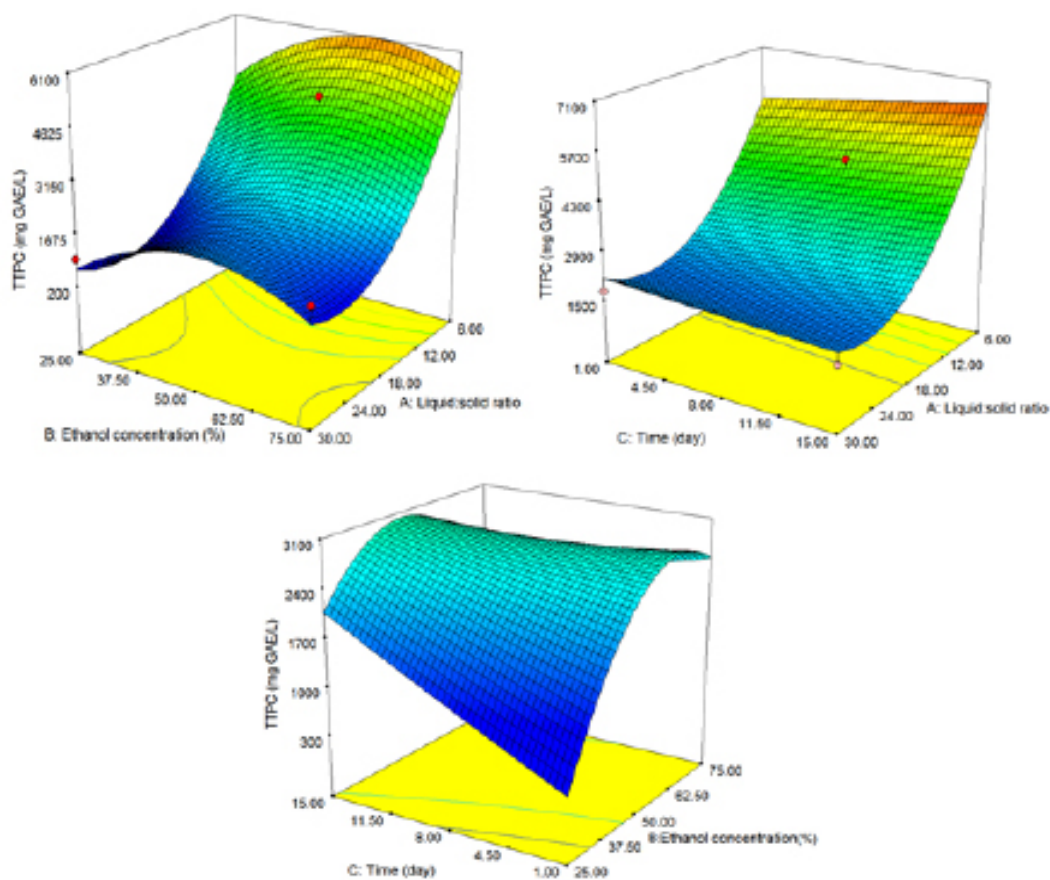


Fig. 2 Effect of processing variables on tincture total phenolic content (TTPC) of *O. onites*

Efficient concentration (EC_{50}) of tincture samples was given in Table 2. As is known, efficient concentration level is desired to be low and its decrease means that the bioactivity increase for the extract samples. The highest EC_{50} was determined for the tincture samples prepared with the addition of 30 ml of 25% ethanol and stored for eight days (run 14 in Table 1) which was the sample having the lowest total phenolic content. The lowest EC_{50} was calculated for the sample having the highest total phenolic content level as is seen in Table 2. EC_{50} values were affected by the liquid/solid ratio significantly ($P < 0.05$, Table 3). Increase of liquid level compared to solid one increased the EC_{50} value showing that the active substance dilution decreased the bioactivity of tincture samples and caused the increase for the EC_{50} value which means that the level of extract amount should be increased to scavenge of 50% of antiradical substances. EC_{50} values were also affected by the ethanol concentration and time and the lowest EC_{50} value was calculated for the tincture samples having the highest total phenolic substances (Fig. 3). A negative correlation was determined between total phenolic substances and EC_{50} value of the tincture samples. Increase of the total phenolic substances caused to the decrease of EC_{50} value.

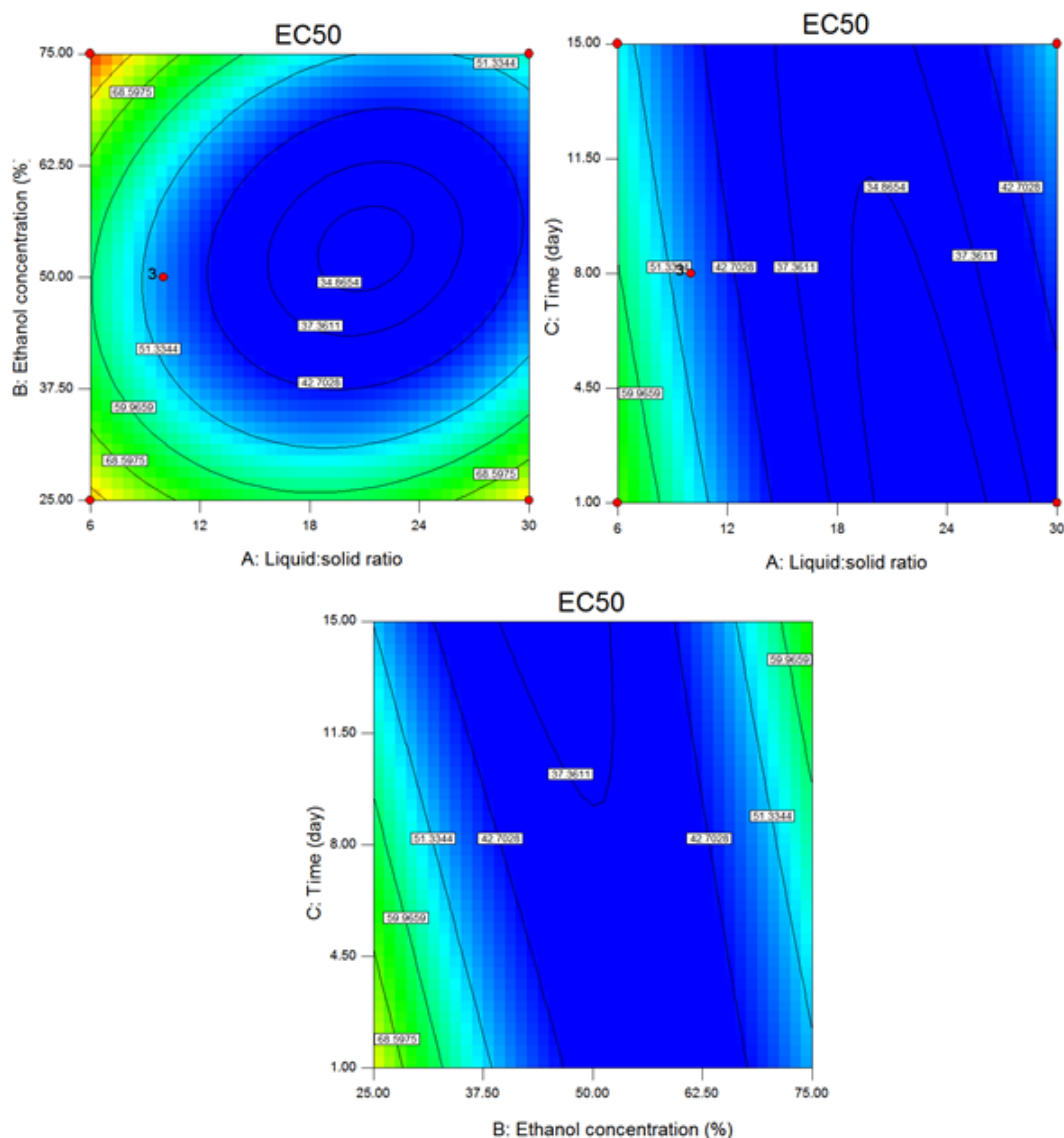


Fig. 3 Effect of processing variables on EC50 values of *O. onites*

Antiradical activity as percentage inhibition of all tincture samples diluted as 1/40 to compare was given in Table 2. The highest antiradical activity was calculated as 44.7% while the lowest value was 3.3%. The lowest antiradical activity value was determined for the tincture sample having the lowest total phenolic content level (run 14 in Table 1). Increase the total phenolic content of the tincture samples increased the antiradical activity and a positive and significant correlation between them was determined ($r=0.899$). The liquid/solid ratio and timeshowed a significant effect on the antiradical activity of tincture samples and as is shown in Fig.4, increase in the liquid level decreased the antiradical activity of the samples. Increase or decrease after 50% ethanol concentration caused a decrement in the antiradical activity of tincture. It was reported that the antiradical activity of *O.onites* comes from its active substances isolated by Kikuzaki and Nakatani (1989) namely as protocatechuic acid, caffeic acid, rosmarinic acid, a phenyl glycoside and 2-caffeoyloxy-3-[2-(4-hydroxybenzyl)-4,5-dihydroxyphenyl] propionic acid.

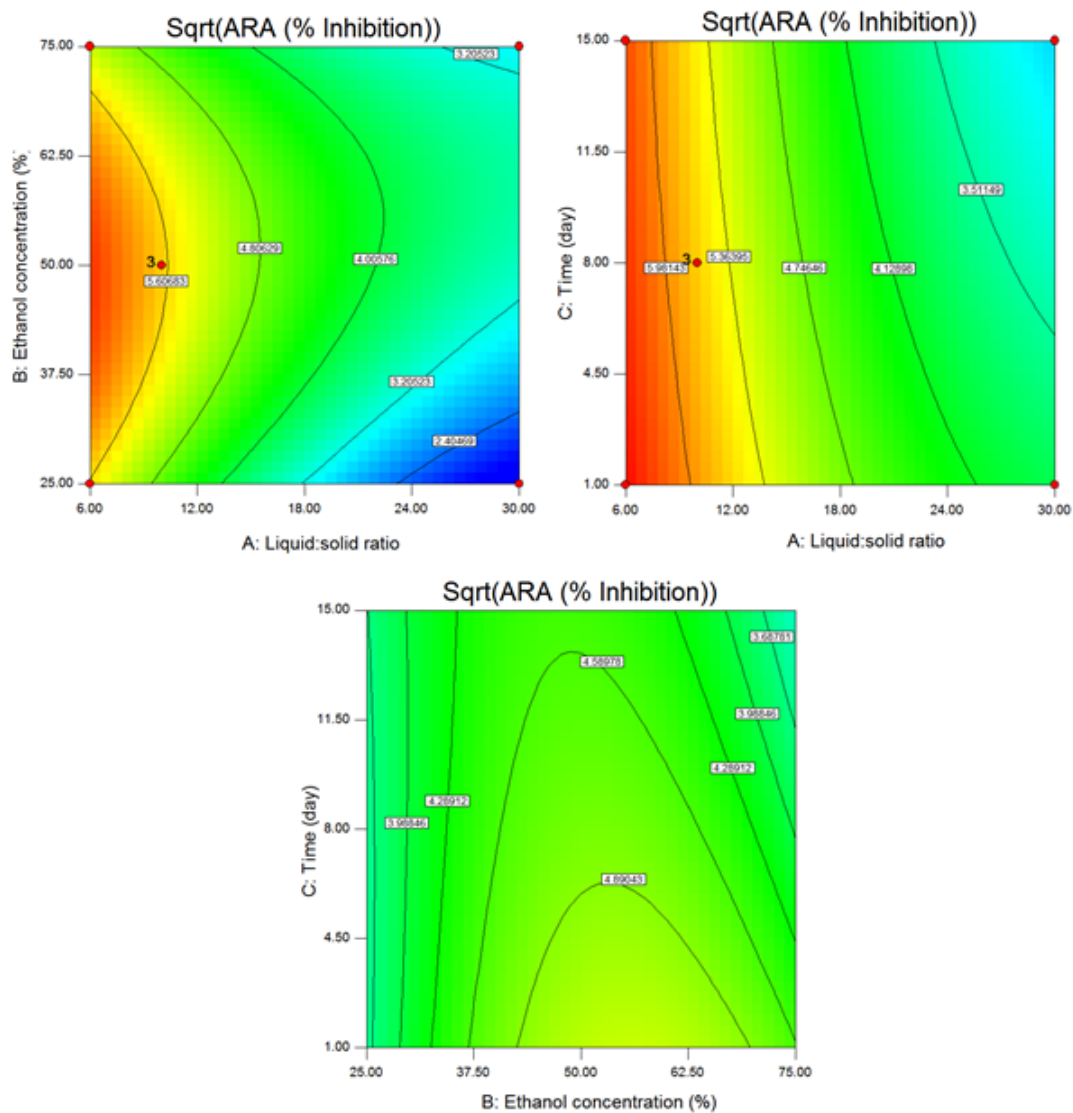


Fig. 4 Effect of processing variables on antiradical activity (ARA) of *O. onites*

The extract yield which is important for the economic reasons in the tincture manufacturing process was also considered. It was measured after filtration of the plant samples for each sample and given as volume in Table 2. As is seen in the table, the lowest tincture yield (9 ml) was calculated for the sample prepared by the addition of 6 ml ethanol to the sample. The highest one was 30 ml ethanol. As expected, tincture yield was determined to be directly related with the addition of ethanol level (Table 3), linear effect of concentration was determined to be significant statistically ($P < 0.05$) while the other two factors (ethanol concentration and time) did not show a significant effect on the tincture yield values of the samples ($P > 0.05$). Fig. 5 shows the change of tincture yield values of samples depending on the processing factors and it is clear from the figure that the tincture yield increased with the increase of liquid level in the samples.

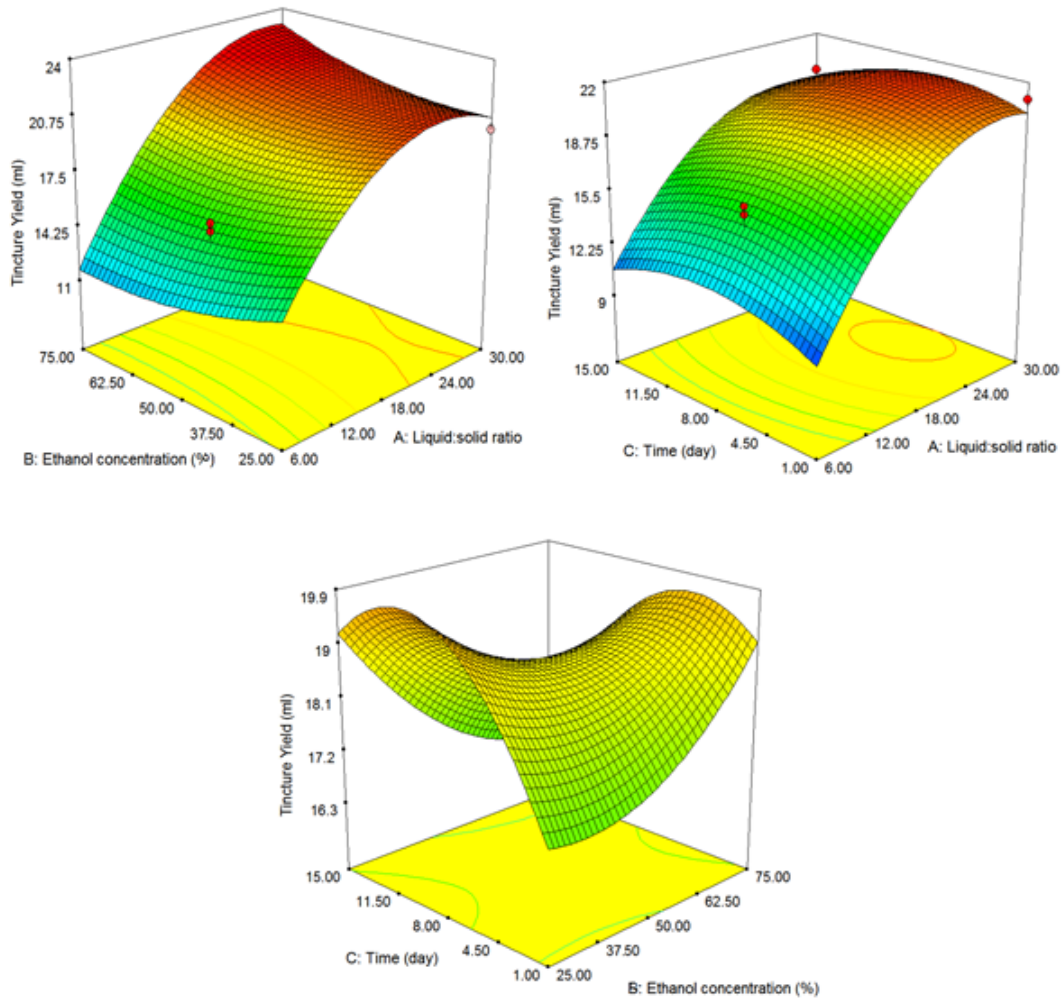


Fig. 5 Effect of processing variables on tincture yield values of *O. onites*

Optimization for the parameters

Optimization of processing variables levels for the studied parameters was performed by using desirability function and the results were given in Table 4. As is seen in the table, maximum plant total phenolic content (56.11 mg GAE/g sample) would be at the level of 30 ml liquid level, 60% ethanol and 1.14 day while the minimum value (24.33 mg GAE/L) was for the sample prepared by the addition of 6 ml ethanol (25%) for 5 day storage. It could be said that to extract the maximum level of phenolic substance from the cell of the plants, the ethanol level should be high compared to plant level which means that the increment of the liquid level in the mixture will provide the better extraction of phenolic substance. For the tincture samples, the highest phenolic content would be at 6 ml liquid per one gram plant and 50% ethanol concentration stored for 15 days while the lowest phenolic content would be at 30 ml liquid and 73% ethanol concentration. It could be said that the optimized processing parameters for the best tincture formulation having high bioactivity were 50% ethanol and 1:5 liquid/solid ratio and 15 days storage. Antiradical activity of samples was determined to similar to the phenolic results and the highest antiradical activity was for the samples prepared by 50% ethanol and 1:5 liquid/solid ratio. In addition to that, the highest tincture yield would be at 30 ml liquid while the lowest yield was for 6 ml liquid.

Table 4. Response optimization for calculation of maximum (Max) and minimum (Min) response values of bioactive parameters of *O. onites* plant extract and tincture

Parameters	A	B	C	Max	Min	Desirability
PTPC	30	60	1.14	56.11		1.000
	6	25	5		24.33	1.000
EC ₅₀	5.75	25	1.7	95.49		1.000
	30	61.5	2.3		41.48	1.000
TY	30	67	7.75	22.12		1.000
	6	72.5	15		8.94	1.000
TTPC	6	50.0	15	6733		0.953
	30	73	14		945	1.000
ARA	6	50.5	1	41.6		0.927
	30	72.5	15		3.24	1.000

^oA: Liquid/solid (ml), B: Ethanol concentration (%), C: Time (day)

[§] PTPC: Plant Total Phenolic Content (mg GAE/g sample), EC₅₀: Efficient concentration, TY: Tincture yield (ml), TTPC: Tincture Total Phenolic Content (mg GAE/L), ARA: Antiradical activity (% inhibition for 1/40 diluted samples)

Conclusion

Effects of three factors namely ethanol concentration, liquid/solid ratio and storage time on the bioactivity of final tincture sample were determined and it was concluded that these factors affected the bioactive parameters of samples significantly except storage time. *O. onites* tincture was determined to be effective in terms of the total phenolic content and antiradical activity. Increase of liquid level in the samples resulted in an increase of total phenolic content of plant materials and increase or decrease of ethanol concentration after 50% caused a decrement in the phenolic level of the tincture samples because of the solubility of the phenolic decrement. Tincture yield changed significantly depending on the liquid/solid ratio. It was concluded that the best extraction conditions for the plant sample would be at 60% ethanol concentration and 30 ml ethanol level. These parameters were determined to be 6 ml (1:5 solid/liquid) ethanol level, 50% ethanol concentration and 15 days storage for the tincture production. These results would be useful for the producers to manufacture more effective tincture samples having concentrated phenolic substance.

References

- Barros, L., Heleno, S. A., Carvalho, A. M., Ferreira, I. C. F. R. (2010). Lamiaceae often used in Portuguese folk medicine as a source of powerful antioxidants: Vitamins and phenolics. *LWT – Food Science and Technology*, 43: 544–550.
- Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G., Karadogan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15: 169–172.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28 (1): 25–30.
- Bone, K. (2003). A clinical guide to blending liquid herbs. Herbal Formulations for the individual patients. Churchill Livingstone, Elsevier, Missouri.
- Box, G.E.P., Behnken, D. W. (1960). Some new three level designs for the study of quantitative variables. *Technometrics*, 7: 455–475
- Castilho, P.C., Savluchinske-Feio, S., Weinhold, T.S., Gouveia, S.C. (2012). Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. *Food Control*, 23(2): 552–558.
- Economou, K. D., Oreopoulou, V., Thomopoulos, C. D. (1991). Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. *Journal of American Oil Chemists Society*, 68: 109–113.
- Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C. (2000). PDR for Herbal Medicines. Medical Economic Co. Inc., Montvale, NJ.
- Ivanova, D., Gerova, D., Chervenkov, T., Yankova, T. (2005). Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 145–50.
- Josifović, M., Stjepanović, L., Janković, M. M., Gajić, M., Kojić, M., Diklić, N. (1974). Flora of SR Serbia (in serbian). SANU, 6: 474–475.
- Kaplan, M., Yılmaz, M.M., Köprü, S., Gözelle, H., Muhderem, G. and Uslu, R. (2018). Investigation of the change in yield and bioactivity of dandelion (*Taraxacum officinale*) tincture depending on liquid/solid ratio and ethanol concentration. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 5(2), 163–174.
- Kaurinovic, B., Popovic, M., Vlasisavljevic, S., Trivic, S. (2011). Antioxidant capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. extracts. *Molecules*, 16: 7401–7414.
- Kikuzaki, H., Nakatani, N. (1989). Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agricultural and Biological Chemistry*, 53: 519–524.
- Kosar, M., Dorman, H.J.D., Hiltunen, R. (2005). Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food Chemistry*, 91: 525–533.
- Kosar, M., Dorman, H.J.D., Bachmayer, O., Baser, K.H.C., Hiltunen, R. (2003). An improved on-line HPLC-DPPH method for the screening of free radical scavenging compounds in water extracts of Lamiaceae plants. *Chemistry and Natural Compounds*, 39: 161–166.
- Leporatti, M. L., Ivancheva, S. (2003). Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 87: 123–142.
- Licina, B.Z., Stefanovic, O.D., Vasic, S.M., Radojevic, I.D., Dekic, M.S., Comic, L.R. (2013). Biological activities of the extracts from wild growing *Origanum vulgare* L. *Food Control*, 33: 498–504.
- Moreno, C.S., Larrauri, J.A.; Calixto, F.S. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 76: 270 – 276
- Ozbek, T., Gulluce, M., Şahin, F., Ozkan, H., Sevsay, S., Baris, O. (2008). Investigation of the antimutagenic potentials of the methanol extract of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* in the eastern Anatolia region of Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 32: 271–276.
- Ozkan, G., Baydar, H., Erbas, S. (2010). The influence of harvest time on essential oil composition, phenolic constituents and antioxidant properties of Turkish oregano (*Origanum onites* L.) *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 205–209.
- Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Uberegger, E., Lanfranco, S.C. (2002). Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. onites*) extracts related to their phenolic compound content (2002). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1645–1651.
- Sahin, F., Gulluce, M., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M., et al. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15: 549–557.
- Singleton, V.L., Rossi Jr., J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144 – 158 .
- Spiridon, I., Bodirlau, R., Teaca, C.A. (2011). Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Central European Journal of Biology*, 6: 388–396.
- Seifried, H.E., Anderson, D.E., Fisher, E.I., Milner, J.A. (2007). A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 18(9): 567–579.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N.R., Nogueira, J.M.F., Saraiva, J.A., Nunes, M.L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 2707–2714.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, M., Polissiou, M., Sokmen, A.Q. (2004). The *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum syriacum* L. var *bevanii*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84: 1389–1396.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39 (1), 44–84.
-

Trans* Yağ Asidi İçermez Beyanı Bulunan Bazı Endüstriyel Gıdaların Yağ Asidi Profilleri

Fatty Acid Profiles of Selected Industrial Foods with Zero *Trans* Fatty Acids Claim*

Bekir Alper DEMİR¹, Murat TAŞAN^{1}**

Öz


Bu araştırmada, etiketlerinde “trans yağ asidi içermez” beyanı bulunan bazı gıda gruplarındaki trans yağ asit oranlarının Türk Gıda Kodeksi'nin gıda maddelerinin genel etiketleme ve beslenme yönünden etiketleme kuralları tebliğine göre uygunluğu incelenmiştir. Günümüz insan beslenmesinde önemi giderek artan trans izomerlerin yapısı, özellikleri, oluşumuna neden olan etkenler ve trans izomer oluşumunu önlemek için uygulanabilecek alternatif metotlar belirtilmiştir. Trans yağ asitlerinin ana kaynakları olarak gösterilen margarin grubuna ilave olarak yoğun olarak tüketilen ve içerisinde önemli düzeyde lipid şortening (endüstriyel yağlar) bulunan farklı gıda grupları oluşturulmuştur. Gıda grupları olarak kek (8 adet), bisküvi (8 adet), margarin (8 adet) ve cips (5 adet) olmak üzere 29 farklı markaya ait örnekler incelenmiştir. Kapiler gaz-sıvı kromatografisi (GLC) metodu ile belirlenen yağ asidi bileşimleri üzerinden değerlendirmeler yapılmıştır. Çalışmada trans oleik asit (C18:1), trans linoleik asit (C18:2) ve trans linolenik asit (C18:3) içerikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kek, bisküvi, margarin ve cips örneklerinde ortalama toplam trans yağ asidi oranları sırasıyla; %0,17-0,92; %0,11-0,46; %0,19-0,79 ve %0,26-1,21 arasında bulunmuştur. İncelenen örneklerden bir marka hariç diğer örneklerdeki toplam trans yağ asidi içeriklerinin ilgili tebliğdeki koşullara uygun olduğu tespit edilmiştir.


Anahtar Kelimeler: Trans yağ asitleri, etiketleme, kek, margarin, bisküvi, cips.

Abstract

In this study, labeled “trans fatty acid-free” declaration of trans fatty acids in the proportions of certain food groups of the Turkish Food Codex food labeling and nutrition labeling rules in terms of compliance were examined according to communigüe. There were stated the trans isomers structures, specifications, factors to be formed and applicable alternative methods to prevent to come into being trans isomers which are getting increasing importance for human nutrition in nowadays. Several food groups which are frequently consuming and existing considerable lipid shortening (industrial fatty) were formed in additional to margarine groups which are shown as main source of trans fatty acids. Food groups as the cakes (8 pieces), biscuits (8 pieces), margarines (8 pieces) and chips (5 pieces) of the sample to be analyzed 29 different brands. Capillary gas-liquid chromatography (GLC) method for the assessment was made of the fatty acid composition. In the study, trans oleic acid (C18:1), trans linoleic acid (C18:2) and trans linolenic acid (C18:3) was determined. According to the results, total trans fatty acid contents were found in the cakes, biscuits, margarines and chips varies between %0.17 to 0.92; %0.11-0.46; %0.19-0.79 and %0.26-1.21. Except one of the examples in the samples examined, expect for trans fatty acid contents were verified to be appropriate in the circumstances notification.

Keywords: Trans fatty acids, labeling, cake, margarine, biscuit, chips.

****Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Murat Taşan, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Süleymanpaşa, Tekirdağ. E-mail: mtasan@nku.edu.tr,  ORCID: 0000-0003-1490-7626

¹Bekir Alper Demir, E-mail: balperdemir@hotmail.com,  ORCID: 0000-0001-7425-0326

Atf/Citation: Demir, B.A., Taşan, M. *Trans yağ asidi içermez beyanı bulunan bazı endüstriyel gıdaların yağ asidi profilleri. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 23-33.

*Bu çalışma Bekir Alper Demir'in yüksek lisans tezinden türetilmiştir.

Extendend Summary

The Food and Drug Administration (FDA) ruled that, effective January 1, 2006, the nutrition labels for all conventional foods and supplements must indicate the content of trans fatty acids. This ruling represents the first substantive change to food labeling. This development has affected the food sector, especially the vegetable oil sector. In this regard the national vegetable oil sector in Turkey took very important measures. As a result, margarine and shortening contents of trans fatty acids has been very serious progress. In the national vegetable oil sector, there have been intense efforts to reduce the content of trans fatty acids by the influence of various legal and voluntary regulations and nutritional requirements. Many food industry companies in Turkey are working on new alternative options to produce trans fatty acid reduced foods. As a result of pressures to reduce or completely remove the amounts of trans fatty acids in food, food producers are hesitant to use the term hydrogenated oil in their food labels. Food manufacturers not only meet nutritional demands but also face the challenge of protecting the functional performance of non-trans products. In addition, The FDA issued a formal notice of industrially produced trans fats that no longer considered “generally safe” (GRAS) oils. With regard to food products contained trans fatty acids in Turkey, Turkish Food Codex “in terms of general labeling and nutrition labeling rules of foodstuffs” was organized in 2007 an amendment to the notification. In order not to include trans fatty acids in the statement table for nutrients, trans-fatty acid should be less than 1g in 100g of total fat in the product. Due to their natural structure, it was stated that conjugated polyunsaturated fatty acids would not be included in the calculation of the amount of trans fatty acids in foods containing meat, milk and their products. declaration of trans fatty acid content in food is compulsory in Turkey. This necessity is influential in the national food industry and especially in the vegetable oil sector. At the same time, the awareness of consumers or awareness of the consumers also requires new transformations in the food industry. The food industry is rapidly moving away from the partial hydrogenation technique which is the main source of trans fatty acids or changes the parameters of this technique. In addition, alternative techniques or new vegetable oil sources are used in the sector and used in production. In this study, labeled “trans fatty acid-free” declaration of trans fatty acids in the proportions of certain food groups of the Turkish Food Codex food labeling and nutrition labeling rules in terms of compliance were examined according to communigue. There were stated the trans isomers structures, specifications, factors to be formed and applicable alternative methods to prevent to come into being trans isomers which are getting increasing importance for human nutrition in nowadays. Several food groups which are frequently consuming and existing considerable lipid shortening (industrial fatty) were formed in additional to margarine groups which are shown as main source of trans fatty acids. Food groups as the cakes (8 pieces), biscuits (8 pieces), margarines (8 pieces) and chips (5 pieces) of the sample to be analyzed 29 different brands. In the selection of these food groups, large companies which are widely known and have national production and widespread distribution network are preferred. Margarine materials are in the package margarine. All materials were originally packaged. The materials are provided with three batch numbers for each brand, with different batch numbers from local markets. Capillary gas-liquid chromatography (GLC) method for the assessment was made of the fatty acid composition. In the study, trans oleic acid (C18:1), trans linoleic acid (C18:2) and trans linolenic acid (C18:3) was determined. According to the results, total trans fatty acid contents were found in the cakes, biscuits, margarines and chips varies between %0.17 to 0.92; %0.11-0.46; %0.19-0.79 and %0.26-1.21. Except one of the examples in the samples examined, expect for trans fatty acid contents were verified to be appropriate in the circumstances notification. The results show that in the national vegetable oil sector, due to various legal and voluntary regulations and nutritional requirements, intensive efforts to reduce the content of trans fatty acids results. In addition, further studies are needed to solve various problems in product diversity and functional properties of the product. The optimization of fatty acid compounds in terms of saturated fatty acid (unsaturated fatty acid) / unsaturated fatty acid ratios is an important requirement. In our country, besides the rules for declaring the content of trans fatty acids in food labels, legal regulations which have the power to reduce the consumption of trans fatty acids and limit the content of trans fatty acids, especially in the case of Denmark, should be considered as the most effective option.

İnsan vücudunun biyolojik gereksinimleri için diyetle alınması zorunlu olan besin öğelerinden yağlar, yaşamsal etkinliklerin gerektirdiği enerjiyi büyük ölçüde sağlamalarının yanı sıra, özellikle temel yağ asitlerini de içermeleri nedeniyle, diyetimizin vazgeçilmez unsurudur (Karaali, 1997). Diğer taraftan, fizyolojik olarak çok önemli olan yağların fazla alımı veya bazı yağ asitlerinin metabolizma üzerine olumsuz etkilere sahip olması nedeniyle alımının sınırlı düzeyde tutulması gerekmektedir. Yağların aşırı miktarlarda alımı obezite gibi hastalıklara neden olurken, özellikle trans yağ asitlerinin yüksek düzeylerde alınması koroner kalp hastalıklarına yakalanma riskini artırmaktadır. Tüketilen yağların doymuş ve doymamış yağ asidi içerikleriyle bunların kandaki kolesterol düzeyi üzerine etkileri bilinmektedir. Buna göre doymuş yağ asitleri kanda kolesterol düzeyinin yükselmesine neden olurken, doymamış yağ asitlerinin bu riski azalttığı belirlenmiştir. Son yapılan çalışmalara göre trans yağ asitleri de doymuş yağ asitlerinde olduğu gibi kolesterol düzeyini artırıcı etkiye sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca trans yağ asitlerinin LDL kolesterol düzeyini artırmanın yanında HDL kolesterol düzeyini düşürdüğü ve LDL/HDL oranını da yükselttiğinden kardiyovasküler kalp hastalıkları riskini ciddi bir oranda artırmaktadır (Kayahan, 2003). Çalışmalar trans yağ asitlerinden elde edilen toplam enerjide %2'lik bir artışın kalp krizi sonucunda ölüm riskinde %23'lük bir artış ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Mozaffarian ve ark., 2006, Brouwer ve ark., 2013). Aynı zamanda, trans yağ asitlerinin Δ -6-desaturaz enzimini inhibe ederek, esansiyel yağ asitleri metabolizmasını etkilediği de belirtilmektedir. İlave olarak, trans yağ asitleri alımı ile bazı kanser türleri oluş dereceleri arasında önemli ilişkiler bulunduğu da bildirilmektedir (Innis ve ark., 1999). Trans yağ asitlerinin bazı araştırmalarda tip 2 diyabetlerini ilerlettiğine dair bir ilişki olduğu savunulmakta, çocuklarda ise alerji ve astım oluşumuna etkisi olduğu öne sürülmektedir (Taşan ve ark., 2007).

Trans yağ asitleri, insan beslenmesinde her zaman yer almıştır. Ruminant hayvanların rumenlerinde, doymamış yağ asitlerinin biyohidrojenasyonu sonucu doğal olarak az miktarlarda oluşmakta ve bu nedenle süt ve süt ürünleri ile diğer hayvansal yağlarda bulunmaktadır (Tavella ve ark., 2000, Martin ve ark., 2005). Diğer taraftan, bitkisel sıvı yağların rafinasyonunda, deodorizasyon aşamasının özellikle sıcaklık ve süresine bağlı olarak, yağ asidi bileşimi etkilenmekte ve bu yağlarda az miktarlarda trans yağ asitleri oluşabilmektedir (Taşan ve Demirci, 2003, Taşan ve ark., 2005, Taşan ve Geçgel, 2008). Buna karşılık, trans yağ asidi içeriği yüksek yağların büyük çaplı ticari üretimleri, gelişen margarin endüstrisiyle başlamıştır. Çünkü margarin ve lipid şortening formülasyonlarında yer alan kısmi hidrojenize yağların üretimi süresince, doymamış yağ asitlerinin trans izomerleri meydana gelmektedir (Taşan ve Dağlıoğlu, 2005).

Yapısında margarin ya da hidrojenize bitkisel yağlar bulunan hazır gıdalar çeşitli toplumlarda fazlaca tüketilebilmektedir. Kısmi hidrojenize yağlar kek, bisküvi, kurabiye, mayonez, cips, milföy hamuru, pizza, gofret ve benzeri birçok ürünün üretiminde ve derin yağda kızartılmış fast-food tipi gıdaların hazırlanmasında kullanılmaktadır. Özellikle kısmi hidrojenasyon tekniği kullanılarak elde edilmiş yağları önemli miktarlarda içeren snack (tatlı, çerez vb.), fast-food ürünleri (cips, hamburger, pizza vb.) ve benzer diğer ürünler çocuklar ve gençler tarafından yüksek oranlarda tüketilmektedir (Enig ve ark., 1995). Bu nedenle endüstriyel kaynaklı trans yağ asidi alımı yüksek düzeylerde gerçekleşmektedir. Söz konusu bu gıdalardan endüstriyel kaynaklı trans yağ asidi alımının tamamen engellenmesi ve/veya belirli düzeyler altında tutulması önem arz etmektedir. Bu amacın sağlanabilmesi ancak öncelikle tüketilen gıdalardaki trans yağ asidi düzeylerinin belirlenmesi ile mümkün olabilmektedir (Zock ve Katan, 1997).

Gıda-Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından gıda proseslerinin trans yağ asidi oluşumunu azaltacak yönde uygulanması konusunda tavsiyeler yapılmaktadır. 2003 yılı FAO teknik raporunun 916.serisi, trans yağ tüketiminin mümkün olduğunca düşük (toplam enerji alımının %1'inden az) olması gerektiğini belirtmektedir. Dünya çapında trans yağlar konusunda bir politika uygulayan ilk ülke 2003 yılında Danimarka olmuştur. Bunun akabinde ise, İsviçre (2008), Avusturya (2009), İzlanda (2011), Macaristan (2014) ve Norveç'te (2014) aynı limitleri getiren yönetmelikler uygulamaya koymuştur (Anonim, 2015). Bunlarla birlikte, Avrupa Birliği'nde ise gıdalarda trans yağ asidi içeriği ile ilgili yasal bir düzenleme bulunmamaktadır. Kanada'da trans yağ asidi içeriğinin 0,2 g'dan daha fazla olması halinde etiket üzerinde porsiyon başına düşen gram şeklinde belirtilmesine yönelik göze çarpan etiketleme kanunu örneği mevcuttur (Anonim, 2014). Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Gıda ve İlaç Kurumu (FDA), bütün gıda maddeleri etiketlerinde trans yağ asidi içeriğine ait bilgilerin bulundurulmasıyla ilgili kriterler belirlemiştir. Bu kriterler, etiket içeriğinde trans yağ asidi miktarının belirtilmesi zorunluluğunu 1 Ocak 2006'dan itibaren yasal olarak getirmiştir. Buna göre, ürünün porsiyonunda trans yağ asidi içeriğinin 0,5 g değerini aşması halinde ürün etiketinde ifade edilmesi zorunludur. 0,5 g değerinin altında olması halinde "trans yağ asidi içermemektedir" terimi kullanılabilir. Bununla birlikte, endüstriyel olarak ve rumen hidrojenasyonu neticesinde oluşan trans yağ asidi arasında herhangi bir ayırım yapılmamaktadır (Taşan ve Geçgel, 2008). Ayrıca trans yağ asidi miktarının mümkün olduğunca düşük olmasının gerektiğini tüketicilere tavsiye etmektedir. Bu nedenle, pek çok gıda sanayi kuruluşu da trans yağ asidi miktarı düşürülmüş gıdaları üretmeye yönelik yeni alternatif seçenekler üzerinde çalışmaktadırlar (Bensadoun, 2003). Gıdalarda trans

yağ asitleri miktarlarının azaltılması veya tamamen kaldırılması yönündeki baskılar neticesinde gıda üreticileri gıda etiketlerinde “hidrojenize yağ” terimini kullanmaktan dahi çekinmektedir. Gıda üreticileri sadece besinsel talepleri karşılama değil, aynı zamanda trans içermeyen ürünlerin fonksiyonel performanslarının (fiziksel, kimyasal ve tekstür vb. özellikler) korunması zorluklarıyla karşı karşıya kalmaktadır (Wassell ve Young, 2007).

WHO Avrupa Bölge Ofisi (Anonim, 2015) gıdalardaki trans yağ asidi içeriği sınırlandırılmadığından dolayı yüksek oranlarda trans yağ asidi içeren çok sayıda gıda ürününün hala Avrupa piyasasında bulunduğu belirtilmektedir. Üreticilerin gönüllü olarak yaptıkları düzenleme ile Avrupa Birliği’ndeki çoğu gıda ürününün her 100 g yağ için en fazla %2 oranında trans yağ içerdiği, fakat bunun ülkeden ülkeye değiştiği ifade edilmektedir. Raporla göre, Avrupa Birliği ülkeleri arasında en yüksek trans yağ oranına sahip ülkeler Polonya, Bulgaristan, Slovenya, Hırvatistan ve İsveç olarak verilmektedir. Bununla birlikte, trans yağ asidi tüketiminin olumsuz etkilerine yönelik olarak kuvvetli kanıtlar ve artan toplumsal bilinç, Avrupa gıda üreticilerinin üzerindeki trans yağ asidini azaltmaya yönelik baskıyı arttırmıştır. Buna bağlı olarak, birçok ürün yeniden formüle edilerek trans yağ asidi içerikleri düşürülmüştür (Craig-Schmidt, 2006). FDA endüstriyel olarak üretilen trans yağların artık “genellikle güvenilir kabul edilen” (GRAS) yağlardan olmadığını belirleyen resmi bildirimini yayımlanmıştır. 18 Haziran 2018 için öngörüldüğü şekilde bunun tamamen uygulamaya konulması halinde, bu durum endüstriyel olarak üretilen trans yağların onaylanmamış gıda katkısı konumunda olacağı ve bunları içeren ürünlerin yasal olarak satılmayacağı anlamına geldiği belirtilmektedir (FDA, 2013). Dolayısıyla ABD’de üreticilerin gıda ürünlerinde kısmi hidrojenize yağların kullanımına son vermeleri gerekecektir.

Ülkemizde içeriğinde trans yağ asitleri bulunan gıda ürünleri ile ilgili olarak, Türk Gıda Kodeksi “gıda maddelerinin genel etiketleme ve beslenme yönünden etiketleme kuralları” tebliğinde 2007 yılında yapılan değişiklikle (Tebliğ No: 40) bir takım düzenlemelere gidilmiş ve besin öğeleri ile ilgili beyan tablosunda “trans yağ asidi içermez” ifadesinin yer alabilmesi için trans yağ asidinin üründeki toplam yağın 100g’ında 1g’dan az olması koşulu getirilmiştir (Anonim, 2007). Ayrıca tebliğde doğal yapıları nedeniyle et, süt ve bunların ürünlerini içeren gıdalardaki trans yağ asidi miktarının hesaplanmasında konjuge çoklu doymamış yağ asitlerinin hesaba dâhil edilmeyeceği de ifade edilmiştir. Diğer taraftan, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Türk Gıda Kodeksi “Gıda Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme” yönetmeliğini (Anonim, 2017) yayımlayarak beslenme bildirimlerinin içeriğinde trans yağ asitleri konusunda ilave ve yeni bir düzenleme getirmiştir. Söz konusu düzenleme ilgili yönetmeliğin 35/1. maddesi ç bendinde “Diğer mevzuat hükümleri saklı kalmak kaydıyla; yağ, doymuş yağ, karbonhidrat, şekerler, protein ve tuz miktarları bilgilerine ilave olarak, sadece ilgili gıda kodeksinde tanımlanan sürülebilir yağ/margarinler, yoğun yağlar, bitkisel yağlar ve bu yağları içeren gıdaların %2’den fazla trans yağ içermesi durumunda trans yağ miktarı bildirilir” şeklinde yer almaktadır. Ayrıca 31 Aralık 2019 tarihine kadar ilgili yönetmelik (Anonim 2017) hükümlerine uyulması zorunluluğu da getirilmiştir.

Ülkemizde 2007 yılından bu yana birçok üretici firma gönüllü olarak bu konuda etiket bilgilerinde düzenlemeye gitmekle birlikte ürünün toplam yağındaki trans yağ asidi oranını %1’in altına indirdiklerini de “trans yoktur” ibaresiyle etiketlerinde beyan etmektedirler. Ülkemizdeki büyük margarin üreticilerinin dünyada en gelişmiş modifikasyon tekniklerini uygulamaları bu olumlu tabloyu ortaya çıkardığı belirtilmektedir. Diğer taraftan, WHO bulaşıcı olmayan hastalıkların önlenmesi ve kontrolü aksiyon planı (2013-2020) kapsamında üye ülkelere endüstriyel üretim ile oluşan trans yağ asitleri yerine doymamış yağ asidi oranı yüksek yağların kullanılması için gerekli tedbirlerin hayata geçirilmesi çağrısında bulunmaktadır. Uluslararası Gıda ve İçecek İttifakı (IFBA) üyeleri, tüketicilerin dengeli beslenmesine ve sağlıklı bir yaşam tarzını benimsemelerine yardımcı olmak amacıyla, ürünlerinde bulunan trans yağ asitleri miktarını aşamalı olarak azaltma taahhüdünde bulunmaktadır. IFBA üyeleri yaptıkları açıklamada, en geç 2018 yılı sonuna kadar dünya genelinde ürünlerinde bulunan trans yağ asidi miktarını 100 gramda 1 gramın altına indirmeyi taahhüt etmektedir (Anonim, 2016).

Bu çalışmada, etiketlerinde “trans yağ asidi içermez” beyanı bulunan bazı endüstriyel gıda gruplarındaki trans yağ asidi içeriklerinin Türk Gıda Kodeksi’nin “Gıda maddelerinin genel etiketleme ve beslenme yönünden etiketleme kuralları tebliğinde değişiklik yapılması hakkında tebliğ, No. 40” göre uygunluğu incelenmiştir. Ülkemizde gıda maddelerindeki trans yağ asidi içeriklerinin beyan zorunluluğu ulusal gıda endüstrisine ve özellikle de bitkisel yağ sektörüne etkili olmaktadır. Aynı zamanda tüketicilerin bilgilendirilmeleri veya bilinçlenmeleri de gıda endüstrisinde yeni dönüşümleri gerekli kılmaktadır. Gıda endüstrisi trans yağ asitlerinin başlıca kaynağı olan kısmi hidrojenizasyon tekniğinden hızla uzaklaşmakta veya bu tekniğin parametrelerini değiştirmektedir. Bunun yanında, alternatif teknikler veya yeni yağ kaynakları sektörde değerlendirilmekte ve üretimde kullanılmaktadır. Bu çalışma, son yasal düzenlemelerin gıda endüstrisine etkilerinin anlaşılmasında bir kesit sunmayı da amaçlamaktadır.

Materyal ve Metot

Materyal

Materyal olarak, dört farklı endüstriyel gıda grubu seçilmiştir. Bu gruplar; margarin, kek, bisküvi ve cips şeklinde oluşturulmuştur. Bilindiği üzere, insan beslenmesinde trans yağ asitlerinin ana kaynakları endüstriyel olarak üretilen margarin ve lipid şortening grupları (endüstriyel yağlar) gösterilmekte ve ilgi bu gruplar üzerine odaklanmaktadır. Margarinler direkt olarak tüketiciye ulaşmasına rağmen lipid şorteningler genellikle çeşitli endüstriyel gıdaların formülasyonlarında yer alarak ulaşmaktadır. Materyal seçiminde önce “trans yağ asidi içermez” beyanı bulunan gıda grupları belirlenmiştir. Daha sonra seçilen margarin grubuna ilave olarak yoğun olarak tüketilen ve içerisinde önemli düzeyde lipid şortening bulunan yukarıda isimleri verilen 3 farklı gıda grubu daha oluşturulmuştur. Bu gıda gruplarına ait marka seçimlerinde ise, yaygın olarak bilinen, ulusal düzeyde üretim yapan ve yaygın dağıtım ağı bulunan büyük firmalar tercih edilmiştir. Buna göre, ifade edilen firmalara ait 8 farklı markalı margarin, 8 farklı markalı kek, 8 farklı markalı bisküvi ve 5 farklı markalı cips materyal olarak kullanılmıştır. Sonuçta toplam 29 farklı marka değerlendirmeye alınmıştır. Materyaller, analiz edileceye kadar +4°C’de orijinal ambalajı ile muhafaza edilmiştir.

Margarin materyalleri paket margarin sınıfındadır. Tüm materyaller orijinal ambalajlı halde alınmıştır. Materyaller, lokal marketlerden farklı parti numaralarına sahip olacak şekilde, her bir marka için üç adet olmak üzere temin edilmiştir. Her bir marka kendi gıda grubu içerisinde kodlanmıştır (1, 2, 3... şeklinde).

Metot

Seçilen gıda maddelerinden yağların ekstraksiyonu

Gıda gruplarından kek, bisküvi ve cipslerin yağ ekstraksiyonları ICC (1982)’nin 136 nolu metodunda verilen koşullara göre gerçekleştirilmiştir. Margarin grubunda ise yağ fazı *Torres ve ark. (2002)*’ye göre ayrıştırılmıştır. 20g örnek 50°C’de 20 dakika süre içerisinde eritilerek santrifüj yardımı ile alınmıştır. Yağ fazı, susuz sodyum sülfat (NaSO₄) ile kurutulmuştur. Yağ oranları gıda maddelerinin toplam ağırlığı üzerinden % olarak ifade edilmiştir.

Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanması ve kapiler gaz-sıvı kromatografisine enjeksiyonu

Ekstraksiyonla elde olunan yağ örnekleri AOCS (1992)’nin Ce 2-66 nolu metoda göre BF3-metanol ile yağ asidi metil esterlerine dönüştürülmüştür. Yağ asidi metil esterleri, Agilent 6890 Series kapiler gaz-sıvı kromatografisinde (GLC) alev iyonizasyon detektörü (FID) ve Agilent 6890 Series kromatografi cihazında analiz edilmiştir. Kullanılan kolon silika kapiler kolon (DB-23 60 m x 0,25mm i.d., film kalınlığı: 0,2µm). Kolon sıcaklığı; kolon fırın programı ile 130oC’de 10 dakika bekletildikten sonra 5 kademelik artışla 180oC’ye, sonrasında 3 kademelik artışla 230oC’ye getirilerek bitirilmiştir. Enjeksiyon ve detektör sıcaklıkları 250, split oranı 1:100, enjeksiyon hacmi ise 1µl’dir. Taşıyıcı gaz olarak da akış hızı 1 ml/dk olan helyum gazı kullanılmıştır. Yağ asidi metil esteri standartları Nu-Chek-Prep Inc.’den (Elysian, MN) temin edilmiştir.

İstatistiksel analizler

Elde edilen veriler her bir gıda grubunda her bir marka için aritmetik ortalama halinde verildi. Elde edilen verilere tesadüfi blokları deneme desenine göre SPSS paket programı (SPSS Inc., Chicago, IL) kullanılarak varyans analizleri uygulandı. Önemli bulunan varyasyon kaynaklarına Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı. Çizelgelerde ortalama veriler arasındaki farkın önem durumu harflendirme sistemi ile gösterildi.

Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada materyal olarak değerlendirilen dört farklı endüstriyel gıda grubuna ait yağ oranları, yağ asidi bileşimleri ve trans yağ asidi içerikleri belirlenmiş olup sonuçlar *Çizelge 1, Çizelge 2, Çizelge 3 ve Çizelge 4*’de verilmiştir. Örneklerde trans yağ asitlerine rastlanmış olup bu yağ asitleri toplam trans oleik asit (C18:1), toplam trans linoleik asit (C18:2), toplam trans linolenik asit (C18:3) olarak ifade edilmiştir. Bu asitlerin toplamı ise toplam trans yağ asitleri olarak belirtilmiştir. İlgili Çizelgelerde ayrıca trans yağ asitleri dışında belirli bazı doymuş ve doymamış yağ asitlerine de yer verilmiştir. Ancak sonuçlar ağırlıklı olarak trans asitleri üzerinden değerlendirilmiştir.

Kek grubuna ait sonuçlar

Çizelge 1’e bakıldığında, sekiz farklı markaya ait kek örneklerindeki toplam trans yağ asitleri % 0,17 ile % 0,92 arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek toplam trans yağ asit miktarı 3 no’lu markaya ait kek örneğinde, en düşük toplam trans yağ asit miktarının ise 1 no’lu markaya ait kek örneğinde belirlendiği görülmektedir. Sekiz farklı markaya ait keklerdeki trans oleik asit (C18:1) değerinin % 0,09-0,37 arasında değişmekte olup, incelenen tüm kek örneklerinde trans oleik asit (C18:1) varlığına rastlanılmıştır. Diğer taraftan, incelenen tüm kek örneklerinde ortalama yağ oranları % 16,0-31,9 aralığında değişim göstermiştir.

Çizelge 1. Kek örneklerin ortalama yağ oranları, yağ asidi bileşimleri ve trans yağ asidi içerikleri ^a
Table 1. The average fat content, fatty acid composition and trans fatty acid content in the cakes ^a

Yağ asitleri (%)	Kek grubu marka kodları							
	1	2	3	4	5	6	7	8
C16:0	32,35c	35,92cd	17,88a	22,43b	35,33cd	39,74d	22,45b	23,52b
C18:0	8,92d	7,56c	5,62a	6,65b	9,82	7,82cd	8,11d	5,49a
C18:1	26,89b	19,46a	32,05c	29,56bc	38,43d	33,23cd	32,29c	29,12bc
Σ C18:1 trans	0,11a	0,22b	0,12a	0,12a	0,09a	0,10a	0,24b	0,37c
C18:2	26,73	33,96	40,21	37,50	11,91	15,45	33,67	36,56
Σ C18:2 trans	-	0,19c	0,80d	0,12a	0,16bc	0,14ab	0,10a	0,13a
C18:3	0,92c	0,69bc	-	-	0,12a	0,26a	0,34ab	1,32d
Σ C18:3 trans	0,06b	0,02a	-	-	0,03a	0,02a	0,03a	-
Diğer yağ asitleri b	4,02d	1,98a	3,32bc	3,62cd	4,11d	3,24bc	2,77b	3,49c
Σ trans yağ asidi	0,17a	0,60c	0,92d	0,24a	0,28ab	0,26a	0,37b	0,50c
Kek yağ içeriği (%)	16,0a	24,6cd	21,7b	27,2d	26,4d	27,1d	23,5bc	31,9e

^a Sonuçlar her bir marka için üç tekerrürün ortalaması olarak verildi. Yağ asitlerine ait değerler toplam yağ asitleri metil esterlerinin yüzdesi olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($P < 0,01$). Çizelgedeki istatistiksel farklılık değerlendirmesi yatay hizadaki harflendirmeler arasında yapıldı.

^b 8, 10, 12, 14, 17, 20, 22, 24 karbonlu doymuş yağ asitleri ve 16, 17, 20, 22, 24 karbonlu-tek çift bağlı doymamış yağ asitleri toplamıdır.

Huang ve ark. (2006) çalışmalarında, keklerdeki toplam trans yağ asidi miktarlarını % 0,51-1,77 arasında bulmuştur. En önemli trans yağ asidi türünün trans oleik asit (C18:1) olduğunu belirtmişlerdir. İncelediğimiz kek örneklerinde de en önemli trans yağ asidi türünün trans oleik asit (C18:1) olduğu belirlenmiştir. Geçmiş yıllarda (Dağlıoğlu ve ark., 2002), ülkemize ait keklerdeki trans yağ asidi miktarının % 4,6 olduğu belirtilmiştir. Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada (Karabulut, 2007) ise 5 adet mini kek ve 4 adet kaplamalı kek örneği incelenmiş ve sonuç olarak mini keklerde toplam trans yağ asidi % 2,40, kaplamalı keklerde ise % 5,33 oranlarında belirlenmiştir. Başka bir çalışmada (Çağlav, 2008), keklerdeki toplam trans yağ asidi içeriğinin ortalama %1,08 düzeyinde tespit edilmiştir. Çakmak ve ark. (2011) çalışmalarında keklerdeki toplam trans yağ asidi oranını % 0-5,05 aralığında belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise keklerdeki toplam trans yağ asidi miktarının ortalama % 0,42 olduğu belirlenmiştir. Literatürde yer alan sonuçlar incelendiğinde, hem dünyadaki hem de ülkemizdeki kek ürünlerinde toplam trans yağ asidi içeriğinin hızla düştüğü anlaşılmaktadır. Bilhassa literatürde 1970-1990 yılları ile 2000-2010 yılları karşılaştırıldığında büyük farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Diğer taraftan, Trattner ve ark. (2015), bu ürün kategorisinde doymuş yağ asidi oranlarında, bilhassa palmitik asit içeriklerinde, artışlar görüldüğünü vurgulamaktadırlar.

Bisküvi grubuna ait sonuçlar

Çizelge 2 incelendiğinde, sekiz farklı markaya ait bisküvi örneklerindeki toplam trans yağ asitlerinin % 0,11-0,46 arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek toplam trans yağ asit miktarı 3 no'lu markaya ait bisküvi örneğinde, en düşük toplam trans yağ asit miktarı ise 4 no'lu markaya ait bisküvi örneğinde belirlenmiştir. İncelenen tüm bisküvi örneklerinde trans linoleik asit (C18:2) belirlenmiş olup % 0,01-0,40 aralığında değişim göstermiştir. Trans oleik asit (C18:1) 3 no'lu markaya ait bisküvi örneğinde tespit edilemez iken, diğer örneklerde ise % 0,09-0,21 aralığında belirlenmiştir. Diğer taraftan, incelenen tüm bisküvi örneklerinde ortalama yağ oranları % 14,8-29,1 aralığında değişim göstermiştir.

Çizelge 2. Bisküvi örneklerin ortalama yağ oranları, yağ asidi bileşimleri ve trans yağ asidi içerikleri ^a
Table 2. The average fat content, fatty acid composition and trans fatty acid content in the biscuits ^a

Yağ asitleri (%)	Bisküvi grubu marka kodları							
	1	2	3	4	5	6	7	8
C16:0	33,41d	30,56cd	27,89bc	18,95a	25,54b	16,05a	42,52e	35,20d
C18:0	7,09d	6,29cd	9,74e	4,27a	5,30b	5,26b	4,29a	6,01bc

(Çizelge 2 devamı)

C18:1	32,26de	36,80ef	26,91b	19,21a	27,61b	38,37f	26,67b	26,34b
Σ C18:1 trans	0,11a	0,14b	-	0,09a	0,12ab	0,19cd	0,18c	0,21d
C18:2	25,04ab	23,92a	30,78bc	55,35f	38,24d	35,57cd	21,31a	30,27b
Σ C18:2 trans	0,07c	0,03a	0,40c	0,01a	0,02a	0,03a	0,10b	0,09b
C18:3	0,22b	0,16b	0,07a	0,33c	0,67d	0,75d	0,27bc	0,09a
Σ C18:3 trans	-	0,05cd	0,06d	0,01a	0,03bc	-	0,01a	-
Diğer yağ asitleri b	1,80a	2,05ab	4,15cd	1,78a	2,47b	3,78c	4,65d	1,79a
Σ trans yağ asidi	0,18ab	0,22bc	0,46d	0,11a	0,17ab	0,22bc	0,29c	0,30c
Bisküvi yağ içeriği (%)	29,1d	26,4c	21,1b	25,9c	25,6bc	15,2a	14,8a	20,6b

^a Sonuçlar her bir marka için üç tekerrürün ortalaması olarak verildi. Yağ asitlerine ait değerler toplam yağ asitleri metil esterlerinin yüzdesi olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($P<0,01$). Çizelgedeki istatistiksel farklılık değerlendirme yatay hizadaki harflendirmeler arasında yapıldı.

^b 8, 10, 12, 14, 17, 20, 22, 24 karbonlu doymuş yağ asitleri ve 16, 17, 20, 22, 24 karbonlu-tek çift bağlı doymamış yağ asitleri toplamıdır.

Sharp (2001), yirmi endüstriyel bisküvi örneğinde sadece bir markanın üretiminde hidrojene yağlar kullanıldığı ve sadece % 6,5 oranında trans oleik asit içerdiğini belirtmiştir. İncelediğimiz bisküvi örneklerinde en önemli trans yağ asidi türünün trans oleik asit (C18:1) olduğu belirlenmiş olup ortalama % 0,15 oranında trans oleik asit bulunmuştur. Dağlıoğlu ve ark. (2000) çalışmasında, ülkemizde üretilen bisküvilerin farklı oranlarda trans C18:1, trans C18:2 ve trans C18:3 içerdiklerini, bu farklılıkların bisküvi tipi, firma farklılığı ve en çok da üretimde farklı yağ asidi bileşimlerine sahip şorteninglerin kullanıldığını, bisküvi çeşitlerinin %1-30,5 oranında toplam trans yağ asidi içerdiği belirlenmiştir.

Brezilya kaynaklı kraker ve bisküvilerde (Martin ve ark., 2005) sırasıyla trans C18:1 % 8,8-28,3; trans C18:2 % 0,0-0,15; trans C18:3 % 0,0-0,75 arasında tespit edilmiştir. Huang ve ark. (2006) ise bisküvilerde % 0,51-1,77 aralığında trans yağ asidi bulmuştur. Kandhro ve ark. (2008), Pakistan bisküvilerinde % 9,3-34,9 arasında yüksek miktarda toplam trans yağ asidi belirlemiştir. Yakın tarihlerde yapılan çalışmalarda ise, Kadioğlu (2009) bisküvilerde trans oleik asit (18:1) oranlarını % 0,68-3,11 aralığında belirlemiştir. Kala (2014), Hindistan'da üretilen bisküvilerde toplam trans yağ asidi miktarını % 0,7-6,9 aralığında ve Santos ve ark. (2015), Portekiz kaynaklı bisküvilerde toplam trans yağ asidi miktarını % 0,08-0,94 aralığında belirlemiştir. Bu çalışmada incelediğimiz sekiz farklı markalı bisküvi çeşidindeki ortalama toplam trans yağ asidi miktarının % 0,24 olduğu tespit edilmiştir. Etiketlerinde "trans yağ içermez" ifadesi bulunan sekiz farklı bisküvideki toplam trans yağ asit miktarlarının %1'in altına düşürüldüğü ve firmaların beyan ettikleri değere uygun hareket ettikleri tespit edilmiştir. Kek ürünlerinde olduğu gibi, bisküvi ürünlerinde de hem dünya hem de ülkemiz literatürüne bakıldığında, trans yağ asidi içeriklerinin hızla düşürüldüğü görülmektedir. Bu ürünlerde kullanılan lipid şorteninglerin kısmi hidrojenasyon tekniğine alternatif tekniklerle üretilmesi trans yağ asitlerinin azaltılmasını sağlarken, bazı ürünlerde doymuş yağ asidi oranlarının da yüksek çıkmasına neden olmaktadır.

Margarin grubuna ait sonuçlar

Çizelge 3'te sekiz farklı markaya ait margarin örneklerindeki toplam trans yağ asidi miktarlarının % 0,19-0,79 arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek toplam trans yağ asit miktarı % 0,79 ile 1 no'lu markaya ait margarin örneğinde belirlenmiştir. Margarin örneklerindeki trans oleik asit (C18:1) değerleri % 0-0,37 arasında değişmektedir. Margarin markalarının yedisinde toplam trans oleik asit (C18:1) belirlenmiştir. Toplam trans linoleik asit (C18:2) miktarları ise % 0-0,42 arasında değişmektedir. Margarin markalarının üçünde trans linolenik asit (C18:3) belirlenmemiştir.

Çizelge 3. Margarin örneklerin ortalama yağ oranları, yağ asidi bileşimleri ve trans yağ asidi içerikleri ^a

Table 3. The average fat content, fatty acid composition and trans fatty acid content in the margarine ^a

Yağ asitleri (%)	Margarin grubu marka kodları							
	1	2	3	4	5	6	7	8
C16:0	35,56cd	37,95d	30,81b	24,22a	39,22de	41,25f	32,97bc	35,28cd
C18:0	5,21ab	6,43b	9,34e	6,68b	7,49d	6,74bc	4,22a	4,78a

(Çizelge 3 devamı)

C18:1	29,04ab	31,87b	33,62bc	33,31b	34,29c	36,50d	37,52d	27,91a
Σ C18:1 trans	0,37d	-	0,13ab	0,10a	0,10a	0,20c	0,09a	0,15b
C18:2	14,79c	13,15b	16,36d	12,82b	12,82b	9,27a	13,32bc	17,42d
Σ C18:2 trans	0,42d	0,19a	0,30b	0,35c	0,35c	0,32bc	-	0,26ab
C18:3	0,45b	0,76c	0,33ab	0,97d	0,97d	0,21a	1,39e	0,55b
Σ C18:3 trans	-	-	0,12bc	0,09ab	0,09ab	0,05a	0,17c	-
Diğer yağ asitleri b	14,16c	9,65b	8,99b	4,67a	4,67a	5,46a	10,32b	13,65c
Σ trans yağ asidi	0,79c	0,19a	0,55b	0,54b	0,54b	0,57b	0,26a	0,41b
Margarin yağ içeriği (%)	80,3c	42,8a	60,8b	61,4b	61,4b	60,5b	62,2b	80,9c

^a Sonuçlar her bir marka için üç tekerrürün ortalaması olarak verildi. Yağ asitlerine ait değerler toplam yağ asitleri metil esterlerinin yüzdesi olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($P < 0,01$). Çizelgedeki istatistiksel farklılık değerlendirilmedi yatay hizadaki harflendirmeler arasında yapıldı.

^b 8, 10, 12, 14, 17, 20, 22, 24 karbonlu doymuş yağ asitleri ve 16, 17, 20, 22, 24 karbonlu-tek çift bağlı doymamış yağ asitleri toplamıdır.

Wagner ve ark. (2000) çalışmalarında margarinlerde trans yağ asidi oranının % 1'in altında olduğunu beyan edenlerde % 0,3-0,8 ve diğer beyan etmeyenlerde % 3,0-3,7 olduğunu belirlemiştir. Beninca ve ark. (2009) çalışmalarında, Brezilya kaynaklı margarinlerin %13'ünde etiketleme düzenlemelerinin ihlal edildiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada sekiz farklı üreticiye ait markalarda sonuçlara göre, üreticilerin etiketleme düzenlemelerine uygun hareket ettikleri ve toplam trans yağ asidi miktarının % 1'in altına düşürüldüğü anlaşılmaktadır. Diğer taraftan, Gagliardi ve ark. (2009) çalışmalarında, trans yağ asidi içeriğinin düşürülmesine rağmen yüksek düzeyde doymuş yağ asidi (çoğunlukla palmitik asit) içerdiğini belirlemiştir. Toplam trans yağ asidi içeriklerini, Kroustallaki ve ark. (2011) margarinlerde % 0,16-0,97 aralığında, Çıraklı (2011) paket ve kase margarinlerde % 0-1,11 aralığında, Ergönül (2013) margarinlerde % 1,1-2,2 aralığında belirlemişlerdir. Ülkemizde yapılan daha önceki benzer çalışmalara bakıldığında (Kayahan ve Tekin, 1994, Gündüç, 1995, Taş, 1998, Arıcı ve ark., 2002, Başol ve Taşan, 2008, Dabanoğlu, 2005, Karabulut ve Turan, 2006), geçmiş yıllarda margarinlerin toplam trans yağ asidi içeriklerinin çok daha yüksek oranlarda olduğu, trans yağ asitlerinin sağlıkla ilişkisini ortaya koyan araştırmalar, çeşitli sağlık kuruluşlarının tavsiyeleri ve yasal düzenlemeler sonucunda, dünyada yaşanan gelişmelere paralel olarak yakın zaman içerisinde bu oranın hızla düşürüldüğü anlaşılmaktadır. Aynı zamanda, ülkemizdeki etiketleme düzenlemesi trans yağ asitlerinin azaltılması veya kaldırılmasını teşvik eden bir rol oynamıştır. Diğer taraftan, Danimarka'daki trans yağ asidi yasal limitinin uygulanması örneği değerlendirildiğinde, trans yağ asitleri yerine doymuş yağ asitlerinin başlıca alternatif teşkil ettiği de görülmektedir. WHO Avrupa Bölge Ofisi (Anonim, 2015) raporunda, küçük ve orta ölçekli firmalar tarafından üretilen/kullanılan ve muhtemelen trans yağ asidi içeriği yüksek yağ kaynaklarının ambalajsız ürünlerin formülasyonlarında yer almasını azaltmada veya engellemede zorunlu etiketleme ve gönüllü reformülasyon uygulamalarının etkili olamayacağı ve düşük sosyoekonomik gruplar için bu durumun dezavantaja neden olacağı vurgulanmaktadır.

Cips grubuna ait sonuçlar

Çizelge 4 incelendiğinde, beş farklı markaya ait cips örneklerindeki toplam trans yağ miktarının %0,26-1,21 arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek toplam trans yağ asit miktarı 3 no'lu markaya ait cips örneğinde belirlenmiştir. En düşük toplam trans yağ asit miktarı 1 no'lu markaya ait cips örneğinde belirlenmiştir. Tüm markalara ait cips örneklerinde trans oleik asit (C18:1) belirlenirken, bu değer %0,07-0,99 arasında değişmektedir. Benzer olarak, tüm markalara ait cips örneklerinde belirlenen trans linoleik asit (C18:2) değerleri %0,15-0,27 aralığındadır.

Çizelge 4. Cips örneklerin ortalama yağ oranları, yağ asidi bileşimleri ve trans yağ asidi içerikleri ^a

Table 4. The average fat content, fatty acid composition and trans fatty acid content in the chips ^a

Yağ asitleri (%)	Cips grubu marka kodları				
	1	2	3	4	5
C16:0	39,76c	29,08a	41,19c	39,12c	35,43b
C18:0	5,27ab	4,76a	5,89bc	6,23c	4,46a

(Çizelge 4 devamı)

C18:1	42,54bc	47,92d	38,20a	40,29ab	44,78cd
Σ C18:1 trans	0,07a	0,16b	0,99d	0,25c	0,09a
C18:2	9,33a	16,11c	10,09ab	12,36b	12,56b
Σ C18:2 trans	0,15b	0,27c	0,17b	0,10a	0,18b
C18:3	0,43b	0,74c	0,21a	0,30a	0,29a
Σ C18:3 trans	0,04a	0,03a	0,05a	-	-
Diğer yağ asitleri b	2,41b	0,93a	3,21c	1,35a	2,21b
Σ trans yağ asidi	0,26a	0,46b	1,21c	0,35a	0,27a
Cips yağ içeriği (%)	24,1ab	31,6c	20,3a	28,4bc	32,8c

^a Sonuçlar her bir marka için üç tekerrürün ortalaması olarak verildi. Yağ asitlerine ait değerler toplam yağ asitleri metil esterlerinin yüzdesi olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($P < 0,01$). Çizelgedeki istatistiksel farklılık değerlendirme yatay hizadaki harflendirmeler arasında yapıldı.

^b 8, 10, 12, 14, 17, 20, 22, 24 karbonlu doymuş yağ asitleri ve 16, 17, 20, 22, 24 karbonlu-tek çift bağlı doymamış yağ asitleri toplamıdır.

Aro ve ark. (1998) patates cipslerinde toplam trans yağ asidi düzeyini % 0,67 olarak belirlenmiştir. Yiğit (2007) çalışmasında cipslerdeki toplam trans yağ asidi miktarını %0,02-1,35 bulmuştur. Wijesundera ve ark. (2007), Avustralya’da kızartılmış patates cipslerinde trans yağ asidi değerinin yaklaşık % 0,1-0,2 olduğunu belirtmiştir. Fernandez (2000) ise, patates cipslerindeki bu değeri % 0,9 olarak belirlemiştir. Huang ve ark. (2006) çalışmalarında oldukça yüksek bir değer olarak patates cipslerindeki % 6,39’u vermektedir. Benzer olarak, Semma (2002)’de Japonya’daki patates cipslerinde bu değeri % 11 olarak bulmuştur. Yüksek değerler cipslerin üretiminde kullanılan yağların formülasyonlarında kısmi hidrojenize yağların olduğunu göstermektedir. Cipslerdeki trans oleik asit (C18:1) miktarının kaynağı büyük ihtimalle kısmi hidrojenize teknoloji ile üretilen yağlardır. Trans linoleik (C18:2) ve trans linolenik (C18:3) asitleri ise rafinasyon teknoloji sırasında ve/veya cipslerin kızartılmaları sırasında uygulanan yüksek sıcaklıklardan kaynaklanabilmektedir.

Çalışmada beş farklı markaya ait cips örneklerinde belirlenen ortalama toplam trans yağ asidi düzeyi % 0,51 olup, incelediğimiz örneklerde bir markaya ait örneklerin ortalama değerleri (% 1,2; 3 no’lu marka) hariç, toplam trans yağ asidi miktarının %1’in altında olduğu anlaşılmaktadır. Verilen literatürlerden de anlaşıldığı üzere, cipslerdeki toplam trans içeriği geniş bir aralıkta değişmektedir. Ancak dünyada ve de ülkemizde çeşitli yasal veya gönüllü düzenlemelerin uygulanması ile bu değerlerin geçmişe nazaran düşüş gösterdiği de görülebilmektedir. Ulusal bitkisel yağ sektörümüzde margarin ve lipid şortening alt sektörü hem sahip olduğu son derece gelişmiş üretim teknolojileri hem de üretim kapasitesi ile önemli bir yere sahiptir. Dünya yağ sektöründe yaşanan gelişmelerin etkisiyle, Avrupa Birliği politikalarına paralel olarak margarin ve lipid şortening ürünlerinin içerikleri konusunda hızlı bir dönüşüm yaşanmaktadır.

Sonuç

Bu araştırmada, etiketlerinde “trans yağ asidi içermez” beyanı bulunan bazı gıda gruplarındaki trans yağ asit oranlarının Türk Gıda Kodeksi’nin gıda maddelerinin genel etiketleme ve beslenme yönünden etiketleme kuralları tebliğine göre uygunluğu incelenmiş olup, analiz edilen kek, bisküvi, margarin ve cips gıda gruplarına ait örneklerde belirlenen yağ asidi bileşimi verilerine göre toplam trans yağ asidi oranları sırasıyla; %0,17-0,92; %0,11-0,46; %0,19-0,79 ve %0,26-1,21 arasında bulunmuştur. İncelenen örneklerden bir markaya ait örnekler hariç diğer örneklerdeki toplam trans yağ asidi içeriklerinin ilgili tebliğdeki koşullara uygun olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ulusal bitkisel yağ sektöründe, çeşitli yasal ve gönüllü düzenlemelerin ve besinsel gereksinimlerin etkisiyle trans yağ asidi içeriklerinin azaltılmasına yönelik yoğun çabaların netice verdiğini göstermektedir. Bunlarla birlikte, ürün çeşitliliği ve ürünün fonksiyonel özellikleri konularında ortaya çıkan çeşitli sorunları çözmeye yönelik daha fazla çalışmanın yapılması, bilhassa sağlık gerekçeleri sebebiyle doymuş yağ asidi (palmitik asit)/doymamış yağ asidi oranları bakımından yağ asidi bileşimlerinin optimizasyonu önemli bir gerekliliktir. Ülkemizde, gıda etiketlerinde trans yağ asidi içeriğini beyan kuralları yanında, bilhassa Danimarka örneğinde olduğu gibi tüketicilerin trans yağ asidi tüketiminin azaltılması konusunda yaptırım gücü olan ve trans yağ asidi içeriğini kısıtlayıcı yasal düzenlemelerin en etkili seçenek olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Kaynakça/References

- Anonim. (2007). Türk Gıda Kodeksi. Gıda maddelerinin genel etiketleme ve beslenme yönünden etiketleme kuralları tebliğinde değişiklik yapılması hakkında tebliğ (tebliğ no.40), 23.08.2007 ve 26622 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Anonim. (2014). *Labelling of trans fatty acids*. In: *Canadian Food Inspection Agency*. Ottawa: Government of Canada. www.inspection.gc.ca/food/labelling (Erişim tarihi Ocak 2017).
- Anonim, (2015). *Avrupa'da trans yağların kaldırılması*. Politika Özeti, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Avrupa Bölge Ofisi, Marmorvej, Copenhage, Danimarka. www.euro.who.int. (Erişim tarihi Ocak 2017).
- Anonim, (2016). Avrupa Birliği'nde trans yağlar için limit belirlenmesi çağırısı. www.gidahatti.com (Erişim tarihi Ocak 2017).
- Anonim, (2017). Türk Gıda Kodeksi. Gıda etiketleme ve tüketicileri bilgilendirme yönetmeliği, 26.12.2017 ve 29960 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Arıcı, M., Taşan, M., Geçgel, Ü. & Özsoy, S. (2002). Determination of fatty acid composition and total trans fatty acids of Turkish margarines by capillary Gas-Liquid Chromatography. *Journal American Oil Chemists' Society*, 79:439-441.
- Aro, A., Amaral, HM., Kesteloot, H., Rimestad, A., Thamm, M. & Van Poppel, G. (1998). TransFA in french fries, soups and snacks from 14 European Countries: The Transfair Study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 11:170-177.
- AOCS. (1992). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 4th Ed., *American Oil Chemists' Society*, Champaign, IL. Method.Ce.2-66.
- Başol, B. & Taşan, M. (2008). Fatty acid compositions of Turkish shortenings with emphasis on trans fatty acids. *Journal of Food Lipids*, 15:240-250.
- Beninca, C., Zanoelo, FE., Luzjunior, LF. & Spricigo, CB. (2009). Trans fatty acids in margarines marketed in Brazil: Content, labeling regulations and consumer information. *European Journal Lipid Science Technology*, 111:451-458.
- Bensadoun, A. (2003). *Trans Fatty Acids-health and labeling issues*. Division of Nutritional Sciences, Cornell University. www.nutrition.cornell.edu/index.html. (Erişim tarihi Ocak 2017).
- Brouwer, I.A., Wanders, A.J. & Katan, M.B. (2013). Trans fatty acids and cardiovascular health: research completed? *European Journal of Clinical Nutrition*, 67(5):541-547.
- Craig-Schmidt, M.C. (2006). World-wide consumption of trans fatty acids. *Atherosclerosis Supplements*, 7(2):1-4.
- Çağlav, G. (2008). *Marketlerde satılan keklerde trans yağ asitlerinin belirlenmesi*. (Yüksek lisans tezi), Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Çakmak, YS., Gokalp, O., Yigit, Ş., Çağlav, G. & Aktumsek, A. (2011). Fatty acid composition and trans fatty acids in crisps and cakes in Turkey's markets. *International Journal of Food Properties*, 14(4):822-829.
- Çıraklı, O. (2011). *Ülkemizde üretilen bazı margarinlerin yağ asidi bileşiminin ve trans yağ asidi içeriklerinin belirlenmesi*. (Yüksek lisans tezi), Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Dabanoğlu, S. (2005). *Ülkemizde üretimi yapılan çeşitli kahvaltılık ve sanayi tipi bitkisel margarinlerin bazı kimyasal ve fiziksel özelliklerinin araştırılması*. (Yüksek lisans tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Dağlıoğlu, O., Taşan, M. & Tunçel, B. (2000). determination of fatty acid composition and total trans fa of Turkish biscuits by capillary gas liquid chromatography. *European Food Research Technology*, 211:41-44.
- Dağlıoğlu, O., M. Taşan and B. Tunçel, 2002. Determination of FA composition and total trans FA in cereal based Turkish foods. *Turkish Journal of Chemistry*, 26:705-710.
- Enig, MG., Pallansch, L.A., Sampugna, J. & Keeney, M. (1995). Fatty acid composition of the fat in selected food items with emphasis on trans components. *Journal American Oil Chemists' Society*, 60:1781-1795.
- Ergönül, P.G. (2013). Solid fat contents and instrumental textural attributes of margarines sold in Turkishmarket. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 5(2):157-161
- Fernandez, P.M. (2000). Fatty acid composition of commercial Spanish fast food and snack food. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13:275-281.
- FDA. (2013). Food and Drug Administration. Final determination regarding partially hydrogenated oils; *Federal Register*; 80:34650-34670, www.gpo.gov (Erişim tarih Ocak 2017).
- Gagliardi, A.C.M., Filho, J.M. & Santos, R.D. (2009). Nutritional profile of foods with zero trans fatty acids claim. *Rev Assos Med Bras*. 55(1):50-3.
- Gündüç, N. (1995). *Piyasadaki margarinlerin trans yağ asidi niceliği ve kan kolesterolü üzerine etkisi*. (Yüksek lisans tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Huang, Z., Wang, B. & Pace, O.H. (2006). Trans fatty acid content of selected foods in an African-American community. *Journal of Food Science*, 7(6):322-327.
- ICC. (1982). *Standart Methods of the International Association for Cereal Chemistry Standard* No:136, ICC, Detmold, Germany.
- Innis, S.M., Green, T.J. & Halsey, T.K. (1999). Variability in the trans fatty acid content of foods within a food category: Implications for estimation of dietary trans fatty acid in takes. *Journal of the American College of Nutrition*, 18(3):255-260.
- Kadıoğlu, Y. (2009). *Türkiye'de tüketilen bisküvi ve kek tipi ürünlerde kullanılan yağların bileşim, reolojik ve mikroskopik özellikleri*. (Yüksek lisans tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Kala, A.L.A. (2014). Studies on saturated and trans fatty acids composition of few commercial brands of biscuits sold in Indian market. *Journal of Food Sci. Technol.* 51(11):520-526.
- Kandhro, A., Sherazi, S.T.H., Mahesar, S.A., Bhangar, M.I., Talpur, M.Y. & Rain, S. (2008). Monitoring of fat content, free fatty acid and fatty acid profile including trans fat in Pakistani biscuits. *Journal American Oil Chemists' Society*, 85:1057-1061.
- Karaali, A. (1997). Yemeklik yağlar ve sağlıkla ilişkileri. *Gıda Teknolojisi*, 1(6):51-54.
- Karabulut, S. & Turan, S. (2006). Some Properties of margarines and shortenings marketed in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19:55-58.
- Karabulut, İ. (2007). Fatty acid composition of frequently consumed foods in Turkey with special emphasis on trans fatty acids. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58(8):619-628.
- Kayahan, M. (2003). *Yağ Kimyası*, 1. Baskı, ODTÜ Yayıncılık, s.40, Ankara.
- Kayahan, M. & Tekin, A. (1994). Türkiye'de üretilen bazı margarinerdeki trans yağ asitleri ve konjüge yağ asitleri miktarları üzerine araştırma. *Gıda Dergisi*, 19(3):147-153.
- Kroustallaki, P., Tsimpinos, G., Vardavas, C.I. & Kafatos, A. (2011). Fatty acid composition of Greek margarines and their change in fatty acid content over the past decades. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(7):685-691.
- Martin, C.A., Carapelli, R., Visantainer, J.V., Matsushita, M. & De Souza, N.E. (2005). Trans fatty acid content of Brazilian biscuits. *Food Chemistry*, 93:445-448.
- Mozaffarian, D., Katan, M.B., Ascherio, A., Stampfer, M.J. & Willet, W.C. (2006). Trans fatty acids and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*, 354(15):1601-1613.
- Santos, L.A.T., Cruz, R. & Casal, S. (2015). Trans fatty acids in commercial cookies and biscuits: An update of Portuguese market. *Food Control*, 47(2015):141-146.
- Semma, M. (2002). Trans Fatty Acids: Properties, benefits and risks. *Journal of Health Science*, 48(1):7-13.
- Sharp, T. (2001). Technical constraints in the development of reduced fat bakery products. *Proceeding of the Nutritional Society*, 60(4):489-496.
- Taş, G. (1998). *Kahvaltılık ve yemeklik margarinerin genel ve trans yağ asitleri üzerine araştırma*. (Yüksek lisans tezi), Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Taşan, M. & Demirci, M. (2003). Trans fatty acids in sunflower oil at different steps of refining. *Journal of American Oil Chemists Society*, 79:825-828.
- Taşan, M., Demirci, M. & Geçgel, Ü. (2005). Bitkisel sıvı yağlarda trans yağ asitleri. *Hasad Gıda*, 21(242):31-35.
- Taşan, M. & Dağlıoğlu, O. (2005). Trans yağ asitlerinin yapısı, oluşumu ve gıdalarla alınması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1):79-88.
- Taşan, M., Kahyaoğlu, G. & Demirci, M. (2007). Beslenmemizde trans yağ asitlerinin kaynakları. *Gıda Teknolojisi*, 11 (7) 50-54.
- Taşan, M. & Geçgel, Ü. (2008). Trans yağ asitleri ile ilgili yasal düzenlemeler ve yağ endüstrisine etkileri. TMMOB Kimya Mühendisleri Odası Güney Bölge Şubesi, *Bitkisel Yemeklik Yağlar Sempozyumu*, 82-86s, Adana.
- Tavella, M., Peterson, G., Espeche, M., Cavallero, E., Cipolla, L., Luis, P. & Caballero, B. (2000). Trans fatty acid content of selection of foods in Argentina. *Food Chemistry Analytical*, 69:209-213.
- Torres, D., Casal, S. & Oliveria, M.B.P.P. (2002). Fatty acid composition of Portuguese spreadable fats with emphasizing on trans isomer. *European Food Technology*, 214:108-111.
- Trattner, S., Becker, W., Wretling, S., Öhrvik, V. & Mattisson, I. (2015). Fatty acid composition of Swedish bakery products, with emphasis on trans-fatty acids. *Food Chemistry*, 175:423-430.
- Wagner, K.H., Auer, E. & Elmadfa, I. (2000). Content of trans fatty acids in margarines, plant oils, fried products and chocolate spreads in Austria. *European Food Research Technology*, 210:237-241.
- Wassell, P. & Young, N.W.G. (2007). Food applications of trans fatty acid substitutes. *International Journal Food Science and Technology*, 42:503-517.
- Wijesundera, C., Richards, A. & Ceccato, C. (2007). Industrially produced trans fat in foods in Australia, 84:433-442.
- Yiğit, Ş. (2007). *Türkiye'de marketlerdeki cipslerdeki trans yağ asitlerinin belirlenmesi*. (Yüksek lisans tezi), Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Zock, P.L. & Katan, M.B. (1997). Butter, margarine and serum lipoproteins. *Atherosclerosis*, 131:7-16.

Farklı Bitki Uçucu Yağların *Erwinia amylovora*'ya Karşı Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi

Determination of Antibacterial Effect of Different Plant Essential Oils Against *Erwinia amylovora*

Benian Pınar AKTEPE¹, Kerem MERTOĞLU², Yasemin EVRENOSOĞLU², Yeşim AYSAN^{3,*}

Öz

Erwinia amylovora'nın neden olduğu ateş yanıklığı hastalığı *Rosaceae* familyasına ait 39 farklı cins ve 128 türe ait bitkide hastalık oluşturmaktadır. Bu hastalıkla mücadelede farklı yöntemler kombine halde kullanılarak entegre hastalık yönetimi tercih edilir. Son yıllarda hastalığın mücadelesinde alternatif yöntemlerin araştırılması üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu yöntemlerden birisi de tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağlardır. Bu çalışmada, 16 farklı bitki uçucu yağın, *Erwinia amylovora*'ya karşı antibakteriyel etkisi *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Çalışmada, yedi farklı bitkinin (*Allium sativum*, *Cinnamomi ceylanici*, *Cymbopogon citratus*, *Lavandula officinalis*, *Mentha arvensis*, *Syzygium aromaticum* ve *Thymus vulgaris*) uçucu yağı *Erwinia amylovora*'nın *in vitro* koşullarda gelişimini engellemede başarılı olmuştur. *Cymbopogon citratus* uçucu yağı hariç diğer altı bitkinin uçucu yağı streptomisin antibiyotiğinden kuvvetli antibakteriyel etkiye sahip olmuştur. *Allium sativum*, *Cinnamomi ceylanici* ve *Mentha arvensis* uçucu yağlarında sırasıyla 16.44, 15.11 ve 12.94 mm inhibisyon zonu elde edilmiş ve bu uçucu yağlar güçlü antibakteriyel etkilerle dikkat çekici bulunmuştur. Etkili bulunan bu uçucu yağlar, hastalığın mücadelesinde umut verici olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Uçucu yağ, *Erwinia amylovora*, *Allium sativum*, *Cinnamomi ceylanici*, *Mentha arvensis*

Abstract

Fire Blight caused by *Erwinia amylovora* is a disease of plants belonging to *Rosaceae* family of 39 different genera and 128 species. Integrated disease management is preferred by combining different methods in the disease control. Nowadays, studies on alternative methods to control of the disease were intensified. One of these methods is using of essential oils obtained from medical and aromatic plants. In this study, antibacterial activity of 16 different plant essential oil was investigated against to *Erwinia amylovora in vitro* conditions. Seven essential oils (*Allium sativum*, *Cinnamomi ceylanici*, *Cymbopogon citratus*, *Lavandula officinalis*, *Mentha arvensis*, *Syzygium aromaticum* and *Thymus vulgaris*) inhibited successfully the growth of *Erwinia amylovora in vitro* conditions. The higher antibacterial efficacy was produced by the six plant essential oil except *Cymbopogon citratus*, compared to streptomycin. Essential oils from *Allium sativum*, *Cinnamomi ceylanici* and *Mentha arvensis* were obtained in 16.44, 15.11 and 12.94 mm inhibition zones, respectively and these essential oils had the highest antibacterial effects. These effective essential oils was found as promising in this disease control.

Keywords: Essential oil, *Erwinia amylovora*, *Allium sativum*, *Cinnamomi ceylanici*, *Mentha arvensis*

¹Benian Pınar Aktepe, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Organik Tarım İşletmeciliği Bölümü, 80760 Osmaniye. E-mail: benianaktepe@osmaniye.edu.tr

²Kerem Mertoğlu, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 26160 Eskişehir. E-mail: kmertoglu@ogu.edu.tr

³Yasemin Evrenosoğlu, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 26160 Eskişehir. E-mail: yevrenosoglu@ogu.edu.tr

****Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Yeşim Aysan, Çukurova Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü, 01330 Adana. E-mail: aysanys@gmail.com

Atıf/Citation: Aktepe, B.P., Mertoğlu, K., Evrenosoğlu, Y., Aysan, Y. Farklı bitki uçucu yağların *Erwinia amylovora*'ya karşı antibakteriyel etkisinin belirlenmesi, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 34-41.

Extended Summary

Erwinia amylovora, caused by fire blight disease, is a pathogenic bacterium that can infect the entire subsoil and aboveground parts of the plant species belonging to the Maloideae subfamily and cause the death of the whole plant because it acts systemically (Vanneste 2000; Gaaliche ve ark., 2017). It is also difficult to control of this pathogen which causes a destructive infection by progressing rapidly on all parts of the plant. Due to phytotoxic effect of copper preparations, especially in vegetative period, antibiotic resistance problem and not being licensed in our country have made us to do research on the use of alternative methods in the struggle of the disease. One of these methods is the essential oils obtained from medicinal and aromatic plants, which are considered as natural antibiotics. Herbal essential oils, which have strong antibacterial activity and are environmentally friendly, have provided promising results in the control of this disease. Studies investigating the antibacterial effects of different volatile oils against *Erwinia amylovora* have been reported to suppress pathogen development (Scortichini ve Rossi, 1989; Scortichini ve Rossi, 1991; Basım ve ark., 2000; Basım ve Basım, 2004; Kokoskova ve Pavela, 2007; Karami-Osboo ve ark., 2010; Kokoskova ve ark., 2011; Salem ve ark., 2014). In this study, the antibacterial effect of essential oils obtained from medicinal and aromatic plants against *Erwinia amylovora* was investigated in vitro condition. The study included sage (*Salvia officinalis*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), laurel (*Laurus nobilis*), rose (*Rosa* sp.), Nettle (*Urtica* sp.), Clove (*Caryophyllus aromaticum*), thyme (*Thymus vulgaris*), lavender (*Lavandula angustifolia*) lemon (*Citrus limonum*), lemon grass (*Cymbopogon citratus*), mint (*Mentha arvensis*), fennel (*Foeniculum vulgare*), garlic (*Allium sativum*), cinnamon (*Cinnamomi gazelle*), kitten (*Artemisia absinthium*) and ginger (*Zingiber officinale*) essential oils are used. As a result of in vitro tests, 11 of 16 essential oils were found to have antibacterial activity against *Erwinia amylovora* with an inhibition zone of 1.11 to 16.44 mm. The antibiotic streptomycin, which was used as a positive control, produced an average of 5.11 mm of inhibition zone. At the end of the study, *Allium sativum*, *Mentha arvensis*, *Cinnamomi gazelle*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula officinalis*, *Syzygium aromaticum* and *Cymbopogon citratus* were found to be successful in inhibiting the growth of *Erwinia amylovora*. Application with the strongest antibacterial effect was obtained from *Allium sativum* essential oil with 16.44 mm inhibition zone. This application was followed by *Mentha arvensis* with 15.11 mm inhibition zone and *Cinnamomi anticancer* essential oils with 12.94 mm blocking zone and they were the more effective than streptomycin antibiotic. The strong effect of these essential oils is thought to be due to the antibacterial effect of the chemicals forming the components against *Erwinia amylovora*.

Various extracts and/or their essential oils obtained from medicinal and aromatic plants serve as natural bactericides and use as a part of an integrated struggle in the control of plant bacterial diseases is seen as a promising alternative. The active ingredients of these essential oils contribute to the emergence of new chemicals in agriculture. The active ingredients of these essential oils contribute to the emergence of new chemicals in agriculture. Antibacterial compounds obtained from medicinal and aromatic plants are considered as alternative to antibiotics and copper in the fight against bacterial diseases.

Erwinia amylovora adlı bakteri, *Rosaceae* familyasına ait 39 farklı cinse dahil 128 türde ateş yanıklığı hastalığına neden olmaktadır (Beer ve Opgenorth, 1976). Yumuşak çekirdekli meyve türlerinin en tahripkar hastalığı olan ateş yanıklığı, bitkinin toprak altı ve toprak üstü aksamının tamamını enfekte edebilen ve sistemik hareket ettiğinden tüm bitkinin ölümüne sebep olabilen bir hastalıktır (Vanneste 2000; Gaaliche ve ark., 2017).

Yaklaşık 250 yıllık geçmişi olan hastalık, ülkemizde ilk kez 1985 yılında Afyon iline bağlı Sultandağı ilçesindeki armut bahçelerinde tespit edilmiştir (Öktem ve Benlioğlu, 1988). 1987 yılı itibarıyla Türkiye'nin bütün armut yetiştirme alanlarında ateş yanıklığı belirtileri görülmüş ve çoğu bölgede ciddi zararlar oluşturarak pek çok bahçenin sökülmesine neden olmuştur (Momol ve Yeğen, 1993).

Hastalık etmeni, pek çok ülkede karantinaya tabi olmasına rağmen armut yetiştiriciliğinin yapıldığı yerlerde yaygın olarak görülmektedir (Kokoskova ve ark., 2011). Kimyasal mücadelenin kesin çözüm olmaması, insan ve çevre sağlığına olan olumsuz etkisi, kalıntı sorunlarına sebep olması ve organik yetiştiriciliğin her geçen gün tüketiciler arasında popülerite kazanması nedenleriyle; dayanıklı çeşit ile anaçların kullanımı, sanitasyon yöntemleri ve biyolojik mücadeleyi kapsayan entegre yöntemler hastalığın mücadelesinde öne çıkmaktadır (Mertoğlu ve Evrenosoğlu, 2017; Aktepe, 2018; Evrenosoğlu ve Mertoğlu, 2018).

Bakırlı preparat ve antibiyotik uygulamaları kısmen kontrol sağlamakta (Johnson ve Stockwell, 1998), ancak bu kimyasalların da pek çok dezavantajı bulunmaktadır. Patojen bakterinin antibiyotiklere direnç geliştirmesi, hedef dışı canlılara etkisi, doğal dengeyi bozması ve çevreyi kirletmesi gibi nedenlerle birçok ülkede kullanımı yasaktır (Iacobellis ve ark., 2005; Kokoskova ve ark., 2011). Bakırlı preparatlar ise vejetatif dönemde fitotoksik etkileri nedeniyle ancak dormant dönemde uygulanabilmektedir. Bu nedenle ateş yanıklığı hastalığının mücadelesinde alternatif yöntemlerin araştırılması zorunludur. Bu yöntemlerden birisi de doğal antimikrobiyal etkinliğe sahip olarak nitelendirilen, tıbbi ve aromatik bitki ekstraktları ve uçucu yağlarıdır.

Güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip ve çevre dostu olan bitkisel uçucu yağlar, bitkisel ve gıda kökenli hastalık etmenlerin yanı sıra, bitki zararlıları ile mücadelede umut verici sonuçların alınmasını sağlamıştır (Soylu ve ark., 2009; Soylu ve ark., 2010; Sertkaya ve ark., 2010). Farklı uçucu yağların, *Erwinia amylovora*'ya karşı antibakteriyel etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, patojen gelişimini baskı altına aldığı bildirilmiştir (Scortichini ve Rossi, 1989; Scortichini ve Rossi, 1991; Basım ve ark., 2000; Basım ve Basım, 2004; Kokoskova ve Pavela, 2007; Karami-Osboo ve ark., 2010; Kokoskova ve ark., 2011; Salem ve ark., 2014). Ayrıca uçucu yağ uygulamalarının, bitkilerde sinyalizasyon ağı üzerine olumlu etkiler göstererek, dayanıklılık mekanizmasını etkilediği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Kokoskova ve ark., 2011; Umarusman, 2018). Bu amaçlar doğrultusunda, son yıllarda geliştirilerek piyasaya sürülen birçok biyopestisit bulunmaktadır. Etkilerinin hızlı ve net olmasına ilave olarak fiyatlarının uygun olması, rağbet görmelerini sağlamıştır (Isman, 2006). Etkilerinin, bakır veya diğer kimyasal bileşikler ile artırılabilmesi ve etken maddesinin sentetik olarak üretilerek, epideminin olduğu yer ve yıllarda güvenle kullanılabilmesi belirtilmiştir (El-Astal, 2004; Kokoskova ve Pavela, 2007; Bajpai ve ark., 2011; Mengulluoglu ve Soylu, 2012).

Bu çalışmanın amacı, 16 farklı tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağların *in vitro* koşullarda *E. amylovora*'ya karşı antibakteriyel etkisini tespit etmektir.

Materyal ve Yöntem

Patojen Bakteri: Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma bölümü bakteriyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan tanısı yapılmış 69/1-1r kodlu *Erwinia amylovora* izolatu çalışmada kullanılmıştır. Bu izolat, İzmir'in Ödemiş ilçesinde 1993 yılında ayva ağacından izole edilmiştir (Aysan ve ark., 1994).

Uçucu Yağlar: Uçucu yağlardan zencefil ve ısırgan yağları Defne-Doğa (Antalya, Türkiye) firmasına ait ürünler olup, kullanılan tüm diğer yağlar Carl-Roth (Karlshure, Almanya) firmasının ürünleridir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Uçucu yağların elde edildiği bitkiler

Table 1. Essential oils derived from plants

Bitki Türü	Familyası	Yerel Adı
Allium sativum	Amaryllidaceae	Sarımsak
Artemisia absinthium	Asteraceae	Yavşan
Cinnamomi ceylanici	Lauraceae	Tarçın
Citrus limon	Rutaceae	Limon
Cymbopogon citratus	Poaceae	Limon Otu

(Çizelge 1 devamı)

<i>Foeniculum vulgare</i>	Apiaceae	Rezene
<i>Laurus nobilis</i>	Lauraceae	Defne
<i>Lavandula officinalis</i>	Lamiaceae	Lavanta
<i>Mentha arvensis</i>	Lamiaceae	Nane
<i>Rosa sp.</i>	Rosaceae	Gül
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiaceae	Biberiye
<i>Salvia sclarea</i>	Lamiaceae	Adaçayı
<i>Syzygium aromaticum</i>	Myrtaceae	Baharat Karanfil
<i>Thymus vulgaris</i>	Lamiaceae	Kekik
<i>Urtica sp.</i>	Urticaceae	Isırgan
<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Zencefil

Patojen İnokulumunun Hazırlanması: King B besi yerinde 48 saat geliştirilen *Erwinia amylovora* izolatından spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.2 ölçüm değerinde hazırlanan süspansiyondan seyreltme serisi hazırlanmıştır. Her bir seriden 100 µl alınarak üç tekrarlı olarak King B besi yerine cam baget ile yayma işlemi yapıp 25°C'de 48 saat geliştirildikten sonra koloni sayımı yapılarak patojen popülasyonu 7×10^7 hücre/ml'ye ayarlanarak kullanılmıştır.

Antibakteriyel Etkinin Saptanması: Uçucu yağların *Erwinia amylovora*'ya antibakteriyel etkisi, *in vitro* petri denemeleriyle kağıt difüzyon disk yöntemine göre araştırılmıştır (Mangamma ve Sreeramulu, 1991; Mirik ve Aysan, 2005; Umarusman, 2018). King B besi yeri içeren 9.0 cm çaplı petrilere *Erwinia amylovora*'nın 7×10^7 hücre/ml popülasyonu içeren süspansiyondan 100 µl eklenerek drigalski spatülüyle yayılmıştır. Petriler kurduktan (yaklaşık 3 saat) sonra, 1 cm çapında yuvarlak steril kağıt disk birbirinden eşit uzaklıkta olacak şekilde petrilerin üç ayrı noktasına yerleştirilmiştir. Uçucu yağlardan 10 µl alınıp kağıt disk üzerine damlatılmıştır. Negatif kontrol olarak steril su ve pozitif kontrol olarak streptomisin antibiyotiği (0.02gr/litre) kullanılmıştır. Deneme, her petride üç kağıt disk olmak üzere üç petri kullanılarak kurulmuştur. Petriler 25°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra kağıt disklerin çevresinde oluşan engelleme zonları (inhibisyon) mm olarak ölçülerek not edilmiştir.

Değerlendirme ve İstatistiksel Analiz: Uçucu yağların oluşturduğu engelleme zonları mm olarak ölçüldükten sonra antibakteriyel etki indeksi (AEI) pozitif kontrolle karşılaştırılarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Kokoskova ve Pavela, 2007; Kokoskova ve ark., 2011). AEI oranı uygulamaların streptomisine göre etkinin oranını ifade etmektedir. Bu oran grafik haline getirildiğinde grafiğin üzerinde yer alan uygulamalar streptomisinden daha etkili olan uygulamalarken, grafiğin altında kalanlar streptomisinden daha az etkiye sahip uygulamaları göstermektedir.1

$$AEI (\%) = [-1 * (C-T) / (C+T)] * 100$$

C: pozitif kontrolde (streptomisin) oluşan ortalama zon, T: uygulamada (uçucu yağ) oluşan ortalama zon

Inhibisyon zonu ölçümlerine göre elde edilen verilerle istatistiki analizler yapılmış ve uygulamalar arasındaki fark, ANOVA istatistik programında tek yönlü varyans analiziyle Duncan çoklu karşılaştırma testiyle %5 önem düzeyinde değerlendirilmiştir. Aynı gruba giren uygulamalar aynı harfle işaretlenmiştir.

Bulgular

Çizelge 2'de ve Şekil 1'de görüldüğü gibi, denemeye alınan 16 adet uçucu yağın 11'i *Erwinia amylovora*'ya karşı 1.11 ile 16.44 mm arasında inhibisyon zonu oluşturarak antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.

Artemisia absinthium, *Citrus limon*, *Foeniculum vulgare*, *Urtica sp.* ve *Zingiber officinale* türlerinden elde edilen uçucu yağlar, *Erwinia amylovora*'nın gelişimi üzerine herhangi bir engelleyici etkide bulunmamıştır. *Rosa sp.*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia sclarea* ve *Laurus nobilis* uçucu yağlarında ise sırası ile 1.11, 1.78, 1.83 ve 2.39 mm'lik inhibisyon zonları ölçülmüş ve istatistiksel açıdan negatif kontrolle (steril su) aynı grupta yer alan etkisiz uygulamalar olduğu saptanmıştır (Çizelge 2).

Çalışma sonucunda, yedi uçucu yağın *Erwinia amylovora*'nın *in vitro* koşullarda gelişimini engellemede başarılı olduğu tespit edilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan streptomisin adlı antibiyotik, ortalama 5.11 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuştur. *Cymbopogon citratus* uçucu yağı ise 5.02 mm'lik engelleme zonuyla, istatistiksel olarak streptomisinle aynı grupta yer almış ve streptomisine eşdeğer etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

Diğer altı bitkinin (*Allium sativum*, *Cinnamomi ceylanici*, *Lavandula officinalis*, *Mentha arvensis*, *Syzygium aromaticum* ve *Thymus vulgaris*) uçucu yağı streptomisinden daha güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olmuştur. En kuvvetli antibakteriyel etkiye sahip uygulama ortalama 16.44 mm'lik inhibisyon zonuyla *Allium sativum* uçucu yağında kayıt edilmiştir. Bu uygulamayı 15.11 mm'lik engelleme zonuyla *Mentha arvensis* ve 12.94 mm'lik engelleme zonuyla *Cinnamomi ceylanici* uçucu yağları takip etmiştir. İstatistiksel olarak diğer bir grupta yer alan diğer başarılı uygulamalarda (*Thymus vulgaris*, *Lavandula officinalis* ve *Syzygium aromaticum*) ise sırasıyla 9.83, 8.69 ve 7.55 mm engelleme zonu kaydedilmiştir. *Erwinia amylovora*'nın *in vitro* şartlarda gelişimini engellemede etkili bulunan bu uçucu yağlar, hastalığın mücadelesinde umut verici olarak değerlendirilmiştir.

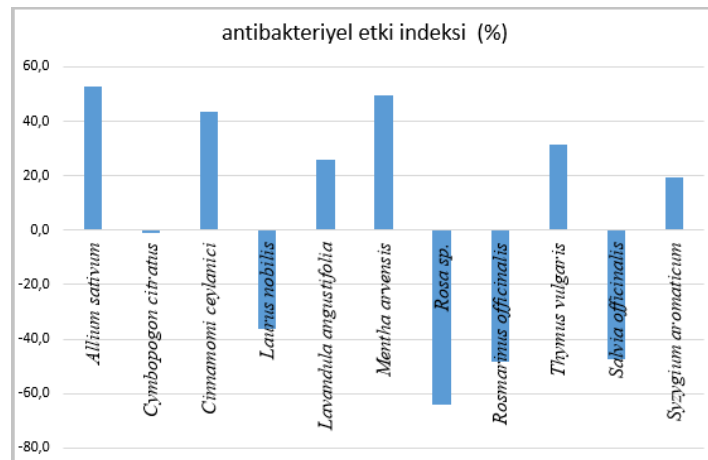
Çizelge 2. Uçucu yağların *Erwinia amylovora*'ya antibakteriyel etkisi sonucu oluşan inhibisyon zonları (mm) ve antibakteriyel etki indeksi (AEI)

Table 2. Inhibitory zones (mm) and the antimicrobial efficacy index (IAE) resulting from the antibacterial effect of essential oils to *Erwinia amylovora*

Uçucu Yağ	İnhibisyon zonu (mm)	AEI (%)
<i>Allium sativum</i>	16.44a*	52,58
<i>Artemisia absinthium</i>	0.00e	-100,00
<i>Cinnamomi ceylanici</i>	12.94b	43,38
<i>Citrus limon</i>	0.00e	-100,00
<i>Cymbopogon citratus</i>	5.02d	-0,88
<i>Foeniculum vulgare</i>	0.00e	-100,00
<i>Laurus nobilis</i>	2.39e	-36,30
<i>Lavandula officinalis</i>	8.69c	25,93
<i>Mentha arvensis</i>	15.11ab	49,45
<i>Rosa sp.</i>	1.11e	-73,47
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1.78e	-48,39
<i>Salvia sclarea</i>	1.83e	-47,20
<i>Syzygium aromaticum</i>	7.55c	19,30
<i>Thymus vulgaris</i>	9.83c	31,60
<i>Urtica sp.</i>	0.00e	-100,00
<i>Zingiber officinale</i>	0.00e	-100,00
Streptomisin (PK)	5.11d	
Steril su (NK)	0.00e	

AEI: antibakteriyel etki indeksi; mm: milimetre; PK: pozitif kontrol; NK: negatif kontrol

* Sütun içinde yer alan ortalama değerlerin (n=3) yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan çoklu karşılaştırma Testi, $P \leq 0.05$)



Şekil 1. Uçucu yağların *Erwinia amylovora*'ya karşı antibakteriyel etki indeksi
Figure 1. The antibacterial effect index of essential oils against *Erwinia amylovora*

Tartışma

Tıbbi ve aromatik bitkilerin uçucu yağları güçlü antimikrobiyal etkileri ve çevre dostu olmalarından dolayı pek çok bitki koruma probleminin çözümünde alternatif olarak düşünülmektedir. Ateş yanıklığı hastalığının etmeni olan *Erwinia amylovora*'ya karşı *in vitro* koşullarda denenilen, *Mentha arvensis* (Kokoskova ve Pavela, 2007; Kokoskova ve ark., 2011), *Melissa officinalis* (Kokoskova ve Pavela, 2007; Kokoskova ve ark., 2011), *Nepeta cataria* (Kokoskova ve ark., 2011), *Origanum compactum* (Kokoskova ve Pavela, 2007; Kokoskova ve ark., 2011), *Origanum vulgare* (Kokoskova ve Pavela, 2007; Kokoskova ve ark., 2011), *Rosa damascena* (Basım ve Basım, 2004), *Thymbra spicata* var *spicata* (Basım ve ark., 2000), *Thymus vulgaris* (Kokoskova ve Pavela, 2007; Karami-Osboo ve ark., 2010; Kokoskova ve ark., 2011), uçucu yağlarının patojeni baskılama üzerine olan olumlu etkileri daha önceki çalışmalarla ortaya konmuştur.

Bu çalışmada kullanılan uçucu yağlardan, *Allium sativum*, *Mentha arvensis*, *Cinnamomi ceylanici*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula officinalis*, *Syzygium aromaticum* ve *Cymbopogon citratus*, patojen bakteri *Erwinia amylovora*'nın gelişimini *in vitro* koşullarda engellemiştir. *Cymbopogon citratus* hariç diğer etkili uçucu yağlar streptomisin antibiyotiklerinden bile güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir.

Benzer sonuçlar, *Mentha arvensis* (Kokoskova ve Pavela, 2007; Kokoskova) ve *Thymus vulgaris* (Kokoskova ve Pavela, 2007; Karami-Osboo ve ark., 2010; Kokoskova ve ark., 2011) uçucu yağlarının kullanılarak elde edildiği bildirilmiştir. *Erwinia amylovora*'ya etkili bulunan diğer uçucu yağların antibakteriyel özellikleri ise ilk defa yapılan bu çalışmayla ortaya konmuştur. Mengulluoglu ve Soylu (2012) yapmış oldukları çalışmada *Thymbra spicata* L. subsp. *spicata* *Thymus serpyllum* L., *Origanum majorana* L., *Mentha spicata* L., *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas*, *Melissa officinalis* L., *Rosmarinus officinalis* L. ve *Ocimum basilicum* L. uçucu yağlarının antibakteriyel etkinliklerini karpuz bakteriyel meyve leke hastalığı etmeni *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*'ye karşı araştırmış ve en etkili antibakteriyel etkinliğin *T. spicata*'dan elde edilen uçucu yağ tarafından gösterildiğini belirlemiş olup, bu yağı sırasıyla *T. serpyllum*, *O. majorana*, *M. spicata*, *M. officinalis*, *R. officinalis*, *L. stoechas* ve *S. officinalis* uçucu yağlarının takip ettiğini bildirmiştir.

Rosa damascena'nın, *Erwinia amylovora*'ya antibakteriyel etkisi bilinmesine rağmen (Basım ve Basım, 2004), çalışmamızda kullanılan yağda (*Rosa* sp.) bu etki saptanamamıştır. *Rosa damascena* "Isparta Güllü" olarak adlandırılan, kendine özgü, zengin ve yoğun allelokimyasal içeren bir gül türüdür (Baydar ve Kazaz, 2013). Çalışmamızda kullandığımız gül yağının böylesine zengin bir kompozisyona sahip olmadığından aynı sonuca ulaşamadığı düşünülmektedir. Ayrıca, tıbbi ve aromatik bitkilerin yetiştirildiği coğrafi alan, o yılki yetiştirme koşulları, bitkinin alt türlerinin varlığı, hasat zamanı, hasat şekli, depolama koşulları veya uçucu yağın elde edilmesinde kullanılan yöntemler uçucu yağ içeriği ve bileşenlerini etkileyebilir (Soylu ve ark., 2010; Kokoskova ve ark., 2011). Bu sayılan faktörlerden bir veya bir kaçının etkisiyle bizim çalışmamızda farklı sonuçlar elde edilmiş olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada *Allium sativum*, *Cinnamomi ceylanici* ve *Mentha arvensis* uçucu yağları *Erwinia amylovora*'ya karşı sergiledikleri güçlü antibakteriyel etkilerle dikkat çekici bulunmuştur. *Allium sativum* uçucu yağının ana bileşenlerinin diallyl trisulfide (%33.57), diallyl sulfide (%30.93) ve methyl allyl trisulfide (%11.28)'den (Martinez-Velazquez ve ark., 2011), *Cinnamomi ceylanici* uçucu yağının ana bileşenlerinin cinnammaldehide (%78.4) ve cinnamyl acetate (%5.7)'den (Park ve ark., 2005), *Mentha arvensis* uçucu yağının ana bileşenlerinin menthol (%74.5), menthone (%9.2) methyl acetate (%3.1)'den oluştuğu (Kokoskova ve ark., 2011) bilinmektedir. Uçucu yağların bileşenlerini oluşturan bu kimyasalların *Erwinia amylovora*'ya karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.

Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen çeşitli ekstraktlar ve/veya onların uçucu yağları, doğal bakterisitler olarak görev yapmakta olup, bitki bakteriyel hastalıklarının mücadelesinde entegre mücadelenin bir parçası olarak kullanılması umut verici bir alternatif olarak görülmektedir. Bu uçucu yağlarının etken maddeleri tarımda yeni kimyasalların ortaya çıkışına katkı sağlamaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen antibakteriyel bileşikler, bakteriyel hastalıkların mücadelesinde antibiyotiklerin ve bakırın alternatifi olarak değerlendirilmiştir (Soylu ve ark., 2009; Mengulluoglu ve Soylu, 2012; Savoia, 2012; Umarusman, 2018). Antibiyotik kullanımına bağlı olarak, bakteri kökenli hastalık etmenlerinin dayanıklı formlar geliştirmesinin (Förster ve ark., 2015) engellenmesi bakımından, uçucu yağların entegre mücadele kapsamında kullanımı son derece önemlidir (Gwinn, 2018). Ayrıca başta ıslah çalışmaları olmak üzere, melezlemeler sonucu elde edilen tohumlar, toprak kökenli çürükçül patojenlere karşı oldukça hassastırlar (Evrenosoğlu ve ark., 2011). Melezleme ıslahı ile yeni çeşitlerin geliştirilmesi sürecinde, melez bitkilerin elde edileceği tohumlar, *Erwinia amylovora* gibi sistemik yayılan hastalıklara karşı enfeksiyon tehdidi altındadır (Thomson, 1986; Vanneste, 2000; Farkas ve ark., 2012). Umut verici bulunan; *Allium sativum*, *Cinnamomi ceylanici* ve *Mentha arvensis* uçucu yağları, ekim öncesi tohum uygulamaları ve tarım aletlerinin temizliği noktasında kullanımı önerilmektedir. Direk bitki uygulamaları ise yapılacak olan *in vivo* denemeler sonrası mümkün olacaktır.

Kaynakça/References

- Aktepe, B.P. 2018. *Erwinia amylovora*'nın Biyolojik Mücadelesinde Epifitik Bakteri ve Mayaların Etkilerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 109s.
- Aysan, Y., Tokgonul, S., Çınar, Ö. and Kuden, A. 1994. Reaserchers on resistant reactions of pears against *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al. In: Proceedings of 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, 18-24 September, Kuşadası-Turkey: 311-313.
- Bajpai, V. K., Kang, S. R., Xu, H., Lee, S. G., Baek, K. H. and Kang, S. C. 2011. Potential roles of essential oils on controlling plant pathogenic bacteria *Xanthomonas* species: a review. The Plant Pathology Journal, 27 (3): 207-224.
- Basım, H., Yegen, O. and Zeller, W. 2000. Antibacterial effect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria. Journal of Plant Disease and Protection, 279 (3): 279-284.
- Basım, E. and Basım, H. 2004. Note: evaluation of antibacterial activity of essential oil of *Rosa damascena* on *Erwinia amylovora*. Phytoparasitica 32:409-12.
- Baydar, H., and Kazaz, S. 2013. Yağ Güllü & Isparta Gülcülüğü. Gülbirlik Yayınları, (1).
- Beer, S. V. and Opgenorth, D.C. 1976. *Erwinia amylovora* on fire blight canker surfaces and blossoms in relation to disease occurrence. Phytopathology, 66: 317-322.
- El-Astal Z. 2004. Bacterial pathogens and their antimicrobial susceptibility in Gaza Strip, Palestine. Pakistan Journal of Medical Sciences, 20 (4): 365-370.
- Evrenosoğlu, Y., and Mertoğlu, K. 2018. Evaluation of pear (*Pyrus communis* L.) hybrid combinations for the transmission of fire blight resistance and fruit characteristics. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 54 (2):78-85
- Evrenosoğlu, Y., Misirli, A., Saygılı, H., Bilen, E., Boztepe, Ö., and Acarsoy, N. 2011. Evaluation of susceptibility of different pear hybrid populations to fire blight (*Erwinia amylovora*). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 39 (1): 226-236.
- Farkas, A., Mihalik, E., Dorgai L. and Buban, T. 2012. Floral traits affecting fire blight infection and management. Trees, 26:47-66.
- Förster, H., McGhee, G. C., Sundin, G. W. and Adaskaveg, J. E. 2015. Characterization of streptomycin resistance in isolates of *Erwinia amylovora* in California. Phytopathology, 105 (10):1302-1310.
- Gaaliche, B., Chehimi, S., Dardouri, S. and Hajlaoui, M. R. 2017. Health status of the pear tree following the establishment of fire blight in Northern Tunisia. International Journal of Fruit Science, 1-14.
- Gwinn, K. D. 2018. Bioactive natural products in plant disease control. Studies in Natural Products Chemistry, 56: 229-246.
- Iacobellis, N., Lo Cantore, P., Capasso, F. and Senatore, F. 2005. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53 (1): 57-61.
- Isman, B.M. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated World. Annual Review of Entomology, 51 (1):45-66.
- Johnson, K.B. and Stockwell, V.O. 1998. Management of fire blight: a case study in microbial ecology. Annual Review of Phytopathology, 36: 227-48.
- Karami-Osboo, R., Khodaverdi, M. and Ali-Akbari, F. 2010. Antibacterial effect of effective compounds of *Satureja hortensis* and *Thymus vulgaris* essential oils against *Erwinia amylovora*. Journal of Agricultural Science and Technology, 12 (1): 35-45.
- Kokoskova, B. and Pavela, R. 2007. Effectiveness of plant essential oils on the growth of *Erwinia amylovora*, the causal agent of fire blight disease. Pest Technology, 1 (1): 76-80.
- Kokoskova, B. Pavela, R. and Pouvova, D. 2011. Effectiveness of plant essential oils against *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and associated saprophytic bacteria on/in host plants. Journal of Plant Pathology, 93 (1): 133-139.
- Mangamma, P., and Sreeramulu, A. 1991. Garlic extract inhibitory to growth of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Indian Phytopathology, 44 (3): 372-374.
- Martinez-Velazquez, M., Rosario-Cruz, R., Castillo-Herrera, G., Flores-Fernandez, J. M., Alvarez, A. H. and Lugo-Cervantes, E. 2011. Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) Against *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (Acari: Ixodidae). Journal of Medical Entomology, 48 (4): 822-827.
- Mengulluoğlu, M., Soylu, S. 2012. Antibacterial activities of essential oils extracted from medicinal plants against seed-borne bacterial disease agent, *Acidovorax avenae* subsp *citrulli*. Research on Crops, 13: 641-646.
- Mertoğlu, K. and Evrenosoglu, Y. 2017. Phenological and fruit characteristics of the F1 hybrid pear population tested against the disease in breeding for fire blight resistance. Journal of Tekirdag Agricultural Faculty 14 (3): 104-115.
- Mirik, M. and Aysan, Y. 2005. Effect of some plant extracts as seed treatments on bacterial spot disease of tomato and pepper. The Journal of Turkish Phytopathology, 34 (1-2-3).
- Momol, T. and Yegen, O., 1993. Fire blight in Turkey. Acta Horticulturae, 338: 37-40.
- Öktem, Y. E. ve Benlioğlu, K. 1988. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et.al.) üzerine çalışmalar. V. Türkiye Fitopatoloji Kongresi (18-21 Ekim 1988) Bildiri Özetleri, TÜBİTAK Yayınları No: 643, TOAG Seri No: 128:71.
- Park, I., Park, J., Kim, K., Choi, K., Choi, I., Kim, C. and Shin, S. 2005. Nematicidal activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) oils against the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). Nematology, 7 (5): 767-774.

- Salem, M. Z. M., Ali, H. M. and Basalah, M. O. 2014. Essential oils from wood, bark, and needles of *Pinus roxburghii* Sarg. from Alexandria, Egypt: Antibacterial and antioxidant activities. *BioResources*, 9 (4): 7454–7466.
- Savoia, D. 2012. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future microbiology*, 7 (8): 979-990.
- Scortichini, M., and Rossi, M. P. 1989. In vitro activity of some essential oils toward *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et-al. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 24 (3-4): 423-431.
- Scortichini, M and Rossi, M.P. 1991. In vitro susceptibility of *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. to geraniol and citronelloli. *Journal of Applied Microbiology*, 71 (2): 113-118.
- Sertkaya, E., Kaya, K., Soylu, S. 2010. Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Bois.) (Acarina: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products*, 31: 107-112
- Soylu, S., Soylu, E.M., Evrendilek, G.A. 2009. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of bitter fennel (*Foeniculum yulgare* Mill. var. *vulgare*) and dill (*Anethum graveolens* L.) against the growth of food-borne and seed-borne pathogenic bacteria. *Italian Journal of Food Science*, 21: 347-355
- Soylu, E.M., Kurt, S., Soylu, S. 2010. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology*, 143: 183-189
- Thomson, S. V. 1986. The role of the stigma in fire blight infections. *Phytopathology* 76:476-482.
- Umarusman, M.A. 2018. Farklı Bitki Ekstraktlarının Bezelye Bakteriyel Yaprak Yanıklığına (*Pseudomonas syringae* pv. *pisii*) Antibakteriyel Etkilerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 64s.
- Vanneste, J.L. 2000. Fire Blight The Disease and Its Causative Agent, *Erwinia amylovora*. CABI Publishing, 370p.

Determination of Silage Yield and Quality Characteristics of Some Maize (*Zea mays L.*) Varieties

Bazı Mısır (*Zea mays L.*) Çeşitlerinin Silajlık Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi

Fatih ÖNER^{1*}, Adem GÜNEŞ²

Abstract

This research was to determine in 2015 vegetation period in Ordu. In research, 13 maize varieties was used as experimental materials. There search was done 3 times according to randomized block test pattern. In research, plant height changed between 309.93-365.20 cm, ear height changed between 99.80-150.63 cm, stem diameter changed between 23.44-27.84 mm, leaf count changed between 11.67-13.63, sowing to silking time changed between 55-65.33 days, anthesis to silking time changed between 59-67.33 days, stover yield changed between 4525.17-5984.28 kg/da, core yield changed between 2166.17-3569.57 kg/da, leaf/stem rate changed between 35.86-53.85 %, core/plant rate changed between 32.10-41.10 %, forage yield changed between 6736.33-9476.72 kg/da, dry matter yield rate changed between 1758.41-2153.43 kg/da, ADF rate changed between 25.61-30.80 %, NDF rate changed between 50.57-57.43 %, crude protein rate changed between 7.63-9.32 %. The highest green herb yield was obtained from Everest, TK 6063, OSSK 602, Sagunto, Cadız, Hido and Carella varieties.

Keywords: Quality, Silage Maize, Yield

Öz

Bu araştırma 2015 yılında Ordu'da yürütülmüştür. Araştırmada 13 mısır çeşidi materyal olarak kullanılmıştır. Araştırma tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Araştırmada bitki boyu 309.93-365.20 cm, ilk koçan yüksekliği 99.80-150.63 cm, sap çapı 23.44-27.84 mm, yaprak sayısı 11.67-13.63 adet, tepe püskülü gösterme süresi 55-65 gün, koçan püskülü gösterme süresi 59-67 gün, stover verimi 4525.17-5984.28 kg/da, koçan verimi 2166.17-3569.57 kg/da, yaprak/sap oranı % 35.86-53.85, koçan/bitki oranı % 32.10-41.10, yeşil ot verimi 6736.33-9476.72 kg/da, kuru madde verimi 1758.41-2153.43 kg/da, ADF oranı % 25.61-30.80, NDF oranı % 50.57-57.43, ham protein oranı % 7.63-9.32 arasında değişmiştir. En yüksek yeşil ot verimi Everest, TK 6063, OSSK 602, Sagunto, Cadız, Hido ve Carella çeşitlerinden elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kalite, Silajlık Mısır, Verim

^{1*}**Corresponding Author:** Fatih Öner, Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ordu. E-mail: fatihoner38@gmail.com, OrcID: 0000-0002-6264-3752

²Adem Güneş, Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Kahramanmaraş. E-mail: ademgunes27@hotmail.com.

Citation: Öner, F., Güneş, A. Bazı mısır (*Zea mays L.*) çeşitlerinin silajlık verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 42-50.

Maize or corn (*Zea mays L.*) commonly grown across all continents of the world ranks second in the world, following wheat, regarding the production area and ranks first regarding production quantity due to its high yield (Anonim, 2016a). In Turkey, maize ranks third following wheat and barley regarding cultivation area and production (Anonim, 2017).

In Turkey, according to the Turkish Statistical Institute (TurkStat) data, grain maize had 6.4 million tons of production in 680,019 hectares of cultivation area and yield of 942 kg/da. Silage maize had 20.14 million tons of production in 413,826 hectares of cultivation area and yield of 4868 kg/da in 2016. In the province Ordu, according to the TurkStat data, grain maize had 6089 tons of production in 5610 hectares of area and a yield of 109 kg/da in 2016. Silage maize had 7591 tons of production in 283 hectares of area and yield of 2678 kg/da in 2016 (Anonim, 2017).

Maize uses solar energy best and produces the highest yield among hot and cool climate cereals and the highest yield of dry matter per unit area (Kırtok, 1998). The use of maize in the industry has also been gradually increasing compared to other grains. The reasons include easy cultivation, harvesting, transportation, and storage as well as higher yield per unit area. In addition to being industrial raw material, maize is an important crop used in human and animal nutrition (Yalçın, 1997; Topuz, 2005).

Maize is the primary plant grown in the world for silage production. Maize (*Zea mays L.*) is among the most important forages. Maize is also among the most preferred plants for silage in Turkey and the world due to its high energy yield, suitability for mechanized agriculture from cultivation to harvesting, ease of storage and use, low loss rate, high dry matter content, high digesting rate, utilization as high-quality and delicious silage, high yield per unit area, availability of seeds, and storability in silos without any additives (Açıkgöz et al., 2002).

With the development of new varieties of silage maize, there has been a change in the understanding that high-quality and efficient grain maize varieties can also be varieties of high-quality silage maize and selection criteria and cultivation techniques have been reevaluated for silage maize (Ma et al., 2006). Therefore, in silage maize breeding, silage-specific soft-grain varieties with low NDF, high digestibility content, and slowly-declining kernel moisture are preferred rather than high-grain and strong-bodied varieties with rapidly-declining kernel moisture (Dwyer et al., 1998).

This research set out to determine silage yield and quality characteristics of some maize varieties to identify varieties that can be suggested for cultivation in the ecological conditions of Ordu. Thus, this research contributes to developing production and yield potential.

Materials and Methods

The research used 13 hybrid maize varieties obtained from seed companies as experimental material. The maize varieties were OSSK 596, OSSK 644, OSSK 602, TK 6063, Carella, Hido, SY Reserve, Everest, SY Inove, Calcio, Cadiz, Sagunto, and Tavascan.

The research was carried out in a farmer's land in Ordu from May to August 2015 vegetation period. The trial site is located at 40°57'37.96" N latitude and 37°56'23.64" E longitude at an altitude of 9 meters.

The average temperature was 21.83 °C, the total precipitation 194.7 mm, the average sunshine hours per month 599.8 hours, and the average humidity per month 71.75%.

The soil properties are as follows: clayey, pH 7.89, 2.15% of organic matter, 4.47 kg/da of phosphorus, and 77.7 kg/da of potassium.

The trial was based on a randomized block experimental design with three replications. Seeding was carried out on May 13th, 2015 on plots of 14 m² with an inter-row spacing of 70 cm, and intra-row spacing of 20 cm, and a depth of 5 to 6 cm. A mix of 20 kg nitrogen, 10 kg potassium, and 10 kg phosphorus per decare was used for fertilization (Güçdemir, 2006; Anonim, 2010).

After an edge effect of 30 cm and one row from each plot were excluded, 10 crops were randomly selected from each plot. The data were analyzed using SAS-JMP 11.0 statistical software. The Least Significant Difference (LSD) test was run to measure significant differences between means.

Results and Discussion

Plant Height (cm)

The difference in the plant height of the varieties was statistically significant ($p \leq 0.01$).

The smallest plant height was observed in the Hido variety with 309.94 cm and the greatest plant height in OSSK 644 with 365.20 cm. The mean plant height of the varieties was 326.94 cm (Table 1).

Table 1. Values of corn varieties taken for experiment were belong to plant height (PH), firs cob height (FCH), stem diameter (SD), number of leaf per plant (NLPP), sowing to silking (SS) and anthesis to silking interval (ASI).

Varieties	BB**	İKY**	SÇ	YS**	TPGS**	KPGS**
TK 6063	332.30 b	133.53 bc	25.74	13.17 a	58.00 efg	60.00 ef
Tavascan	323.57 bcd	112.57 f	25.24	13.43 a	59.00 def	61.00 def
SY Inove	337.40 b	130.27 cd	25.69	12.37 c	59.00 def	61.00 def
Sagunto	330.07 bc	118.13 ef	27.84	13.63 a	64.33 ab	66.33 ab
SY Reserve	330.77 bc	99.800 g	23.65	12.20 cd	56.00 fg	60.00 ef
OSSK 644	365.20 a	150.63 a	24.13	13.13 ab	59.00 def	61.00 def
OSSK 602	332.67 b	143.70 ab	25.96	11.67 d	55.00 g	59.00 f
OSSK 596	334.50 b	118.20 ef	25.83	12.53 bc	61.00 cde	63.00 cde
Hido	309.93 d	134.07 bc	23.44	13.43 a	65.33 a	67.33 a
Everest	308.47 d	125.47 cde	24.65	13.50 a	64.00 abc	66.00 abc
Carella	312.27 cd	113.90 ef	24.34	13.43 a	63.00 abc	65.00 abc
Calcio	322.27 bcd	120.33 def	24.97	13.13 ab	63.67 abc	65.67 abc
Cadız	310.87 d	111.50 f	26.26	13.03 ab	62.00 bcd	64.00 bcd
General Average	326.94	124.00	25.21	12.97	60.71	63.03
% VK	3.37	5.57	5.68	2.85	2.95	2.84

*Significant at $(P \leq 0.05)$, ** $(P \leq 0.01)$

The results on the plant height are above those reported to be 257-291 cm in Bayram (2010), 254-293.33 cm in Küçük (2011), 193.3-230 cm in Moralar (2011), 210-260 cm in Martin et al. (2012), 203.86-301.67 cm in Olgun et al. (2012), and 286.7-315.6 cm in Han (2016). However, they are consistent with 298-341 cm in Ergül (2008), 301-330 cm in Öner et al. (2011a), and 280-324 cm in Özata et al. (2012).

Ear Height (cm)

The difference in the ear height of the varieties was also statistically significant ($p \leq 0.01$). While the smallest ear height was obtained from SY Reserve with 99.80 cm and the greatest ear height from OSSK 644 with 150.63. The difference between OSK 644 and OSK 602 was statistically insignificant. The mean ear height of the varieties was 124.00 cm (Table 1).

The results on the ear height are above those reported to be 106.8-123.6 cm in Aydoğan (2010) and 85-126.6 cm in Moralar (2011) but below 119.7-177.7 cm in Kabakçı (2014). However, they are consistent with 100-140 cm in Martin et al. (2012), 92-135 cm in Öner et al. (2011b), and 110-153.3 cm in Han (2016).

Ear height is an important criterion for maize silage since it affects plant resistance to laying down.

Stem Diameter (mm)

The difference in the stem diameter of the varieties was statistically insignificant. The results on the stem diameter values are consistent with those reported to be 20.31-26.46 mm in Bayram (2010), 19-27 mm in Martin et al. (2012), 24.3-27.3 mm in Karaalp (2015), and 22.3-26.4 mm in Han (2016), while they are below 30.3-32.6 mm in Moralar (2011). The mean stem diameter of the varieties was 25.21 mm.

The stem diameter affects plant weight, namely forage yield in a directly proportional manner but silage quality in an inversely proportional manner.

Leaf Count (pieces)

The difference in the leaf count of the varieties was statistically significant ($p \leq 0.01$). The lowest leaf count was observed in OSSK 602 with 11.67 pieces; its difference with SY Reserve was statistically insignificant. The highest leaf count was observed in Sagunto with 13.63 pieces; its difference with the varieties Everest, Carella,

Hido, Tavascan, TK 6063, Calcio, OSSK 644, and Cadız was insignificant statistically. The mean leaf count of the varieties was 12.97 (Table 1).

The results on the leaf count are above those reported to be 8.73-10.97 pieces in Akbay (2012) and 9.8-11.6 pieces in Kabakçı (2014) but below 15.33-17.33 pieces in Moralar (2011) and 12.13-15.77 pieces in Kirendibi (2015). However, they are consistent with 12.33-14.68 pieces in Balmuk (2012) and 11.5-14.25 pieces in Aykanat (2015).

Leaves affect yield in silage maize. Leaves and stem are involved in photosynthesis. Leaves also contribute to the production of nutrients and the removal of excess water from plants through evaporation (Emeklier, 2012).

Sowing to Silking Period

There was a statistically significant ($p \leq 0.01$) difference between the varieties concerning the sowing to silking period. The shortest sowing to silking period was observed in OSSK 602 with 55.00 days; its difference with SY Reserve and TK 6063 statistically insignificant. The longest sowing to silking period was observed in Hido with 65.33 days. The mean sowing to silking period of the varieties was 60.71 days.

The results on the sowing to silking period are above those reported to be 47.2-56.5 days in Eralp (2007) but below 71-74 days in Öner et al. (2011b), 73.67-91.33 days in Akbay (2012), and 64.7-76.7 days in Kabakçı (2014). However, they are consistent with 53-63 days in Öner et al. (2011a) and 60.67-65.67 days in Kirendibi (2015).

Maize plants continue to grow height until silk emergence. When the balance of the sowing to silking period and the anthesis to silking interval is disturbed, it affects crop yield (Emeklier, 2012).

Anthesis to Silking Interval

There was a statistically significant ($p \leq 0.01$) difference between the varieties concerning the anthesis to silking interval. The shortest anthesis to silking interval was observed in OSSK 602 with 59.00 days; its difference with SY Reserve, Tavascan, SY Inove, OSSK 644, and TK 6063 was statistically insignificant. The longest anthesis to silking interval was observed in Hido with 67.33 days; its difference with Sagunto, Everest, Calcio, and Carella was statistically insignificant. The mean anthesis to silking interval was 63.03 days (Table 1).

The results on the anthesis to silking interval are above those reported to be 51.3-61.2 days in Eralp (2007) but below 73-77 days in Öner et al. (2011b) and 65.7-75.7 days in Kabakçı (2014). However, they are consistent with 65.67-71.67 days in Kirendibi (2015).

Stover Yield (Leaf+Stem)

The difference in the stover yield of the varieties was statistically significant ($p \leq 0.01$). The lowest stover yield was obtained from OSSK 644 with 4525.17 kg/da, while the highest stover yield was from TK 6063 with 5984.28 kg/da. The mean stover yield of the varieties was 5189.21 kg/da (Table 2).

Table 2. Values of corn varieties taken for experiment were belong to stover yield (SY), corncob yield (CY), leaf / stem ratio (L/S), cob/plant ratio (C/P) and forage yield (FY).

Varieties	SV**	KV**	Y/S**	K/B**	YOV**
TK 6063	5984,28 a	3051,06 bcd	40,84 de	34,05 de	9035,34 ab
Tavascan	4930,12 bc	2868,94 cde	46,95 bc	36,69 bcd	7799,06 bcde
SY Inove	4643,01 c	2500,41 ef	41,36 cde	35,06 cde	7143,43 de
Sagunto	5896,44 a	3027,49 bcd	46,06 bcd	33,95 de	8923,93 ab
SY Reserve	4583,02 c	3198,90 abc	46,83 bc	41,10 a	7781,92 bcde
OSSK 644	4525,17 c	2603,26 def	40,91 de	36,52 bcd	7128,43 de
OSSK 602	5860,01 ab	3066,06 bcd	35,86 e	34,42 de	8926,07 ab
OSSK 596	4632,30 c	2802,52 cde	39,61 e	37,83 bc	7434,82 cde
Hido	5159,38 abc	3353,17 ab	51,58 ab	39,39 ab	8512,55 abc
Everest	5907,15 a	3569,57 a	53,85 a	37,66 bc	9476,72 a
Carella	5075,82 abc	3138,91 abc	48,81 ab	38,24 abc	8214,73 abcd
Calcio	4570,17 c	2166,17 f	48,88 ab	32,1 e	6736,33 e
Cadız	5692,89 ab	2963,22 bcde	39,59 e	34,18 de	8656,10 abc
General Average	5189.21	2946.90	44.70	36.24	8136.11

% VK	10.84	9.36	7.44	5.29	9.55
*Significant at *(P≤ 0.05), **(P≤ 0.01)					

The results on the stover yield are above those reported to be 916.66-1601.19 kg/da in Balmuk (2012), 358.67-1017.87 kg/da in Akbay (2012), and 992.78-1352.78 kg/da in Kirendibi (2015).

Core Yield (kg/da)

The difference in the core yield of the varieties was statistically significant ($p \leq 0.01$).

The lowest core yield was obtained from Calcio with 2166.17 kg/da and the highest core yield from Everest with 3569.57 kg/da. The mean core yield of the varieties was 2946,90 kg/da.

The results on the core yield are above those reported to be 916.70-2452.38 kg/da in Balmuk (2012) and 1507.78-2000 kg/da in Kirendibi (2015) but 1595.23-6107.13 kg/da in Akbay (2012).

Core yield is of great importance for silage quality. 50% of green ear yield and 70% of nutrients are obtained from cores (Açıköz, 1991).

Leaf:Stem Ratio (%)

The difference between varieties was statistically significant concerning the leaf:stem ratio ($p \leq 0.01$). The variation in the leaf:stem ratio was within the range of 35.86 to 53.85%. The mean leaf:stem ratio of the varieties was 44.70%.

The results on the leaf:stem ratio are above those reported to be 26-43% in Öner et al. (2011a) but consistent with 41.3-52.3% in Erdal et al. (2009).

The quality of forage depends on the high volume of the leaf:stem ratio, protein concentration, and digestible nutrients but on the low volume of lignin and fiber (Heath et al., 1985). What is desired in silage maize varieties is high yield, high leaf count, and high core rate but low stem rate.

Core:Plant Ratio (%)

The difference between varieties was statistically significant ($p \leq 0.01$) concerning the core:plant ratio. The lowest core:plant ratio was obtained from Calcio with 32.10%. The highest core:plant ratio was from SY reserve with 41.10%. The mean core:plant ratio of the varieties was 36.24%.

The results on the core:plant ratio are above those reported to be 28.6-38.2% in Ergül (2008) and 23.84-32.48% in Küçük (2011) but below 44.26-58.05% in Aydoğan (2010), 39.51-59.69% in Olgun et al. (2012), and 41.23-47.66% in Kabakçı (2014). However, they are consistent with 33-41% in Öner et al. (2011a), 30-48% in Özata et al. (2012), and 28.1-43% in Aşar (2014).

The highest quality silage is obtained from materials with 25-30% or even more dry matter. For this reason, the grain content of silage is very important and it is desired that grain produces at least 25% of the harvested material (Heath et al., 1985).

Forage Yield (kg/da)

The difference in the forage yield of the varieties was statistically significant ($p \leq 0.01$). The lowest forage yield was obtained from Calcio with 6736.33 kg/da and the highest forage yield from Everest with 9476.72 kg/da. The mean forage yield of the varieties was 8136.11kg/da.

The results on the forage yield are above those reported to be 3190-7050 kg/da in Martin et al. (2012), 4673.7-8753.7 kg/da in Kabakçı (2014), 2020-2330 kg/da in Safdarian et al. (2014), and 4693-6029 kg/da in Anonim (2015) but below 9290-11356 kg/da in Aydoğan (2010) and 6698.81-13487.14 kg/da in Olgun et al. (2012). However, they are consistent with 6795-10348 kg/da in Ergül (2008) and 7270-8441 kg/da in Han (2016).

Dry Matter Yield (kg/da)

The difference in the dry matter yield of the varieties was statistically insignificant (Table 3).

Table 3. Values of corn varieties taken for experiment were belong to dry matter production (DMP), ADF (%), NDF (%) and crude protein yield (CPY).

Varieties	KMV	ADF*	NDF*	HPO*
TK 6063	2098.53	30,8 a	57,14 a	8,1 cd
Tavascan	1989.07	28,43 abcd	52,25 bcd	7,63 d
SY Inove	1928.92	30,75 ab	55,73 ab	7,74 d
Sagunto	2055.95	28,12 abcd	54,21 abcd	9,23 ab
SY Reserve	2098.65	25,61 d	50,57 d	8,48 abcd
OSSK 644	1867.12	27,14 cd	51,95 bcd	8,38 abcd
OSSK 602	2120.28	27,87 bcd	52,87 bcd	8,44 abcd
OSSK 596	2004.52	26,52 cd	51,11 cd	8,34 bcd
Hido	1968.94	28,78 abc	54,81 abc	8,96 abc
Everest	2153.43	26,91 cd	52,41 bcd	9,32 a
Carella	2008.83	27,07 cd	52,42 bcd	9,03 abc
Calcio	1758.41	30,49 ab	57,43 a	7,91 d
Cadiz	1932.76	29,28 abc	55,58 ab	9,09 ab
General Average	1998.87	28.29	53.73	8.51
% VK	7.99	6.13	4.28	6.69

*Significant at $(P \leq 0.05)$, ** $(P \leq 0.01)$

The results on the dry matter yield are above those reported to be 1243.72-1725.88 kg/da in Balmuk (2012), 1867.7-1105 kg/da in Özata et al. (2012), 733.94-1697.70 kg/da in Akbay (2012), and 469.5-2001.5 kg/da in Ferreira, (2015) but below 2402-3242 kg/da in Aydoğan (2010) and 1826.67-4100.33 kg/da in Olgun et al. (2012). However, they are consistent with 1374.71-2152.67 kg/da in Küçük (2011), 1606.6-1895.8 kg/da in Aşar (2014), and 1527-2320 kg/da in Ferreira et al. (2014).

ADF (%)

The difference between varieties was statistically significant concerning ADF rate ($p \leq 0.05$). ADF rate varied from 25.61 to 30.80%. The mean ADF rate of the varieties was 28.29%.

The results on the ADF rate are consistent with those reported to be 27.3-30.8% in Ferreira et al. (2014) but below 28.67-40.92% in Bayram (2010), 31-41% in Öner et al. (2011a), 24.1-40.9% in Özata et al. (2012), 22.7-44.0% in Martin et al.(2012), 27-33% in Safdarian et al. (2014), and 32.9%-34.8% in Karaalp (2015).

ADF is composed of cellulose and lignin and indicative of the digestibility of nutrients. The digestibility of cellulose varies; however, a high amount of lignin has a negative effect on the digestibility of cellulose. The lower ADF rate is, the greater digestibility is. ADF rate is expected to be low in forages (Anonim, 2016b).

Considering that the ADF rates were lower than 31%, all maize varieties are classified as top quality.

NDF (%)

The difference between varieties was statistically significant ($p \leq 0.05$) concerning NDF rate. The lowest NDF rate was observed in SY Reserve with 50.57% and the highest NDF rate in Calcio with 57.43%. The mean NDF rate of the varieties was 53.73%.

The results on the NDF rate are above those reported to be 46.3-47% in Karaalp (2015), 43.7-47.5% in Row et al. (2015), and 33.89-43.94% in Anonim (2015) but below those reported be 48.0-65.8% in Martin et al. (2012), 57.50-73.85% in Balmuk (2012), and 52.1-59% in Safdarian et al.(2014). However, they are consistent with 49-60% in Öner et al. (2011a), 47.5-58.9% in Özata et al. (2012), and 41.8-58.8% in Ferreira (2015).

NDF represents all nutrients that form the digestible and indigestible cell wall (structural carbohydrates). A low NDF rate is desired (Anonim, 2016b).

The NDF rate of OSSK 602, Carella, Everest, Tavascan, OSSK 644, OSSK 596, and SY Reserve varied from 47 to 53%, indicating a good quality; the remaining varieties demonstrated a medium quality.

Crude Protein Ratio (%)

The difference between varieties was statistically significant ($p \leq 0.05$) concerning crude protein content. The lowest crude protein content was observed in Tavascan with 7.63% and the highest crude protein content in Everest with 9.32%. The mean crude protein value of the varieties was 8.51%.

The results on the crude protein content are above those reported to be 5.13-5.93% in Aydoğan (2010), 5.2-6.5% in Aşar (2014), 4.2-7.2% in Safdarian et al. (2014), 6.94-7.93% in Anonim (2015), and 6.5-8.1% in Han (2016) but below 6.72-11.26% in Kirendibi (2015), 6.7-11.5% in Ferreira (2015), and 10.4-10.9% in Row et al. (2015). However, they are consistent with 5.11-11.16% in Balmuk (2012), 5.2-9.06% in Özata et al. (2012), 6.3-10.7% in Martin et al. (2012), 7.7-8.8% in Ferreira et al. (2014), and 7.7-8.8% in Karaalp (2015).

Protein ratio is an important quality criterion in silage maize; thus, high protein content is desired.

The crude protein ratio of Calcio, SY Inove, and Tavascan was lower than 8%, indicating a poor quality while the remaining varieties demonstrated a low quality.

Conclusion

The plant height varied from 308.47 to 365.20 cm. While the smallest plant height was observed in Everest with 308.47 cm, the greatest plant height was in OSSK 644 with 365.20 cm. The greatest ear height was observed in OSSK 644 with 150.63 cm and the smallest ear height in SY Reserve with 99.80 cm. The Sagunto variety had the largest stem diameter with 27.84 mm, while Hido had the smallest stem diameter with 23.44 mm.

The leaf count varied from 11.67 to 13.63. Sagunto had the highest leaf count with 13.63 pieces. Considering the sowing to silking period, the earliest variety was OSSK 602 with 55 days, while the latest was Hido with 65 days. Everest produced the highest core yield with 3569.57 kg/da. Similar to the sowing to silking period, OSSK 602 demonstrated the shortest anthesis to silking interval with 59 days and Hido the longest with 67 days. TK 6063 produced the highest stover yield with 598.428 kg/da. The lowest Stover yield was obtained from OSSK 644 cultivars with 4525.17 kg/da. Everest had the highest leaf:stem ratio with 53.85% and OSSK 602 had the lowest with 35.86%. SF Reserve had the highest core:plant ratio with 41.10%.

The highest forage yield was obtained from Everest with 9476.72 kg/da, while the lowest forage yield was from Calcio with 6736.33 kg/da. Similar to the forage yield, Everest produced the highest dry matter yield with 2153.43 kg/da and Calcio produced the lowest with 1758.41 kg/da. The highest ADF rate was obtained from TK 6063 with 30.80% and the lowest from SF Reserve with 25.61%. The highest NDF rate was obtained from Calcio with 57.43% and the lowest from SF Reserve with 50.57%. Everest had the highest crude protein content with 9.32% and Tavascan had the lowest with 7.63%.

This study found that the ecological conditions in Ordu are suitable for silage maize cultivation and the silage maize forage yield is higher than in most places in Turkey. The silage maize varieties, which stand out in terms of forage yield in the ecological conditions in Ordu are Everest, TK6063, OSSK 602, Sagunto, and Hido.

References

- Açıkgöz, E., Turgut, İ., Filya, İ. (2002). *Silaj bitkileri yetiştirme ve silaj yapımı*. Hasad Yayıncılık Limited Şirketi, ISBN 975-8377-19-1.
- Açıkgöz, E., (1991). *Yem bitkileri*. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bursa.
- Akbay, S. (2012). *Tokat ekolojik koşullarında ikinci ürün olarak yetiştirilebilecek bazı silajlık mısır (ZeamaysL.) çeşitlerinin verim ve verim özelliklerinin belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Anonim, (2010). *Tarımsal değerleri ölçme denemeleri teknik talimatı*, <http://www.tarim.gov.tr/BUGEM/TTSM/Belgeler/Tescil/Teknik%20Talimatlar/S%C4%B1cak%20C4%B0klım%20Tah%C4%B1llar%C4%B1/m%C4%B1s%C4%B1r.pdf> (Erişim tarihi: 27.09.2017)
- Anonim, (2015). 2015 Results: PA Commerical grain and silage hybrid corn tests report, *PennState*, <http://extension.psu.edu/plants/crops/grains/corn/hybrid-tests/2015-reports> (Erişim Tarihi: 25.10.2016).
- Anonim, (2016a). *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*, <http://www.fao.org/faostat/en/#home>, (Erişim tarihi: 01.10.2016)
- Anonim, (2016b). *Deciphering hay quality, kentucky equinee search*, http://www.morganequine.com/uploads/5/6/7/9/5679571/_testing_hay_quality.pdf, (Erişim tarihi: 25.10.2016).
- Anonim, (2017). *Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)*, <http://www.tuik.gov.tr>, (Erişim Tarihi: 27.05.2017).
- Aydoğan, V. (2010). *Ordu İlinde yetiştirilen bazı yerel ve melez mısır çeşitlerinin silaj kalitelerinin belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ordu.
- Aykanat S., Korkmaz Y., Barut H. (2015). Adana ekolojisi II. ürün koşullarında farklı mısır çeşitlerinin silajlık özelliklerinin belirlenmesi. *GAP VII. Tarım Kongresi*, 28 Nisan-1 Mayıs 2015, Şanlıurfa.
- Balmuk, Y. (2012). *Konya Yunak koşullarında ikinci ürün olarak yetiştirilebilecek silajlık mısır çeşitlerinin verim ve verim özelliklerinin belirlenmesi*. (Yüksek lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tokat.
- Bayram, M. (2010). *İkinci ürün silajlık mısır tarımında farklı toprak işleme yöntemlerinin mısır çeşitlerinin verim ve kalitelere etkileri*. (Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Makinaları Anabilim Dalı, Tokat.
- Dwyer, L.M., Stewart D.W & Glenn, F. (1998). *Silage yields of leafy and normal hybrids*. Com and Sorghum Conf. Am. Seed Trade.Assoc. Washington D.C.
- Emeklier, Y. (2012). *Sıcak iklim tahılları*. Ankara Üniversitesi Yayınları, ISBN: 978-605-136-006-5, Ankara, 118.
- Eralp, Ö. (2007). *Menemen koşullarında ikinci ürün tarımına uygun silajlık mısır çeşitlerinin belirlenmesi*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Erdal, Ş., Pamukçu, M., Ekiz, H., Soysal, M., Savur, O., Toros, A. (2009). Bazı silajlık mısır çeşit adaylarının silajlık verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (1) 75-81, Antalya.
- Ergül, Y. (2008). *Silajlık mısır çeşitlerinin önemli tarımsal ve kalite özelliklerinin belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Konya.
- Ferreira G., Alfonso M., Depino, S., Alessandri, E. (2014). Effect of planting density on nutritional quality of green-chopped corn for silage. *J. Dairy Sci.* 97: 5918–5921.
- Ferreira, G. (2015). Understanding the effects of drought stress on corn silage yield and quality. *Tri-State Dairy Nutrition Conference*, April 20-22, 2015, Virginia, ABD.
- Güçdemir, İ.H. (2006). *Türkiye gübre ve gübreleme rehberi*. Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Genel Yayın No: 231, Teknik Yayınlar No. T. 69, Ankara.
- Han, E. (2016). *Bazı mısır çeşitlerinin dane verimleri ile silaj ve kalite özelliklerinin belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Heath, M.E., Bomes, R.F., Metcalfe, D.S., (1985). *Forages*. Iowa State University Press. Fort Educators, Ames, Iowa, USA.
- Kabakçı, S. (2014). *Iğdır ekolojik şartlarına uygun silajlık mısır (ZeamaysL.) çeşitlerinin belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Bölümü Anabilim Dalı, Iğdır.
- Karaalp, S. (2015). *İkinci ürün şartlarında yetiştirilen silajlık mısır çeşitlerinin sıra üzeri mesafeye tepkilerinin Boğazlıyan şartlarında belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Kayseri.
- Kırtok, Y. (1998). *Mısır üretimi ve kullanımı*. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Adana.
- Kirendibi, E. (2015). Çankırı ekolojik koşullarında ana ürün olarak yetiştirilebilecek silajlık çeşitlerinin verim ve verim özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri, Tokat.
- Küçük, B. (2011). *Bazı silajlık mısır çeşitlerinde morfolojik özelliklerin ve yem verimlerinin belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ma, B.L., Subedi, K.D., Stewart, D.W., Dwyer, L.M. (2006). Dry matter accumulation and silage moisture changes after silking in leafy and dual-purpose com hybrids. *Agronomy Journal*, 98(4): 922-929.
- Martin, T.N., Vieira V.C., Menezes L. F. G., Ortiz S., Bertocelli P., Storck L. (2012). Bromatological characterization of maize genotypes for silage. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 34(4): 363-370.
- Moralar, E. (2011). *Tekirdağ ilinde yetiştirilen bazı silajlık mısır çeşitlerinde gelişme sürecinin belirlenmesi ve verimliliklerinin tespiti*. (Yüksek Lisans Tezi), Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tekirdağ.

- Olgun, M., Kutlu İ., Ayter N. G., Başçıftçi Z., Kayan N. (2012). Farklı silajlık mısır genotiplerineskişehir koşullarında adaptasyon yeteneklerinin belirlenmesi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5(1): 93-97.
- Öner, F., Aydın, İ., Sezer, İ., Gülümser, A., Mut, Z. (2011b). Samsun koşullarında bazı hibrit mısır çeşitlerinin verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Türkiye 9. Tarla Bitkileri Kongresi*, Bursa.
- Öner, F., Aydın, İ., Sezer, İ., Gülümser, A., Özata, E., Algan, D. (2011a). Bazı silajlık mısır çeşitlerinde verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Türkiye 9. Tarla Bitkileri Kongresi*, Bursa.
- Özata, E., Öz, A., Kapan, H. (2012). Silajlık hibrit mısır çeşit adaylarının verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5(1): 37-41
- Row, C.A. (2015). *Cornplant maturity effect on yield and nutritional quality; corn silage in oculation on performance of cattle fed silage with or without live yeast added.* (Forthe Degree of Master of Science), University of Nebraska, AnimalScience, Lincoln, Nebraska
- Safdarian, M., Razmjoo, J., Dehnavi, M. M. (2014). Effect of nitrogen sources and rates on yield and quality of silage corn. *Journal of Plant Nutrition*, 37: 611–617.
- Topuz, N. (2005). *Ege bölgesi bazı illerinde, süt sığırcılığı işletmelerinde silaj mekanizasyonu örneğinde ortak makine kullanım olanakları.* (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım makineleri, ABD, İzmir.
- Yalçın, H. (1997). *Silajlık ikinci ürün mısır üretiminde uygun toprak işleme yöntemlerinin belirlenmesi üzerinde bir araştırma.* (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Makineleri, ABD, İzmir.

Bazı Korunga (*Onobrychis viciifolia*) Çeşit ve Popülasyonlarının Mikrosatellit Belirteçleri Kullanılarak Genetik Karakterizasyonu*

Genetic Characterization of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) Varieties and Populations Using Microsatellite Markers

Selman ÖZKAN¹, Behiye Banu BİLGEN^{2**}

Öz


Ülkemizin özellikle İç ve Doğu Anadolu bölgelerinde yaygın bir şekilde yetiştiriciliği yapılan korunga (*Onobrychis viciifolia Scop.*) hayvan beslenmesinde, toprak yapısını iyileştirmede ve arılar için nektar kaynağı olarak önemli bir baklagildir. Bu çalışmada ülkemizin tescilli çeşitleri Özerbey ve Lütfübey’de, Kırşehir bölgesinden elde edilmiş iki yerel popülasyonda (Kırşehir-1, Kırşehir-2) ve Bulgaristan’a ait Pleven popülasyonunda 10 SSR lokusu kullanılarak çeşit ve popülasyonların genetik yapısı incelenmiştir. Çalışmada kullanılan 10 SSR lokusunun tamamı polimorfik olarak saptanmıştır. Analiz edilen 91 örnekte toplam 68 allel tespit edilmiştir. Genetik çeşitlilik parametrelerinden, lokus başına düşen ortalama allel sayısı ($N_a=1.365$), etkili allel sayısı ($N_e=1.348$), Shannon Sabiti ($I=0.322$), Nei’nin genetik çeşitlilik değeri ($h=0.210$) ve Nei’nin tarafsız çeşitlilik değeri ($u_h=0.222$) hesaplanmıştır. Popülasyonların genetik çeşitliliğinin büyük oranda (%92) popülasyon içerisinde olduğu, popülasyonlar arası çeşitliliğin ise çok düşük olduğu (%8) gözlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen UPGMA dendrogramına göre birbirine yakın bulunan Özerbey ve Lütfübey bir grup, Pleven ve Kırşehir-2 ayrı bir grup olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar türün genetik yapısı hakkında önemli bilgiler vermiştir.

Anahtar Kelimeler: Baklagiller, Genetik çeşitlilik, Moleküler belirteçler, *Onobrychis viciifolia*, SSR

Abstract

The sainfoin (*Onobrychis viciifolia Scop.*), which is widely grown in our country especially in the Central and Eastern Anatolian regions, is used for animal feed, improving the structure of soil and nectar source for bees. In this study, genetic structure of two cultivars (Özerbey and Lütfübey) and three populations (Pleven, Kırşehir-1 and Kırşehir-2) were investigated using 10 SSR loci. All of the SSR loci used in the study were polymorphic. A total of 68 alleles were identified in 91 samples analyzed. Genetic diversity parameters such as; mean number of alleles per locus ($N_a=1.365$), effective allele number ($N_e=1.348$), Shannon information index ($I=0.322$), Nei’s genetic diversity level ($h=0.210$), and Nei’s unbiased genetic diversity level ($u_h=0.222$) were calculated. It was observed that the genetic diversity of the populations was mainly due to within population variation (92%) and the remaining portion was due to variation between populations (8%). According to the UPGMA dendrogram obtained from the study, Özerbey and Lütfübey occurred in one cluster, Pleven and Kırşehir-2 populations occurred in the second cluster. The results obtained from this study provided important information on the genetic structure of the studied sainfoin populations.

Keywords: Fabaceae, Genetic diversity, Molecular markers, *Onobrychis viciifolia*, SSR

**Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Behiye Banu Bilgen, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim dalı, Tekirdağ. E-mail: bbilgen@nku.edu.tr,  ORCID: 0000-0001-8323-2509

¹Selman Özkan, Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Tekirdağ, E-mail: selman.ozkan54@gmail.com.

Atıf/Citation: Özkan, S., Bilgen, B.B. Bazı korunga (*Onobrychis viciifolia*) çeşit ve popülasyonlarının mikrosatellit belirteçleri kullanılarak genetik karakterizasyonu. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 51-60.

*Bu makale Selman ÖZKAN’ın yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Extended Summary

The genus *Onobrychis* belonging to Fabaceae family includes approximately 130 species. Cultivated sainfoin is an allotetraploid species ($2n = 4x = 28$). Eastern Mediterranean region and western Asia are the main biodiversity centers for *Onobrychis viciifolia*. The sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.), which is widely grown in our country especially in the Central and Eastern Anatolian regions, is used for animal feed, improving the structure of soil and nectar source for bees. ‘Sainfoin’ word is originated from the two French words “sain” and “foin” that means “healthy hay”. It is characterized by high contents of condensed tannins and these tannins support protein digestion in some grazing animals. Moreover, sainfoin has anthelmintic effect due to containing tannins and secondary compounds. In Turkey, around 70 sainfoin species are grown naturally and 27 of them are reported to be endemic to our country. The molecular studies about genetic characterization, genetic diversity, molecular phylogeny, transcriptome analysis, gene transfer, and cloning started rapidly in the 2000s. Many researchers have carried out different studies (agro-morphological, biological, cytological, phenological, genetic characterization, gene transfer etc.) in various countries with the sainfoin. Although there are not enough number of microsatellite markers specifically designed for *Onobrychis* species, there are some studies in the literature about the genetic characterization of sainfoin genotypes with the use of markers designed for other legume species. Generally AFLP, SSR, ISSR, RAPD, ITS region, *trnL-trnF* region and SRAP markers designed for other legume species mainly used for molecular studies in sainfoin populations. Kempf et al. (2016) reported new novel SSR markers firstly in diverse sainfoin germplasm and then these SSR markers are being used in genetic diversity studies. The main aims of our study were (1) to determine the genetic structure of the studied sainfoin cultivars and populations by SSR analysis; (2) to estimate the genetic diversity parameters; (3) to compare acquired information about genetic diversity with the other studies in the literature.

Fresh leaves of around 20 individuals from each of the varieties (Özerbey and Lütfübey) and populations (Pleven, Kırşehir-1, and Kırşehir-2) of *O. viciifolia* were used for DNA extraction. Fresh leaves were stored at -80°C until DNA isolation. The leaves belonging to individuals of each population was ground with a ball mill before DNA isolation. Total genomic DNA was isolated by Doyle and Doyle (1990) CTAB based protocol with slight modifications. The DNA in samples was quantified with Qubit® 2.0 Fluorometer and also controlled by electrophoresis on 1% agarose gels. The extracted DNA samples stored at $+4^{\circ}\text{C}$ for further use. In this study, genetic structure of two varieties and three populations were investigated using 10 SSR loci (OVK036, OVK094, OVK125, OVM033, OVK161, OVM125, OVK046, OVM061, OVK174, and OVK101) selected from developed 101 microsatellite markers (SSRs) specific to *O. viciifolia* from the study of Kempf et al. (2016). M13 tail protocol developed by Schuelke (2000) was used because of its economical nature for the determination of PCR fragment size. M13 primers were 5' end-labeled with fluorochromes (PET, NED, VIC, and FAM). The PCR amplifications were performed as described in Kempf et al. (2016). The DNA amplifications by PCR were carried out by using the Applied Biosystems® ProFlex™ PCR System Thermal Cycler. Amplified allele fragments were separated using a 3500 Genetic Analyzer and their size was determined with GeneMapper software version 5.0. For the analysis of SSR data, allelic frequencies, effective numbers of alleles (N_e), polymorphism level, Shannon's information index (I), Nei's genetic diversity level (h and h_u) and polymorphic information contents (PIC) were calculated using the software GenAlEx Version 6.3 (Peakall and Smouse, 2006) and (Roldan-Ruiz et al. 2000). Cluster analysis was performed by using the unweighted pair group method (UPGMA). UPGMA tree was constructed by Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 (MEGA6) software (Tamura et al., 2013).

All of the SSR loci used in the study were polymorphic. Using 10 SSR, 68 alleles with a mean of 6.8 alleles per population and locus were identified in 91 samples analyzed. Considering five studied sainfoin groups, OVK046 has the highest number of alleles (11 alleles) and the locus OVK174 has the lowest number of alleles (three alleles). OVK161 has 9 alleles, OVK036 and OVK094 have 8 alleles, OVM033 and OVM061 have 7 alleles, OVK101 has 6 alleles, OVK125 has 5 alleles, OVM125 has 4 alleles. There were totally 16 private alleles in studied sainfoin varieties and populations. Özerbey has one private allele for OVK101, Lütfübey has two private alleles for OVK036 and OVK161. Pleven has seven private alleles for OVK036, OVK094, OVM033, OVK046, OVM061, OVK174 and OVK101, Kırşehir-1 has 2 private alleles for OVK036 and OVK046, and Kırşehir-2 has 4 private alleles for OVK094, OVM033, OVK161 and OVK046. When we consider all of the studied sainfoin individuals, the overall mean PIC (polymorphic information contents) value of studied SSR loci was estimated as 0.210. The highest mean PIC value was observed in OVK125 primer. The lowest mean PIC value was observed in OVK161 primer. PIC estimation results in both this study and Kempf et al. (2016) study were consistent with each other.

Genetic diversity parameters such as; mean number of alleles per locus ($N_a=1.365$), effective allele number ($N_e=1.348$), Shannon information index ($I=0.322$), Nei's genetic diversity level ($h=0.210$), and Nei's unbiased

genetic diversity level ($uh=0.222$) were calculated. Overall mean Shannon's Information index (I) was estimated as 0.322, the highest in Pleven population (0.385) and lowest in Kırşehir-1 population (0.251). The highest Nei's (1987) unbiased genetic diversity (uh) level was calculated as 0.269 in Pleven population, whereas the lowest value was 0.170 in Kırşehir-1 population. It was observed that the genetic diversity of the populations was mainly due to within population variation (92%) and the remaining portion was due to variation between populations (8%). The AMOVA result shows that there is a wide range of genetic diversity within the populations. Nei's (1987) genetic similarity coefficient ranged from 0.943 (Pleven-Kırşehir-1) to 0.982 (Özerbey-Lütfübey) among all possible population pairs. When all population pairs were taken into consideration, the mean genetic distance value was 0.038 and the mean genetic similarity value was calculated as 0.963. According to the UPGMA dendrogram obtained from the study, Özerbey and Lütfübey occurred in one cluster, Pleven and Kırşehir-2 populations occurred in the second cluster. According to the results obtained, it is seen that Kırşehir-1 population is genetically diverse slightly than the other sainfoin varieties and populations.

Allelic richness and availability of population-specific alleles (private alleles) are the important basic diversity measurement tools. Determined high level of private alleles and allelic richness may be regarded as a clear expression of genetic diversity of individuals. Genetic characterization of existing germplasm is significant in order to conserve sainfoin genetic resources, reveal genetic potential and provide new alternative approaches for further breeding programs. The results obtained from this study provided important information on the genetic structure of the studied sainfoin populations. The SSR primers used in this study were first SSR primers which are specific to *O. viciifolia* (Kempf et al. 2016). This study, which we used sainfoin specific SSR loci, provided information about the genetic diversity of the species, inter and intra population variation, and also will be the significant reference for subsequent studies. It will also inform us about the genetic structure of the species and guide us to the biodiversity that sainfoin have. With the molecular studies, we can reveal the hidden information in the genomes of plants that can be grown especially at marginal habitats, therefore the breeding studies based on the genetic structure knowledge of studied species will be planned in order to develop new varieties or cultivars.

İnsanoğlunun dengeli, yeterli ve sağlıklı beslenebilmesi bakımından hayvansal kaynaklı gıdalar büyük önem arz etmektedir. Hayvansal ürünlerin üretim aşamasında yapılan masrafların %70'lik gibi büyük bir kısmını oluşturan yem ve besleme masrafları, işletmenin karlılığını önemli bir ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle hem nispeten daha ucuz hem de ruminant hayvanların sindirim faaliyetlerini olumlu yönde etkileyen kaba yemler ve kaba yemleri oluşturan bitkiler büyük önem arz etmektedir (Özkan ve Demirbağ, 2016). Korunga (*Onobrychis vicifolia* Scop.), Baklagiller (Fabaceae) familyasına ait, farklı ekolojik koşullarda yetişebilen, yabancı döllenmiş faydalı çok yıllık bir yem bitkisi türüdür (Elçi, 2005). Korunganın yayılma alanı içerisinde yer alan ülkemizde 70 kadar korunga türü doğal olarak yetişmektedir ve tespit edilen bu türlerden 27 tanesinin endemik tür olduğu bildirilmiştir (Aktoklu, 1995; Açıkgöz, 2001). Ülkemizde en fazla korunga yetiştiriciliği Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerimizde yapılmaktadır. Kıraç ve kireçli toprak yapısındaki alanlarda yetiştirilebilecek en uygun yem bitkisi olan korunga, ot kalitesi ve hayvan performansı açısından verimli olması, hayvanlarda şişme yapmaması, yapay meralarda ve/veya ıslah çalışması yapılan meralarda geniş bir kullanım alanının bulunması, içerdiği tanenler ve ikincil bileşikler nedeniyle antihelmintik etki göstermesi, içerdiği yüksek miktardaki nektar ve polen nedeniyle iyi bir arı merası olarak işlev görmesi gibi birçok özellik bakımından önemli bir bitkidir (Tosun, 1992; Özbek, 2011; Özalp ve Temel, 2016).

Korunga bitkisi ile ilgili moleküler çalışmalar 2000'li yıllarda gelişen teknoloji ile hızlanmıştır. *Onobrychis* türü için spesifik olarak dizayn edilmiş mikrosatellit belirteçleri yayınlanana kadar diğer baklagil türlerinde dizayn edilmiş belirteçlerin korunga türlerinde denenmesine yönelik çalışmalar literatürde mevcuttur. Carbonero (2011) tarafından yapılan tez çalışmasında, 291 farklı korunga aksasyonu hem morfolojik hem de moleküler tabanlı olarak araştırılmıştır. Aksasyonlar arası çeşitliliğin belirlenmesi için AFLP ve SSR belirteçleri kullanılmıştır. Türün moleküler yapısı ve çeşitliliği ile ilgili ülkemizde yapılan çalışmaların başında, Avcı ve ark. (2014) tarafından Türkiye'den örneklenen 58 *Onobrychis* taksonu üzerinde yapılan çalışmada yakın akraba türlerine ait 95 SSR lokusu denenmiş, bu lokuslardan 14 tanesi genetik çeşitliliğin belirlenmesi amacı ile kullanılmıştır. Demdoun ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada *Medicago truncatula*'dan seçilen 24 SSR primeri ve *Glycine max*'dan seçilen 3 SSR primeri kullanılarak 23 korunga aksasyonunda genetik benzerlik oranı belirlenmiştir.

Bu çalışma kapsamında; farklı korunga çeşit ve popülasyonlarının SSR lokusları açısından genetik yapıları ortaya konulmuş, çalışılan çeşit ve popülasyonların genetik parametrelerinin tahmin edilmesi ile genetik çeşitlilik düzeyleri belirlenmiş ve belirlenen genetik çeşitlilik düzeyleri literatürde mevcut olan diğer çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçların yüksek adaptasyon kabiliyeti ve performansa sahip yeni korunga çeşitlerinin geliştirilmesinde kullanılacak en uygun ıslah stratejilerinin belirlenmesinde ıslahçılara yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Materyal ve Yöntem

Bitki materyali

Bu çalışmada, bitki materyali olarak ülkemizin tescilli 2 korunga çeşidi (Özerbey ve Lütfübey) ve biri yurtdışı kaynaklı (Pleven popülasyonu) diğer ikisi yurtiçi kaynaklı (Kırşehir-1 ve Kırşehir-2 popülasyonları) 3 korunga popülasyonu kullanılmıştır.

DNA izolasyonu

Korunga (*O. vicifolia*) bitkisinden saf DNA elde etmek içerdiği yüksek tanen ve ikincil bileşikler nedeniyle güçleşmektedir. Kaliteli ve iyi miktarda DNA izolasyonu yapabilmek için çalışmada birden çok izolasyon metodu ve modifikasyonları denenmiştir (Doyle ve Doyle, 1990; Souza ve ark., 2012; Healey ve ark., 2014). DNA izolasyonu optimizasyonları sonucunda Doyle ve Doyle (1990) metodu bazı modifikasyonlarla kullanılmıştır. Tarladan toplanan çeşit ve popülasyonlara ait genç ve taze yaprak örnekleri Retsch® MM4000 homojenizatör yardımıyla ezilmiş, ardından DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA örneklerinin kalite ve miktar tayinleri Nanodrop®1000 spektrofotometre cihazı yardımıyla Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında ve Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Moleküler Genetik Laboratuvarında yapılmış ve %1'lik agaroz jel içinde 1X TBE tamponunda 90 Voltta 45 dk yürütülerek UV ışık altında Gel Imaging System Vilber Lourmat Quantum ST5 ile görüntülenmiştir. Elde edilen DNA örnekleri PCR işlemleri yapıncaya kadar +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

SSR analizleri

Bu çalışmada kullanılmak üzere belirlenen 10 SSR primeri Kempf ve ark. (2016) tarafından korungaya spesifik olarak ilk geliştirilen 101 SSR primeri içinden seçilmiştir. Çalışmada, ekonomik olması sebebiyle Schuelke (2000) tarafından geliştirilen M13 primer işaretleme yöntemi kullanılmıştır. DNA amplifikasyonları, SSR primerleri için PCR analizleri Kempf ve ark. (2016)'nın çalışmasındaki reaksiyon koşullarında ve PCR döngülerinde denenmiş, ayrıca laboratuvar şartlarımıza uygun gerekli optimizasyonları yapılmıştır. PCR bantlarının istenilen bölgede olup

olmadığını ve spesifik bağlanmaların olup olmadığını kontrol etmek için %2'lik agaroz jelde 1X TBE tamponunda 110 Voltta yaklaşık 120 dk yürütülmüştür. Bantlar UV ışık altında Gel Imaning System Vilber Lourmat Quantum ST5 ile görüntülenmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin DNA parça (fragment) büyüklüklerini belirlemek için hizmet alımı yapılmıştır. Çalışılan çeşit ve populasyonlardaki örneklerden DNA parça (fragment) analizlerinin sonuçları laboratuvarımızda GeneMapper Software 5.0 (Applied Biosystems) yazılımı ile değerlendirilmiş ve primerlerin sahip olduğu allellerin büyüklükleri tespit edilmiştir. Verilerin istatistiki analizleri çeşit ve populasyonların genetik yapısını belirleyebilmek için her birinde, polimorfik lokuslar ve yüzdeleri, polimorfik lokuslarda gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), Nei (1987)'nin genetik çeşitlilik değeri (h), Nei (1987)'nin tarafsız genetik çeşitlilik değeri (uh), Shannon sabiti (I) ve standart hataları hesaplanmıştır. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) Roldan-Ruiz ve ark. (2000)'nin geliştirdikleri formül kullanılarak hesaplanmıştır. İstatistiki analizler için elde edilen veriler GenAlEx (Version 6.5) (Peakall ve Smouse, 2006) istatistik yazılım programı kullanılarak yapılmıştır. Basamaklı mutasyon modeline göre moleküler varyans analizinde (AMOVA) GenAlEx (Version 6.5) istatistik programından yararlanılmıştır. Nei'nin populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma düzeyini tespit etmek için Nei'nin tarafsız genetik mesafe ve benzerlik katsayıları hesaplanmıştır (Nei, 1987). Sonuçların daha anlaşılır bir şekilde sergilenebilmesi için Nei'nin tarafsız genetik mesafe katsayısı ve UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average) kümelendirme yöntemi kullanarak bir dendrogram oluşturulmuştur (Sneath ve Sokal, 1973). Bu dendrogramın oluşturulmasında MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 programından yararlanılmıştır (Tamura ve ark., 2013). polimorfik olarak saptanmış ve primerlere ait bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan 10 SSR primerine ait genetik parametreler

Table 1. Genetic parameters of 10 SSR primers used in the study

Primer	Ort. PIC	Min. PIC	Maks. PIC	NoA	NoA			Bant Aralığı	
					Priv.	Ort. AF	Min. AF		
OVK036	0.193	0.095	0.492	8	3	0.267	0.05	0.875	141-173
OVK094	0.194	0.095	0.487	8	2	0.128	0.05	0.421	234-257
OVK125	0.296	0.1	0.494	5	0	0.377	0.053	1	196-212
OVM033	0.241	0.095	0.5	7	2	0.207	0.05	0.722	306-324
OVK161	0.147	0.095	0.5	9	2	0.131	0.05	0.75	206-274
OVM125	0.293	0.095	0.5	4	0	0.345	0.05	0.8	167-181
OVK046	0.215	0.095	0.5	11	3	0.23	0.05	0.9	128-172
OVM061	0.208	0.095	0.494	7	1	0.297	0.05	0.947	151-179
OVK174	0.245	0.117	0.499	3	1	0.439	0.063	1	247-252
OVK101	0.154	0.095	0.488	6	2	0.113	0.05	0.632	360-388

(PIC=Polimorfik bilgi içeriği, Ort.= Ortalama, Min.=Minimum, Maks.=Maksimum, NoA=Gözlenen allel sayısı, NoA Priv.=Populasyona özgü allel sayısı, AF=Allel frekansı)

Bulgular

Çalışılan bütün populasyonları bir bütün olarak değerlendirdiğimizde 10 SSR primerinin tamamı Çalışılan O. viciifolia çeşit ve populasyonlarında kullanılan 10 SSR lokusu için toplam 68 allel tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan her bir lokusdaki allellerin, araştırılan tüm populasyonlara göre dağılımlarına bakıldığında bazı allellerin yalnızca bir populasyona özgü allel olduğu (private allel) gözlenmiştir. Populasyona özgü alleller (private allel) Özerbey çeşidinde 1 allel, Lütfübey çeşidinde 2 allel, Pleven populasyonunda 7 allel, Kırşehir-1 populasyonunda 2 allel ve Kırşehir-2 populasyonunda 4 allel olarak tespit edilmiştir. Analiz edilen bütün örnekler ele alındığında ortalama Shannon sabiti (I) 0.322 ± 0.014 olarak tespit edilmiştir. Shannon sabiti (I), 0.385 değeri ile en yüksek Pleven populasyonunda, 0.251 değeri ile en düşük Kırşehir-1 populasyonunda hesaplanmıştır. Nei (1987)'nin genetik çeşitlilik (h) ve tarafsız genetik çeşitlilik değeri (uh) her çeşit ve populasyon için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Nei (1987)'nin genetik çeşitlilik değeri (h) ortalama 0.210 ± 0.010 olarak hesaplanmış, en yüksek değer Pleven populasyonunda (0.252), en düşük değer ise Kırşehir-1 populasyonunda (0.161) gözlenmiştir. Nei (1987)'nin tarafsız genetik çeşitlilik değeri (uh) ortalama 0.222 ± 0.011 olarak hesaplanmış, en yüksek değer Pleven populasyonunda (0.269), en düşük değer ise Kırşehir-1 populasyonunda (0.170) belirlenmiştir (Çizelge 2). Çalışmada kullandığımız 10 SSR belirteci için ortalama polimorfik bilgi içeriği (PIC) değeri, populasyon bazında değerlendirdiğimizde, Özerbey çeşidinde 0.220, Lütfübey çeşidinde 0.202, Pleven populasyonunda 0.252, Kırşehir-1 populasyonunda 0.161 ve Kırşehir-2 populasyonunda ise 0.213 olarak hesaplanmıştır. Analiz edilen tüm örnekleri bir bütün olarak ele aldığımızda ortalama PIC değeri 0.210 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Korunga çeşit ve populasyonlarına ait genetik çeşitlilik parametreleri
Table 2. Genetic diversity parameters of sainfoin varieties and populations

Çeşit ve Populasyonlar	N	AS	Na	Ne	I	h	uh	PIC
Özerbey	19	46	1.338 (±0.114)	1.373 (±0.045)	0.332 (±0.034)	0.22 (±0.024)	0.232 (±0.025)	0.22
Lütfübey	18	44	1.294 (±0.117)	1.333 (±0.042)	0.311 (±0.032)	0.202 (±0.023)	0.214 (±0.024)	0.202
Pleven	16	55	1.603 (±0.096)	1.421 (±0.043)	0.385 (±0.030)	0.252 (±0.022)	0.269 (±0.023)	0.252
Kırşehir-1	20	39	1.147 (±0.121)	1.264 (±0.041)	0.251 (±0.032)	0.161 (±0.022)	0.17 (±0.023)	0.161
Kırşehir 2	18	49	1.441 (±0.110)	1.347 (±0.041)	0.329 (±0.031)	0.213 (±0.022)	0.225 (±0.023)	0.213
Ortalama	18.2 (±0.072)	46.6	1.365 (±0.050)	1.348 (±0.019)	0.322 (±0.014)	0.21 (±0.010)	0.222 (±0.011)	0.21

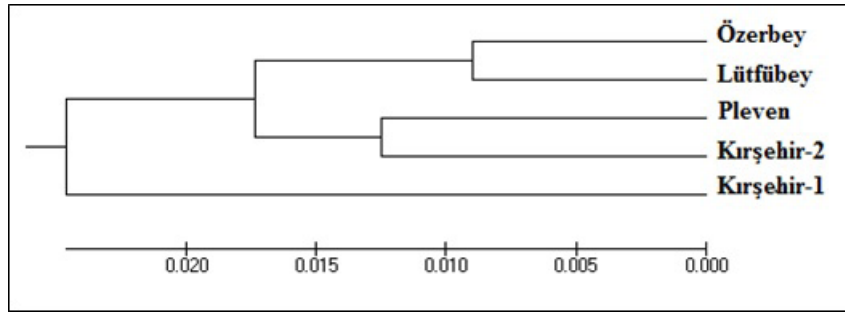
(N = örnek sayısı, AS = Toplam allel sayısı, Na = lokus başına düşen ortalama gözlenen allel sayısı, Ne = etkili allel sayısı, I = Shannon sabiti, h = Nei (1987)'nin genetik çeşitlilik değeri uh = Nei (1987)'nin tarafsız genetik çeşitlilik, PIC = Polimorfik bilgi içeriği, ± standart hata)

Basamaklı mutasyon modeline göre yapılan varyans analizi (AMOVA) sonuçlarına göre çalışılan beş korunga çeşit ve populasyonu arasındaki varyasyonun büyük oranda (%92) populasyonlar içerisinde olduğu, populasyonlar arası çeşitliliğin düşük olduğu (%8) gözlenmiştir (FST=0.076). Elde edilen sonuç korunga populasyonları içerisinde geniş bir genetik çeşitliliğin olduğunu göstermektedir. Nei'nin tarafsız genetik benzerlik ve genetik farklılık katsayısı kullanılarak populasyonlar arası genetik farklılaşmanın düzeyi belirlenmiştir (Nei 1987). Çalışma kapsamında kullanılan 10 SSR lokusuna ait bilgilere dayanarak elde edilen genetik benzerlik ve genetik mesafe değerleri Çizelge 3'de gösterilmiştir. Genetik benzerlik değerleri 0.943 ile 0.982 arasında değişim göstermektedir. En yüksek genetik benzerlik değeri Özerbey ve Lütfübey çeşitleri arasında, en düşük genetik benzerlik değeri ise Pleven ve Kırşehir-1 populasyonları arasında hesaplanmıştır. Tüm populasyon çiftleri göz önüne alındığında ortalama genetik mesafe değeri 0.038 ve ortalama genetik benzerlik değeri 0.963 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan korunga çeşit ve populasyonlarındaki genetik farklılaşmanın görsel bir grafik üzerinde görülmesi için Nei (1987)'nin genetik mesafe değerleri UPGMA kümelendirme yöntemi ile sınıflandırılmış ve dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 1).

Çizelge 3. O. viciifolia çeşit ve populasyonları arasında Nei (1987)'ye göre hesaplanan genetik benzerlik ve genetik mesafe değerleri
(sol alt diyagonal: genetik benzerlik, sağ üst diyagonal: genetik mesafe değerleri)

Table 3. Genetic similarity and genetic distance values calculated according to Nei (1987) between species and populations of O. viciifolia (left lower diagonal: genetic similarity values, right upper diagonal: genetic distance values)

Çeşit ve Populasyonlar	Özerbey	Lütfübey	Pleven	Kırşehir-1	Kırşehir-2
Özerbey	***	0.018	0.039	0.055	0.032
Lütfübey	0.982	***	0.031	0.047	0.037
Pleven	0.961	0.969	***	0.058	0.025
Kırşehir-1	0.947	0.954	0.943	***	0.037
Kırşehir-2	0.968	0.964	0.976	0.964	***



Şekil 1. *O. viciifolia* çeşit ve populasyonlarının Nei'nin (1987) genetik mesafe değerlerine göre oluşturdukları dendrogram

Figure 1. Dendrogram constructed using Nei's (1987) genetic distance values for *O. viciifolia* varieties and populations

Tartışma ve Sonuç

Korunga ile ilgili daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında; türün agronomik, fizyolojik ve morfolojisi üzere birçok araştırma literatürde mevcuttur. Ancak türün moleküler genetiği ile ilgili çalışmalar nadirdir. Fakat gelişen teknoloji ve bilimdeki yeniliklerle birlikte 2000'li yıllardan sonra moleküler çalışmaların ivme kazandığı lakin yine de sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmüştür. Yapmış olduğumuz çalışmada kullanılan 10 SSR lokusu, çalışılan beş korunga populasyonu bir bütün olarak ele alındığında hepsi polimorfik olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda 10 SSR lokusundan toplam 68 allel belirlenmiş, primer başına ortalama allel sayısı 6.8 olarak hesaplanmıştır. Benzer genetik çalışmalarla karşılaştırıldığında; Kempf ve ark. (2016)'nın 29 farklı aksesyondan 32 farklı bireyde 400 primer ile yaptıkları çalışmada, polimorfik 101 primer belirlenmiş, 1159 allel tespit edilmiş, 1154'ü polimorfizm göstermiştir. Kempf ve ark. (2016)'nın çalışmasında primer başına ortalama allel sayısı 11.4 olarak ve lokus başına düşen allel sayısı 2 ile 21 arasında bildirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan SSR primerleri Kempf ve ark. (2016)'nın çalışmasından seçilmiş ve elde edilen sonuçların birbiri ile uyumlu olduğu görülmüştür. Avcı ve ark. (2014)'nin 58 *Onobrychis* taksonundan örneklenen bireylerde yapılan çalışmada bezelye ve yoncadan geliştirilen belirteçler kullanılarak analizler yapılmış ve 18 SSR belirteci için 79 lokus ve 725 allel bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada lokus başına düşen allel sayısı 9.18 olarak belirtilmiştir. Demdoun ve ark. (2012)'nin yaptıkları çalışmada genetik karşılaştırma, *M. truncatula* ve *G. max* türlerine ait 27 EST-SSR primeri kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada kullanılan 27 EST-SSR primerinin 22 tanesinin (%81) korungada PCR çoğaltımının yapılabildiği ve 14 tanesinin polimorfik olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada genetik yapının belirlenmesi için seçilen 6 SSR belirtecinde toplam 35 allel, lokus başına düşen allel sayısı 5.83 olarak tespit edilmiştir.

Tetraploid türlerde SSR allellerinin hangi oranlarda bulunduğu (dozaj) belirlenmesi zordur. Kapiller elektroforez kullanılarak elde edilen SSR allellerinin dozajlarını belirlemek eğer birey belirli bir SSR lokusunda 4 farklı allelden daha az allel taşıyorsa genellikle imkânsızdır. Geleneksel olarak hesaplanan PIC değeri formülü (Botstein ve ark., 1980) diploid türler için geliştirilmiştir. Tetraploid türler için farklı allel (1-4 allel) dozlarından dolayı allellerin varlığından veya yokluğundan yola çıkarak allel frekansı hesaplanması güçtür. Bu nedenle diploid türler için geliştirilen formüller korunga gibi tetraploid türlerde kullanılamamaktadır. Bu nedenle, tetraploid türler için PIC değeri, her bir allelin var/yok sayısını göz önüne alınarak oluşturulmuş Roldan-Ruiz ve ark. (2000)'in geliştirdiği formül ile hesaplanmaktadır. Bu formüle göre ulaşılan maksimum PIC değeri 0.5'dir, bu da populasyonun %50'sinde bulunan allellere karşılık gelir. Küçük PIC değeri, ya bol bulunan allel ya da nadir allellere karşılık gelir (Kempf ve ark. 2016). Kempf ve ark. (2016) 101 SSR lokusunda ortalama PIC değerini 0.14 (OVK141) ile 0.36 (OVK101) arasında saptamıştır. Çalışmada en düşük PIC değerinin 0 (OVK042, OVK172, OVM031, OVM072 ve OVM100) ile 0.17 (OVK131) arasında, en yüksek PIC değerinin ise 0.3 (OVK172) ile 0.5 (16 farklı lokus) arasında olduğu hesaplanmıştır. Bu çalışma da elde edilen sonuçlar ile Kempf ve ark. (2016)'nın çalışmasındaki PIC değerleri birbiri ile uyumludur (Çizelge 1). Demdoun ve ark. (2012)'nin yaptıkları çalışmada *Medicago truncatula* ve *Glycine max*'dan geliştirilen 6 primere ait PIC değerleri 0.45 ile 0.85 (ortalama 0.72) arasında bulunmuştur. Zarrabian ve Majidi (2015) tarafından 33 *Onobrychis* türüne ait 102 akseson üzerinde yapılan çalışmada 22 ISSR primerine ait PIC değerleri 0.34 ile 0.47 arasında hesaplanmıştır. Bhattarai (2017) yaptığı tez çalışmada farklı ülkelerden 38 korunga aksesyonda 5 AFLP primeriyle yaptığı çalışmada PIC değerini 0.126 ile 0.196 arasında hesaplamıştır. Çalışmada AFLP belirteçlerinin dominant bir belirteç olması ve bu nedenle homozigot ve heterozigot alelleri ayırt edememesine rağmen, genetik çeşitlilik ve genotipler arasındaki ilişkileri bilinen türlerde yeterli genomik bilgi yokluğunda kullanılabilirliği bildirilmiştir.

Çalışılan lokuslardaki genetik çeşitliliğin en temel ölçülerinden biri allellik zenginliğin ve populasyona özgü allellerin belirlenmesidir. Populasyonlarda belirlenen çok sayıda populasyona özgü allel, bireylerin genetik farklılığının açıkça bir ifadesi olarak kabul görebilir. Çalışmamızda tüm primerlerde populasyonlara özgü

(private) allel tespit edilmiştir. Kempf ve ark. (2016)'nın çalışmasında 101 SSR primerine ait 250 adet bireye özgü (private) allel tespit edilmiştir. Kempf ve ark. (2016)'nın çalışmasında (bu çalışmada ortak olarak kullanılan) 10 SSR primeri için toplam 18 bireye özgü allel belirlenmiştir. Kempf ve ark. (2016)'nın çalışmasında OVK036 primerinde popülasyona özgü allel gözlenmezken, bizim çalışmamızda toplam 3 adet popülasyona özgü (private) allel tespit edilmiştir.

Çalışılan çeşit ve popülasyonlar için genetik çeşitlilik parametrelerinden bir tanesi olan Shannon sabiti (I) en yüksek Pleven popülasyonunda (0.385 ± 0.030), en düşük ise Kırşehir-1 (0.251 ± 0.032) popülasyonunda hesaplanmıştır. Nosrati ve ark. (2012)'nin farklı bölgelerden topladıkları 5 yabani korunga popülasyonunda 5 RAPD primerleriyle yaptığı çalışmada, I değeri 0.364 ile 0.461 arasında hesaplanmıştır. Nosrati ve ark. (2016)'nin ISSR primerleri ile yaptıkları çalışmada, I değeri 0.181 ile 0.277 arasında hesaplanmıştır. Zarrabian ve ark. (2013)'nin 46 İran ve 34 egzotik olmak üzere toplam 80 korunga aksesyonda yaptığı çalışmada I değeri 0.33 ile 0.57 arasında hesaplanmış, en fazla çeşitliliğin İran grubu Zagros Dağlarında (0.44), egzotik bölge aksesyondan Asya ve Doğu Avrupa aksesyondan (0.45) olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına bakıldığında Avrupa'daki korunga aksesyondan Asya ve Doğu Avrupa arasındaki bir bölgeden geldiği hipotezinin desteklendiği görülmüştür.

Bu çalışma kapsamında hesaplanan Nei'nin genetik çeşitlilik değeri (h) 0.161 (Kırşehir-1) ile 0.252 (Pleven) arasında hesaplanmıştır. Hejrankesh ve ark. (2014)'nin 10 İran yerel korunga çeşitlerinde 90 RAPD belirteci ile yaptıkları çalışmada, h değeri 0.300 ile 0.343 arasında bildirilmiştir. Nosrati ve ark. (2016)'nin ISSR belirteçleriyle 5 İran popülasyonunda yaptıkları çalışmada, h değerinin 0.118 ile 0.179 arasında olduğu bildirilmiştir. Nosrati ve ark. (2012)'nin RAPD primerleriyle 5 korunga popülasyonunda yaptıkları çalışmada h değeri 0.246 ile 0.318 arasında bulunmuştur. Avcı ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada Nei'nin genetik çeşitlilik değeri 0.140 ile 0.307 arasında hesaplanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçları benzer çalışmalarla mukayese ettiğimizde çalışılan popülasyon sayılarının ve belirteç tipinin farklı olması h değerinin bazı çalışmalardan yüksek/düşük veya yakın olarak hesaplanmasını sağlamıştır.

Basamaklı mutasyon modeline göre elde edilen verilerin incelenmesiyle yapmış olduğumuz moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçlarına göre, çalışılan beş korunga çeşit ve popülasyonları arasındaki genetik çeşitlilik %92 oranında popülasyonlar içerisinde. Hejrankesh ve ark. (2014)'nin İran yerel çeşitlerinde yaptıkları çalışmada moleküler varyans analizi sonuçlarına göre genetik çeşitliliğin büyük oranda popülasyon içinde olduğu (%83.87), popülasyonlar arası çeşitliliğin az olduğu görülmüştür (%16.13). Hejrankesh ve ark. (2014)'nin çalışmasında yerel çeşitlere ait popülasyonlar içi çeşitliliğin yüksek olması korunganın yabancı döllemesi ve tozlayıcı böceklerin korungaları tozlamasıyla meydana geldiği bildirilmiştir. Zarrabian ve ark. (2013)'nin Dünya koleksiyonlarında ISSR belirteçleri kullanarak yaptıkları çalışmadan elde edilen AMOVA sonuçlarına göre, 2 gruba ayrılan aksesyondan bakıldığında, İran gruplarında ve egzotik gruplarda çeşitliliğin büyük oranda aksesyondan içinde (sırasıyla %80.21 ve %80.42) olduğu bildirilmiştir. Rasouli ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada popülasyonlar arası çeşitliliğin düşük (%22) ve popülasyonlar içi çeşitliliğin yüksek (%78) olduğu bildirilmiş ve popülasyon içi varyasyonun yüksek olmasının yüksek gen akışı ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda popülasyonlar arası genetik farklılaşma düzeyi, Nei'nin tarafsız genetik benzerlik ve farklılık katsayıları kullanılarak hesaplanmıştır (Nei, 1987). Genetik farklılık değerlerine baktığımızda Özerbey ve Lütfübey popülasyonları arasında en düşük (0.018), Pleven ve Kırşehir-1 popülasyonları arasında da en yüksek (0.058) bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, Pleven ve Kırşehir-1 popülasyonları genetik yapılarına göre birbirine en uzak popülasyonlardır. Ülkemizde tescilli ilk iki çeşidi olan Özerbey ve Lütfübey birbirlerine en yakın çeşitler olarak belirlenmiştir. Burada aynı bölgeden olan Kırşehir-1 ve Kırşehir-2 popülasyonlarının birbirinden uzak olmaları, Kırşehir ilinin farklı bölgelerinden toplanan popülasyonlar olduğunu düşündürmektedir. Avcı ve ark. (2014)'nin 58 korunga taksonunda yaptıkları çalışmada, Nei'nin genetik benzerlik değeri 0.013 ile 0.399 arasında hesaplanmıştır. Onobrychis genomlarına benzerlik gösteren *P. vulgaris* ve *M. truncatula* genomları arasındaki %10'luk farkın korunga çalışmalarında yakın akrabalarından kullanılacak primerlerin sınırlı olduğunu göstermiştir. Nosrati ve ark. (2012) farklı bölgelerden 5 yabani korunga popülasyonunda genetik mesafe değerini 0.635 ile 0.165 arasında bildirmiştir. Burada coğrafi mesafelerden çok ekolojik etkinin genetik varyasyona etki ettiği ve genetik varyasyonun çevresel koşullarla ilişkisinin ya doğal seleksiyon yada lokal gen ayrımı nedeniyle olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda kullandığımız SSR primerleri Kempf ve ark. (2016) tarafından korungaya spesifik geliştirilen ilk primerlerdir. Korungaya özgü geliştirilen primerleri kullanarak yaptığımız bu çalışma türün genetik çeşitliliği, popülasyon arası ve popülasyonlar içi varyasyonu belirleyerek bundan sonra yapılacak olan çalışmalara kaynak sağlayacaktır. Ayrıca türün genetik yapısını ortaya çıkararak sahip olduğumuz biyoçeşitlilikten faydalanmada yol gösterecektir. Korunga gibi üzerinde çalışılması gereken yem bitkilerinin özellikle marjinal alanlarda yetişebilen bu tür bitkilerin genomlarında gizli kalmış bilgiler açığa çıkartılarak, ıslah çalışmalarıyla yeni

çeşitler geliştirilecek ve tarıma kazandırılacaktır.

Teşekkür

Korunga popülasyonlarına ait tohumların temini ve çalışmaya olan katkılarından dolayı Prof. Dr. Metin TUNA'ya (Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Çayır Mera Yem Bitkileri Anabilim Dalı) teşekkür ederiz. Bu çalışma TÜBİTAK (Proje No: 215O5261) tarafından kısmi olarak desteklenmiştir.

Kaynakça/References

- Açıkgöz, E. (2001). Yem Bitkileri. Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 83-94 s., Bursa.
- Aktoklu, M. (1995). Türkiye’de yetişen *Onobrychis* Miller (Fabaceae) türlerinin revizyonu. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Ens., Biyoloji Anabilim Dalı, 134 s.
- Avcı, S., İlhan, E., Erayman, M., Sancak, C. (2014). Analysis of *Onobrychis* genetic diversity using SSR markers from related legume species. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 24(2): 556-566.
- Bhattarai, S. (2017). *Characterization of diverse germplasm of sainfoin (Onobrychis viciifolia Scop.) using agro-morphological traits and aflp molecular markers*. (Thesis Degree of Master of Science). Department of Plant Science, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, K., Davis, R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*. 32: 314-331.
- Carbonero, C.H. (2011). *Sainfoin (Onobrychis viciifolia), a forage legume with great potential for sustainable agriculture, an insight on its morphological, agronomical, cytological and genetic characterisation*. (Doctor of Philosophy Thesis). Faculty of Life Sciences, Manchester, United Kingdom.
- Demdoum, S., Munoz, F., Delgado, I., Valderrabano, J., Wunsch, A. (2012). EST-SSR cross amplification and genetic similarity in *Onobrychis* genus. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 59: 253-260.
- Doyle, J.J., Doyle, J.I. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12: 13-15.
- Elçi, Ş. (2005). *Baklagil ve buğdaygil yem bitkileri*, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, s. 223-257, Ankara.
- Healey, A., Furtado, A., Cooper, T., Henry, R.J. (2014). Protocol: a simple method for extracting next-generation sequencing quality genomic DNA from recalcitrant plant species. *Plant Methods*. 10: 21.
- Hejrankeş, N., Haghghi, A.R., Mousavizadeh, S.A., Rashidi, V. (2014). Evaluation of genetic diversity of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) landraces using RAPD markers. *Journal of Current Research in Science*. 2: 739-748.
- Kempf, K., Mora-Ortiz, M., Smith, M.J., Kölliker, R., Skot, L. (2016). Characterization of novel SSR markers in diverse sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) germplasm. *BMC Genetics*. 17: 124.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York. 512 p.
- Nosrati, H., Feizi, M.A.H., Tarrach, S.S., Haghghi, A.R. (2012). Population genetic variation in sainfoin (Fabaceae) revealed by RAPD markers. *Analele Universităţii din Oradea - Fascicula Biologie*. 1: 11-16.
- Nosrati, H., Feizi, M.A.H., Latifian, F., Haghghi, A.R. (2016). Eco-Geographical variations of ISSRs among populations of *Onobrychis viciifolia* (Sainfoin, Fabaceae). *Analele Universităţii din Oradea, Fascicula Biologie*. 2: 62-66.
- Özalp, T., Temel, O. (2016). Artvin’in Şavşat ilçesinde yetiştirilen korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.) yem bitkisinin kalitesi ve verimi üzerine yükseltimin ve bazı toprak özelliklerinin etkisi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*. 31: 106-116.
- Özbek, H. (2011). Korunga (*Onobrychis viciifolia* SCOP): Önemli bir arı bitkisi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 11(2): 51-62.
- Özkan, U., Demirbağ, S. (2016). Türkiye’de kaliteli kaba yem kaynaklarını mevcut durumu. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*. 9(1): 23-27.
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2006). GENALEX 6: Genetic analysis in excel. population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6: 288-295.
- Rasouli, M., Jaferi, A.A., Tabaei-Aghdaei, S.R., Shanjani, P.S., Darvish, F. (2013). Assesment of genetic variability of 36 populations of sainfoin (*Onobrychis sativa*) based on RAPD markers. *International Journal of Biosciences*. 3(10): 15-26.
- Roldan-Ruiz, I., Dendauw, J., Van Bockstaele, E., Depicker, A., De Loose, M. (2000). AFLP markers reveal high polymorphic rates in rygrasses (*Lolium* spp.). *Molecular Breeding*. 6: 125-134.
- Schuelke, M. (2000). An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology*. 18: 233-234.
- Sneath, P.H.A., Sokal, R.R. (1973). *Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification*. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 573 pp.
- Souza, H.A.V., Muller, L.A.C., Brandao, R.L., Lovato, M.B. (2012). Isolation of high quality and polysaccharide-free DNA from leaves of *Dimorphandra mollis* (leguminosae), A Tree From The Brazilian Cerrado. *Genetics and Molecular Research*. 11(1): 756-764.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30(12): 2725-2729.
- Tosun, F. (1992). Bitki Yetiştiriciliğinin Fizyolojik Esasları. OMÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Ders Notları No:5, 244 s, Samsun.
- Zarrabian, M., Majidi, M.M. (2015). Genetic diversity and relationships within and among *Onobrychis* species using molecular markers. *Turkish Journal of Botany*. 39: 681-692.
- Zarrabian, M., Majidi, M.M., Ehtemam, M.H. (2013). Genetic diversity in a worldwide collection of sainfoin using morphological, anatomical, and molecular markers. *Crop Science*. 53: 2483-2496.

Effect of Drought Stress and Seed Pretreatment with CCC on Yield and Yield Components of Maize Varieties

Mısır Varyetelerinde Kuraklık Stresi ve Tohumlarına Cycocel Uygulamasının Verim ve Verim Componentleri Üzerine Etkisi

Amir SOLTANBEİGİ¹

Abstract


In order to study the effects of drought stress and seed pretreatment of two maize varieties with Cycocel an experiment was carried out with the aim to reduce the stress on the yield of this crop during their critical growth stages. Field trials were arranged in split-split plot design and randomized complete block design with three replications. For statistical evaluation, irrigation as the main factor at four levels (complete irrigation as the control and eliminating one stage of irrigation at the beginning of stalking, tasseling and dough stages), maize var. KSC704 and KSC666 as the sub factor at two levels and application of Cycocel as the sub-sub factor at three levels (0, 0.4, and 0.8 g L⁻¹ concentration) were created. Eliminating one stage of irrigation in stalking and tasseling stages affected the ear length, ear diameter, grain number per ear, grain number per row and ultimately the grain yield, while the drought stress at dough stage had no significant difference in the results of the experiment compared to the control group. Apart from enhancing 1000-grain weight, the use of Cycocel pretreatment affected the test results slightly and comparison of these findings with similar studies, which applied Cycocel as foliar, indicates the higher ability of foliar than the pretreatment.

Keywords: Chlormequat Chloride, Drought, Irrigation, Maize, PGRs

Öz

Bu deneme iki farklı mısır varyetesinde, bitkinin en hassas büyüme ve gelişme dönemlerinde kuraklık stresi ve tohumlara bitki büyüme düzenleyici olarak Cycocel muamelesinin verim üzerine etkilerinin en aza indirmek amacıyla kurulmuştur. Deneme Split-split Plot Deneme Desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. İstatistiksel değerlendirmede, sulama ana parselleri dört düzeyde (düzenli sulama kontrol ve sapa kalkma dönemi, çiçeklenme dönemi ve danelerin hamurlaşma döneminin başında bir nöbet sulama kesintisi), mısır varyetesi alt parselleri iki düzeyde (KSC704 ve KSC666) ve Cycocel uygulaması alt-alt parsellerini üç düzeyde (0, 0.4, and 0.8 g L⁻¹ concentration) oluşturmuştur. Kontrol bitkilerle karşılaştırıldığında sapa kalkma ve çiçeklenme dönemlerinin başında bir nöbet su kesimi koçan uzunluğu, koçan çapı, koçanda dane sayısı, her sırada dane sayısı ve dane verimini olumsuz etkileyerek, dane hamurlaşma dönemi kuraklık stresinden etkilenmemiştir. Mısır tohumlarında Cycocel uygulaması 1000 dane ağırlığı yükselişi hariç, deneme sonuçlarını çok az etkilemiştir. Bu bulgular diğer benzeri araştırma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında yaprakтан uygulama Cycocel yöntemi, tohum uygulamasından daha etkilidir.

Anahtar Kelimeler: Chlormequat Chloride, Kuraklık, Mısır, PGRs, Sulama

¹**Corresponding Author:** Amir Soltanbeigi, Food Control Research and Application Center, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey. E-mail: soltanbeigi@aku.edu.tr  ORCID: 0000-0002-8791-0482

Citation: Soltanbeigi, A. Effect of drought stress and seed pretreatment with CCC on yield and yield components of maize varieties. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 61-70.

Drought is one of major abiotic stresses which cause heavy crop production losses around the world. Furthermore, the climatic-change models predict that crop losses due to increased aridity in most regions of the world will be enhanced more in future (Athar and Ashraf, 2005). Drought is a permanent constraint on agricultural production in most of developing countries and an occasional cause of agricultural production losses in developed ones (Ceccarelli and Grando, 1996). Essentially, moisture stress plays significant role on numerous plant processes such as photosynthesis, cell development, and division and accumulation of nutrients' transfer (Boyer and McPherson, 1998). Iran, with an annual rainfall equal to 240 mm, is classified as a dry region of the world and drought is one of the most devastating environmental stresses which has affected Iran (Jajarmi, 2009).

Maize (*Zea mays* L.) is one of the most developing dynamic cereal crops around the world. Maize production has been increased approximately 70% around the world in the last fifteen years (Sandor, 2010). Soil drought stress, especially along with too high temperatures is the most common constraint on yield throughout the world (Beck et al., 1996). Maize is sensitive to drought stress in some stages of growth and the yield of this plant has a potential close relationship with access to water (Koliaei et al., 2011). Drought stress has a particular effect on the ability of maize plant to produce seed at three critical stages of plant growth: at the beginning of growing season (when plant has sufficient growth), at flowering stage, and during the middle to the end of grain filling (Guelloubi et al., 2005).

Adverse effects of water stress on maize growth and yield depend on the time of stress, growth stage, plant genotypes, varieties, cultivation methods, soil quality, deficiency level and environmental conditions during the drought period (Allen and Musick, 1993). Maize grain yield reduction, caused by drought, ranges from 10 to 76% depending on the severity and stage of occurrence (Bolaoos et al., 1993). Drought stress reduces the yield and some of its components (Ilkai et al., 2010; Golbashy et al., 2010; Shiri et al., 2010; Khodarahmpour and Hamidi, 2012). Hashemzadeh (2009), indicated the significant effects of different irrigation treatments at different growth stages of maize on some traits such as ear length, ear diameter, 1000-grain weight, and grain yield. Irrigation after 70 mm evaporation was associated with improved grain yield properties.

Nowadays, different methods have been considered to get over the effects of drought stress (Royo et al., 2004). One of these methods is to apply the chemical plant growth regulators such as Cycocel (Gallagher and Biscoe, 1978). Plant growth regulators (PGRs) consist of a large group of endogenous and exogenous chemical compounds which can regulate the plant growth in numerous ways (Rajala, 2003). There are some further evidence under which the applied PGRs as a seed treatment at early growth stages may improve the tolerance of cereals to abiotic stresses. Seed treatment along with PGRs improves the drought, heat and waterlogging tolerance (Webb and Fletcher, 1996; Gilley and Fletcher, 1997). Foliar and soil application of PGRs have significant disadvantages such as waste and accumulation of these chemicals (Barrett and Nell, 1992) while seed priming with PGRs solutions is an alternative method to control plant growth that has more benefits such as cost reduction, accumulation of active substances reduction and also is ease of use (Pasian and Bennett, 2001).

Chlormequat chloride or Cycocel is a plant growth regulator (PGR) which belongs to the quaternary ammonium class of chemicals. Cycocel inhibits the plant hormone biosynthesis, which is useful in regulating the growth properties in most of the plants (US Environmental Protection Agency, 2007). It can make the plant shorter but stronger (Shekoofa and Emam, 2008), make the leaves darker and thicker and increase the ability to resist the collapse, drought and cold stresses (Emam and Moaied, 2000). Cycocel plays the role in thickening the stems and this enhances the plant stability in water stress tolerance (Farooq and Bano, 2006). Applying different concentration of Cycocel in different periods of plant growth has a significant effect on growth and yield of plant components and it enhances the plant yield through increasing the number of florets (Moniruzzaman, 2000). Cycocel application, which depends on the concentration and climatic conditions, increased the cereal products from 0-13 percent. Seed treatment with Cycocel increased the number of maize in spatial unit and consequently increased the rate of ultimate yield (Peltonen-Sainio and Rajala, 2001). Cycocel treatment caused a significant increase in maize grain yield (Ilkai et al., 2010). Furthermore, application of Cycocel in maize increased the stem diameter, ear length, ear diameter, cob weight, 1000-grain weight, biological yield, grain yield and harvest index (Hashemzadeh, 2009).

Material and Methods

This study was conducted at the field of Agriculture Research Station and Natural Resources in Khoy city in 2009. This area is located at latitude 38°35' North and longitude 44° 57' East at an altitude of 1103 meters. According to Köppen climate classification, this area has semi-arid climate with dry summers (FAO, 2014). Some meteorological data of experiment region during crop growth is shown in Table 1. Results of soil analysis at the depth of 30 and 60 cm indicate that the soil of farm was loamy-clay with pH equal to 7.4 with electrical conductivity equal to 0.64 dsm⁻¹ (Table 2). N, P and Zn fertilizers were applied according to recommendations of soil testing in form urea, triple superphosphate and zinc sulphate, respectively. Considering the results of soil analysis, 310 kg ha⁻¹

of pure urea (1/3 during planting, 1/3 in staking stage and 1/3 in flowering stage), 180 kg ha⁻¹ phosphorus (during planting) and 25 kg ha⁻¹ of zinc (during planting) were applied.

Table 1: Some meteorological data of experiment region during crop growth (2009)

Month	Temperature (°C)			Rain (mm)	Relative humidity (%)
	Minimum	Maximum	Mean		
June	14.3	28.6	21.4	65.1	52
July	17.7	32.6	25.1	8.8	50
August	15.8	30.7	23.2	2.9	51
September	12.3	25.4	18.8	69.1	61

Khoy city meteorological service

This experiment was done as split-split plots in randomized complete block design with three replications. In this test, irrigation was chosen as the main factor at four levels, maize varieties as the sub factors at two levels, and different concentration of Cycocel as sub-sub factor at three levels. Choosing the stages of eliminating an irrigation step was done based on the critical stages of maize growth and there regular irrigation continued after stress. The first level (I₀) was considered as the stage without eliminating the irrigation until the end of plant growth stage after each 70±5 evaporation determined using daily evaporation rate of class A evaporation pan (121 cm diameter and 25.4 depth with an anemometer) as the control. The other levels (I₂, I₃ & I₄) were considered as the stage for eliminating one step of irrigation at the beginning of staking, tasseling and dough stages, respectively, and regular irrigation continued after 140±5 mm evaporation from class A evaporation pan. All calculations of evaporation were performed by climatology experts from Khoy weather station. Also, from planting to staking stage and first moisture stress (I₂), sprinkler irrigation method was used and after that continued surface irrigation through the furrows. Seeds, applied in experiment were the var. KSC704 and KSC666. For Cycocel treatment, the seeds were put in distilled water (control) and prepared solutions from 0.4 and 0.8 g L⁻¹ growth regulator obtained from Cycocel crystal soluble in distilled water and ethanol as second and third levels, respectively, based on the type of treatment for 4 hours. After drying, the seeds were planted into the holes on ridges as stack or two or three seeds in each hole on June 7th. Plots had 5×2 dimensions with cultivating lines spacing equal to 60 cm and plants spacing on cultivating strip equal to 20 cm. Farm fertilizer was prepared according to the results of soil analysis (Table 2) and it was applied on the strip and 5 cm lower than these seeds planted at recommended stages. When the whole farm became green and reached 4-6 leaf stage, the extra bushes were thinned and after a while the weeds were pulled with hand method of weeding and later the soil was added to the plant's foot. Traits were measured after removing the margins through randomized selection of eight plants from each plot and then obtained data was statistically analyzed by MSTAT-C software.

Table 2: Physical and chemical properties of soil

Fe	Ma	Zn	Cu	K (p.p.m)	P (p.p.m)	O. C (%)	T.N.V (%)	pH	EC (ds m ⁻¹)	S. P.	Depth (cm)
5.40	6.30	1.04	2.60	217	5.13	0.76	13.0	7.4	0.64	45	30
8.66	7.48	1.12	3.02	107	1.55	0.67	12.0	6.54	0.52	50	60

Results and Discussion

Ear length

According to analysis of variance, the effect of different levels of irrigation on ear length was statistically significant at the 1% level (Table 3). Mean comparison indicated that the shortest ear length was related to the moisture stress treatment at staking stage and also moisture stress treatment at tasseling stage (Table 4). It seems that the longer intervals between irrigations will lead to the reduced ear length. Sadeghi et al. (2007), Hashemzadeh (2009) and Khodarahmpour and Hamidi (2012), also support the idea of different irrigation types on the ear length. Effect of variety on the ear length was statistically significant at 1% level (Table 3). Given the mean comparison, it was identified that the variety 666 produced long ear compared to the variety 704 (Table 4). Interaction of irrigation and variety on ear length was also significant at 5% level (Table 3). Thus, the maximum length of ear was consequence of interaction between the control treatment and moisture stress at dough stage and variety 666 (Figure 1). This can be justified as the variety 666 has higher ear length and also because the plant vegetative growth is not affected by the drought stress in treatments of control irrigation and moisture stress at dough stage.

Table 3: Analysis of variance on some traits associated with yield and its components

Source of variance	D.F.	M. S.			
		Ear length	Ear diameter	Row number per ear	Grain number per row
Replication	2	7.819	11.885	0.097	30.597
Irrigation	3	23.328**	12.958*	1.532	307.458**
Error 1	6	2.310	1.478	0.606	14.208
Variety	1	47.450**	17.781**	2.347*	165.014**
Irrigation×Variety	3	2.622*	3.106*	0.236	30.755
Error 2	8	0.628	0.580	0.264	9.611
CCC	2	1.502	5.354	1.097	13.181
Irrigation×CCC	6	2.068	2.294	1.671	12.514
Variety×CCC	2	5.590	1.890	0.181	11.931
Irrigation×Variety×CCC	6	1.128	0.911	0.347	8.782
Error 3	32	2.127	2.407	0.563	14.792
CV		7.23	3.44	4.89	8.67

** and *, Significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

Table 4: Mean comparison on some traits associated with yield and its components

Treatment	Ear length (cm)	Ear diameter (cm)	Row number per ear	Grain number per row
<i>Irrigation</i>				
I ₁	20.92a	45.49a	15.50	46.94a
I ₂	19.14b	45.21a	15.33	42.78b
I ₃	19.27b	43.92b	14.94	39.28c
I ₄	21.38a	45.87a	15.61	48.39a
<i>Variety</i>				
704	19.37b	45.62a	15.53a	45.86a
666	20.99a	44.63b	15.17b	42.83b
<i>CCC</i>				
control	19.89	44.62	15.17	43.50
0.4 (g L ⁻¹)	20.32	45.55	15.58	44.67
0.8 (g L ⁻¹)	20.32	45.20	15.29	44.87

The means which have no letters are statistically non-significant at 5% probability level

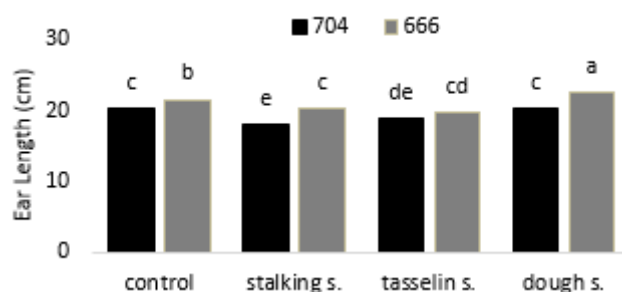


Figure 1: Mean comparison interaction of the irrigation and variety on ear length

Eardiameter

Effect of different irrigation treatments on the ear diameter was significant at 5% level (Table 3). Accordingly, the results of mean comparison indicate that the moisture stress treatment at tasseling stage had lower ear diameter

compared to other treatments (Table 4) and other treatments were classified in a statistical group. Results of this study on the effect of drought stress on ear diameter were consistent with the results of test by Hashemzadeh (2006) and Dağdelen et al. (2008), who studied the effect of different irrigation types on ear. Investigating the results of analysis of variance table indicates that the effect of variety on ear diameter is significant at 1% level (Table 3). The results of mean comparison suggest that the maize variety 704 had higher diameter than the variety 666. Since the variety 704 is a serotinous variety compared to 666, it seems that it has long period of growth and this enhances the cell division and dimensions of this variety and finally the ear diameter through continuing process of photosynthesis. Moisture stress at tasseling stage led to the disruption in the growth and ultimate development of tasseling, thus the plant became incapable to produce perfect pollen during pollination, so tasseling is among the most critical steps in supply of water for plants, and the lack of plant's access to water during the above-mentioned period will lead to the irreparable damages at maize plant. Interaction of irrigation and variety became significant at 5% level (Table 3). Thus Variety of 704 in all irrigation treatments except eliminating irrigation at tasseling stage produced high Ear diameter and were put in the same statistical group (Figure 2).

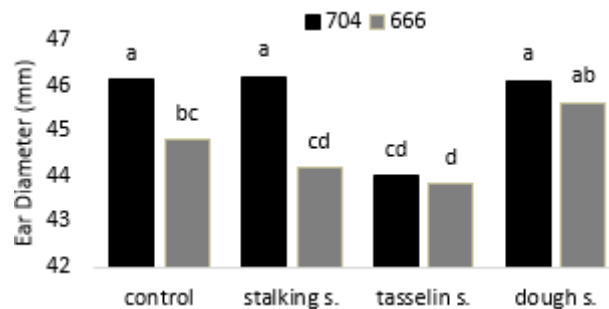


Figure 2: Mean comparison interaction of the irrigation and variety on ear diameter

Row number per ear

Impact of variety on the number of rows in ear was statistically significant at 5% level (Table 3). Corresponding mean comparison indicated that the variety 704 had a larger number of rows than variety 666 (Table 4). This is due to the genetic characteristics of plant and is less affected by the environmental factors (Wu et al., 2003). Other treatments showed no significant effect (Table 3).

Grain number per row

Impact of different irrigation types on the grain number per row was statistically significant at 1% level (Table 3). Mean comparison in Table 4 showed the lowest grain number in moisture stress treatment at tasseling stage and stalking stage, respectively. Occurrence of stress at the early vegetative stages and before differentiation of male reproductive organ is less effective than any stresses in the ear differentiation and growth as well as pollination. This was clearly observed in moisture stress treatments at tasseling stage, so that most of produced ears in this treatment had heterogeneous appearance and irregular rows. Results of this test are consistent with the results by Karimian et al. (2005) and Khodarahmpouret al. (2012). According to the analysis of variance in Table 3, the effect of variety on the number of grains per row was significant at 1% level. Conducted mean comparison in Table 4 indicates that the variety 704 has more grains per row compared to variety 666 and this is probably due to the genetic characteristics of plant.

Grain number per ear

Impact of different irrigation types on the number of grain per row was statistically significant at 1% level (Table 5). Mean comparison showed the lowest grain number in stress treatment at tasseling stage and stalking stage, respectively (Table 6). Results of this study are consistent with findings of tests by Dağdelen et al. (2008) and Hashemzadeh (2009), based on the production of less number of grain in ear as the result of drought stress. As previously explained, the grain production deficiency at tasseling stage is due to the damage to the system of production and eventually the plant pollination. According to the results of analysis of variance in table 3, the effect of variety was significant on the number of grains per ear at 1% level and the variety 704 had greater potential for grain production than the variety 666 (Table 6).

Table 5: Analysis of variance on some traits associated with yield and its components

Source of variance	D.F.	M. S.		
		Grain number per ear	1000 grain weight	Grain yield
Replication	2	9354.389	2097.775	6939431.136
Irrigation	3	91916.704**	1417.925	42749564.511*
Error 1	6	5286.093	609.816	4959332.016
Variety	1	64320.889**	15332.921**	438344.511
Irrigation×Variety	3	2726.407	924.850*	4703359.002
Error 2	8	1860.028	184.710	1473526.576
CCC	2	9129.264	859.582*	3759989.761
Irrigation×CCC	6	6333.301	843.366*	2961082.208
Variety×CCC	2	2734.847	986.596*	12132271.121*
Irrigation×Variety×CCC	6	1438.032	323.781	1454284.875
Error 3	32	4033.285	266.920	2315351.955
CV		9.30	5.42	11.98

** and *, Significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

Table 6: Mean comparison of for some traits associated with yield and its components

Treatment	Grain number per ear	1000 grain weight (gr)	Grain yield (kg ha ⁻¹)
<i>Irrigation</i>			
I ₁	723.78a	307.17	13678.11a
I ₂	663.94b	288.83	11802.04b
I ₃	590.67c	308.04	11031.24b
I ₄	752.06a	302.51	14305.38a
<i>Variety</i>			
704	712.50a	287.04b	12626.17
666	652.72b	316.23a	12782.22
<i>CCC</i>			
control	661.50	295.11b	12427.77
0.4 (g L ⁻¹)	699.96	306.87a	13157.62
0.8 (g L ⁻¹)	686.37	302.93ab	12527.19

The means which have no letters are statistically non-significant at 5% probability level

1000-Grain weight

Effect of experimental varieties on 1000-grain weight was significant at 1% level (Table 5). Results of mean comparison indicated that the variety 666 had higher 1000-grain weight compared to variety 704 (Table 6). The above-mentioned trait is influenced by various environmental factors in addition to the genetic characteristics of the plant. This is probably due to the high yield of variety 666 in transmitting more photosynthetic material to grains during grain filling stage under which the heavier grains are produced. Despite the fact that the early-mature varieties have less number of grain and also the number of grains have the negative relationship with its weight, hybrid 666 as an early-mature variety has higher 1000-grain weight. Effect of Cycocel on 1000-grain weight was significant at 5% level according to the results of Table 5. Consumption of 0.4 g L⁻¹ of Cycocel had the greatest effect on the increase of 1000-grain weight. Consumption of 0.8 g L⁻¹ of Cycocel also was put in the next rank with production of 1000-grain weight and ultimately the lack of Cycocel consumption was put in the final rank (Table 4). Cycocel probably increases the 1000-grain weight through affecting the grain size; It also seems that the anti-transpiration materials play a role in filling the grains and increasing the weight of grain through transferring sufficient photosynthetic material to grains. Hashemzadeh (2006) and Kazempour and Tajbakhsh (2002), also reported similar results about the effect of Cycocel on grain weight. According to the results of analysis of variance in

Table 5, the interaction of irrigation and variety, irrigation and Cycocel and variety and Cycocel was significant at 5% level. With evaluation of mean comparisons in Figure 3., 4. and 5. on the one side and revisal the results in Table 6. about 1000-grain weight on the other side, we can explain the interaction effects of experimental factors. This result indicates the effectiveness of Cycocel in mitigating the effects of drought stress and also vulnerable of staling and tasseling stages in maize.

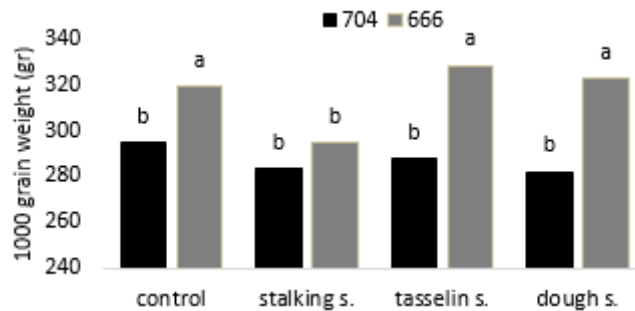


Figure 3: Mean comparison interaction of the irrigation and variety on 1000 grain weight

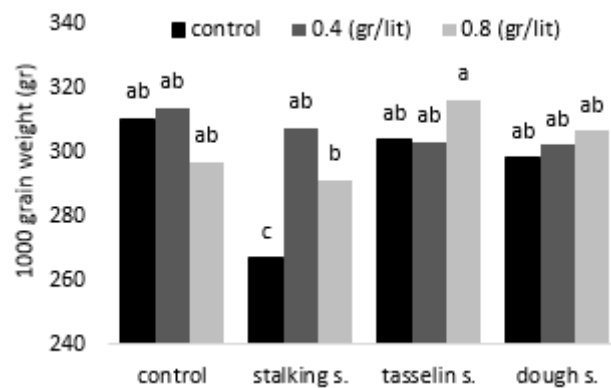


Figure 4: Mean comparison interaction of the irrigation and CCC on 1000 grain weight

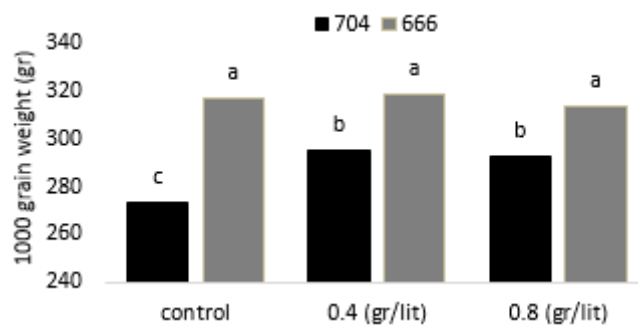


Figure 5: Mean comparison interaction of the variety and CCC on 1000 grain weight

Grain yield

The effect of different irrigation types on grain yield was significant at 5% level based on analysis of variance in Table 5. According to the results of mean comparing (Table 6), the moisture stress treatment at dough stage of grain and control irrigation were put in the same experimental group with highest grain yield. Moisture stress treatments during tasseling and staling also had the lowest yield per unit area and were statistically put in the same group (Table 6). The grain yield increased due to enhanced consumed water through increased ear length and diameter, number of grains per ear, number of grain per row, number of grain per ear, and 1000-grain weight (Hashemzadeh, 2006). Numerous tests also reported the grain yield increase through the rate of consumed water and this is consistent with the findings of this experiment (Patrick et al., 2004; Nadvar et al., 2006). Since the reproductive parts are created at staling stage and also the tasseling stage is the closest time to the emergence of maize and grain, plant has the highest influence by stress at these two stages. Interaction of variety and Cycocel was

also significant at 1% level (Table 5). Thus, variety 666 led to the highest grain yield through applying Cycocel concentration equal to 0.4gL^{-1} (Figure 6).

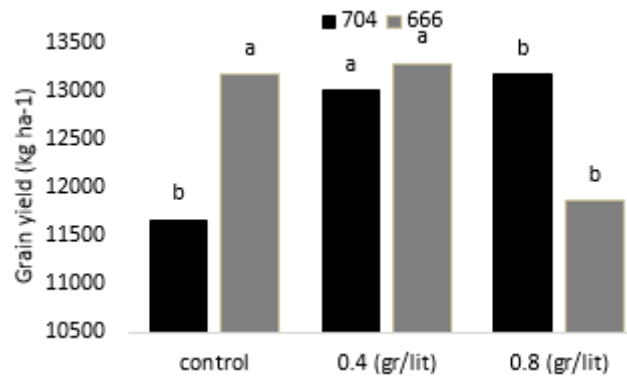


Figure 6: Mean comparison kg ha⁻¹ of the variety and CCC on grain yield

Conclusion

The obtained results in the current study indicate that the highest damage in moisture stress is made during tasseling and staking stages and this refers to the sensitivity of these two phases in plant growth process. Results of numerous studies by agricultural researchers in the field of drought stress indicate that the normal procedure of irrigation and not damaging to the plants due to moisture stress during the vegetative and reproductive stages will lead to the maximal and normal yield of plant. Not damaging at moisture stress treatment at dough stage is also because of reaching the later stages of plant growth and completion of plant vegetative and reproductive growth phase under which the plant enters the feedback phase (movement of stored materials to the grain and accumulation in grains). Despite the fact that the impact of seed pretreatment with Cycocel plant growth regulator was observed on various traits, investigating different resources similar to this experiment indicate that the foliar application of Cycocel was more efficient and led to better results.

References

- Allen, R.R. and J.T. Musick, 1993, Planting date, water management and maturity length relation for irrigation grain sorghum, *Trans, ASAE*, 36(4): 1123-1129.
- Athar, H. and M. Ashraf, 2005, Photosynthesis under drought stress, In: *Hand Book Photosynthesis*, 2nd ed., C. R. C. Press, New York, 795-810.
- Barrett, J.E. and T.A. Nell, 1992, Efficacy of paclobutrazol and uniconazole on four bedding plant species, *Horticulture Science*, 27: 896-897.
- Beck, D., Betran, J. and M. Banzinger, 1996, Progress in developing drought and low soil nitrogen tolerance in maize, 51st annual corn and sorghum research conference, Chicago, IL. *Proceedings* 55, American Seed Trade Association, Washington, 10 Dec., 85-111.
- Bolaos, J., Edmeades, G.O. and L. Martinetz, 1993, Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical, maize, III. Responses in drought adaptive physiological and morphological traits, *Field Crops Research*, 31(3-4): 269-286.
- Boyer, J.S. and H.G. McPherson, 1998, Physiology water deficit in cereal crops, *Agronomy Journal*, 27: 1-23.
- Ceccarelli, S. and S. Grando, 1996, Drought as a challenge for the plant breeder, *Plant Growth Regulation*, 20(2): 149-155.
- Dağdelen, N., Gürbüz, T., Sezgin, F., Yılmaz, E., Yesilirmak, E. and S. Akçay, 2008, Effect of different water stress on the yield and yield components of second crop corn in semiarid climate, *International Meeting on Soil Fertility Land Management and Agroclimatology, Kuşadası, Turkey*, 29 Oct.-1 Nov., 815-826.
- Emam, Y. and G.R. Moaied, 2000, Effect of planting density and chlormequat chloride on morphological and physiological characteristics of winter barley (*H. vulgare* L.) Cul. Valfajr, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2(2): 75-83.
- FAO, 2014, New gridded maps of Koeppen's climate classification, http://www.fao.org/nr/climpag/globgrids/kc_classification_en.asp (11/10/2014).
- Farooq, U. and A. Bano, 2006, Effect of abscisic acid and chlorocholine chloride on nodulation and biochemical content of *Vigna radiata* L. under water stress, *Pakistan Journal of Botany*, 38(5): 1511-1518.
- Gallagher, J.N. and P.V. Biscoe, 1978, Radiation absorption, growth and yield of cereals, *Journal of Agricultural Science*, 91(1): 47-60.
- Gilley, A. and R.A. Fletcher, 1997, Relative efficacy of paclobutrazol, prochloraz and tetraconazole as stress protectants in wheat seedlings, *Plant Growth Regulation*, 21: 169-175.
- Golbashy, M., Ebrahimi, M., Khorasani, S.K. and R. Choukan, 2010, Evaluation of drought tolerance of some corn (*Zea mays* L.) hybrids in Iran, *African Journal of Agriculture Research*, 5(19): 2714-2719.
- Guelloubi, R., Hamdy, A. and V. Sardo, 2005, Maize production under two water saving techniques, <http://resources.ciheam.org/om/pdf/b53/00800753.pdf>, Online available (05/10/2014).
- Hashemzadeh, F. 2006, Drought stress and cycocel effects on quantitative characteristics of corn varieties in second cultivation, M.Sc. Thesis, Azad University of Tabriz, Department of Agronomy and Plant Breeding, Iran, 87.
- Hashemzadeh, F. 2009, Drought stress and cycocel effects on corn varieties yield in second cultivation, *Journal of New Agricultural Sciences*, 14(5): 67-79.
- Ilkcaei, M.N., Habibi, D., Paknejhad, F., Khodabandeh, N., Boujar, A.M. and F. Seddighi, 2010, Effect of chlorocholine chloride and spraying time on corn's yield, physiologic traits and activity of antioxidant enzymes in drought stress conditions, *Journal of New Agricultural Sciences*, 19(6) 11-18.
- Jajarmi, V. 2009, Effect of water stress on germination indices in seven wheat cultivar, *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology*, 49: 105-106.
- Karimian, S., Modares, S. and A. Sepehri, 2005, Effect of water stress at vegetative and generative growth stages in leafy hybrids and commercial corn, *Agriculture Research: Water, Soil & Plant*, 5(3): 39-51.
- Kazempour, S. and M. Tajbakhsh, 2002, Effect of some antitranspirants on vegetative characteristic, yield and yield components of corn under narrow irrigation, *Iranian Journal of Agriculture Science*, 33(2): 205-210.
- Khodarahmpour, Z. and J. Hamidi, 2012, Study of yield and yield components of corn (*Zea mays* L.) inbred lines to drought stress, *African Journal of Biotechnology*, 11(13): 3099-3105.
- Koliaei, A.A., Akbari, G.A., Armandpisheh, O., Labbafi, M.R. and R. Zarghami, 2011, Effects of phosphate chemical fertilizers and biologic fertilizers in various moisture regimes on some morphological characteristics and seeds performance in maize S.C. 704, *Asian Journal of Agricultural Sciences*, 3(3): 223-234.
- Moniruzzaman, M. 2000, Effect of Cycocel (CCC) on the growth and yield manipulation of vegetable soybean, *Agricultural Research Center Report*, 1-16.
- Nadvar, A., Ardakani, G., Nourmohammadi, G. and A. Najafi, 2006, Effect of four different irrigation levels, trickle and stripe irrigation on water use efficiency and morphological characteristics of corn, *Journal of Agriculture and Crops Breeding*, 1(1): 63-73.
- Pasian, C.C. and M. Bennett, 2001, Paclobutrazol soaked marigold, geranium, and tomato seeds produce short seedlings, *Horticulture Science*, 36(4): 721-731.
- Patrick, M.O., Shanahan, J.F., Schepers, J.S. and B. Caldwell, 2004, Agronomic responses of corn hybrids for different areas to deficit and adequate levels of water and nitrogen, *Agronomy Journal*, 96(6): 1660-1667.
- Peltonen Sainio, P. and A. Rajala, 2001, Chlormequat and ethephon effects on growth and yield formation of conventional, naked, and dwarf oat, *Agricultural and Food Science in Finland* 10: 175-184.
- Rajala, A. 2003, Plant growth regulators to manipulate cereal growth in northern growing conditions, *University of Helsinki Publication*: 13,

- Academic Dissertation, Helsinki, 47.
- Royo, C., Aparicio, N., Blanco, R. and D. Villegas, 2004, Leaf and green area development of durum wheat genotypes grown under Mediterranean conditions, *European Journal of Agronomy*, 20(4): 419-430.
- Sadeghi, L., Madani, H. and M. Rafei, 2007, Effect of different levels of irrigation on yield and yield components of maize (*Zea mays* L.), *Journal of New Agricultural Sciences*, 4(1): 267-278.
- Sandor, Z. 2010, Effect of herbicides used in maize culture on soil microbiological activity, PhD thesis, University of Debrecen, Hungary, 23.
- Shekoofa, A. and Y. Emam, 2008, Effects of nitrogen fertilization and plant growth regulators (PGRs) on Yield of Wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Shiraz), *Journal of agriculture Science Technology*, 10(2): 101-108.
- Shiri, M., Choukan, R. and R. T. Aliyev, 2010, Drought tolerance evaluation of corn hybrids using biplot method, *Trends in Applied Sciences Research*, 5(2): 129-137.
- U.S. EPA, 2007, Reregistration Eligibility Decision for Chlormequat Chloride, Pub. no 0968, USA, 66.
- Webb, J. A. and R. A. Fletcher, 1996, Paclobutrazol protects wheat seedlings from injury due to waterlogging, *Plant Growth Regulation*, 18(3): 201-206.
- Wu, G. C., Xue, Y. and D. Y. He, 2003, Combining ability analysis on maize inbred lines, *Journal of Maize Sciences*. 11(2): 32-36.

Tarımsal Üretimde Kadınların Karar Alma Süreçlerine Katılımı ve Kooperatiflerden Beklentileri

Women's Contribution to Decision Making Processes in Agricultural Production and Their Expectation From Cooperatives

Emine YILMAZ^{1*}, Gülen ÖZDEMİR¹, Yasemin ORAMAN¹,
Gökhan UNAKITAN¹, Sema KONYALI¹

Öz


Kırsal kesimde kadınların rolleri ve işlevleri oldukça önemli olmasına rağmen birçok alanda ücretsiz aile işçisi olarak çalışmaktadırlar. Kadınlar bir yandan günlük rutin ev işleri yaparken, diğer taraftan el sanatları ve tarımsal üretim gibi gelir getirici işler yaparak aile bütçesine katkı sağlamaktadır ancak aile içinde ve üretimle ilgili alınan kararlara etkin olarak katılamamaktadır. Araştırma Tekirdağ ili merkeze bağlı 55 köyde yaşayan 255 kadını kapsamaktadır. Araştırma, çeşitli yazılı kaynaklardan ve alandan toplanan özgün verilerden yararlanılarak hazırlanmıştır. Araştırmaya katılan kırsal kadınlara anket uygulanarak, öğrenim durumu, aile yapısı, gelir kaynaklarının neler olduğu, sosyal güvence durumları, aile içi kararlara katılımları gibi konular incelenmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçlara göre, ankete katılan kadınların %60.8'i ilkokul mezunudur. Kadınlar, bitkisel üretimde çapalama ve ekim-dikim; hayvansal üretimde süt sağımı gibi üretimin her aşamasına katılmaktadır. Kadınlar en çok ailede giyim eşyalarının satın alınmasına (%40.4) karar vermektedir. Eşlerin birlikte karar verdiği konuların başında ise sahip olunmak istenen çocuk sayısı (%82.3) gelmektedir. Araştırmada elde edilen sonuçlarda aile içinde alınan ekonomik ve sosyal kararlarda etkili olan kişi genelde aile reisi olmaktadır. Araştırmada kırsal alanda yaşayan kadınların kooperatiflerden beklentilerini konumlandırmak üzere yapılan çok boyutlu ölçekleme (ÇBÖ) analizinden yararlanılmıştır. Araştırmada kırsal kesimdeki kadınların kooperatif ortaklığındaki önceliklerinin tarımsal girdi temini ve ürünlerini pazarlayabilmek olduğu belirlenmiştir.


Anahtar Kelimeler: Kırsal Kalkınma, Kırsal Kadın, İşgücü, Kooperatif


Abstract


Although the roles and functions of women are very important in rural places, they work as unpaid family workers in many areas. On the one hand, women carry out the daily chores; on the other hand, they contribute to the family budget by doing profitable works such as handicrafts and agricultural production. However, they do not contribute effectively to decisions made in the family or about production. The research includes 255 women living in 55 villages in Tekirdağ. The research has been prepared with data obtained from various written sources and from authentic data collected from the area. Through the questionnaire method done to rural women within the scope of the research, subjects such as rural family structure and education level of women, income sources, and contribution to decisions on agricultural production were examined. According to the results of the study, 60.8% of women who took part in the questionnaire are primary school graduates. Women contribute to every level of production by ploughing and planting in plant production; and milking animals in animal production. Women mostly decide on the purchase (40.4%) of clothes in the family. The subject that couples decide together (82.3%) is primarily on how many children they would have. According to the results of the study, the patriarch of the family is generally the effective on making on financial and social decisions. The research employs multi-dimensional scaling (MDS) analysis in order to position women's expectations from cooperatives. The study has determined that women's priorities in cooperative partnership are input supply and marketing their products.


Keywords: Rural Development, Rural Women, Work Power, Cooperative

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Emine Yılmaz, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Tekirdağ. E-mail: emineyilmaz@nku.edu.tr,  ORCID: 0000-0002-3434-8932

¹Gülen Özdemir, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Tekirdağ. E-mail: gozdemir@nku.edu.tr  ORCID: 0000-0003-3107-972X

¹Yasemin Oraman, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Tekirdağ. E-mail: yoraman@nku.edu.tr  ORCID: 0000-0001-6776-7861

¹Gökhan Unakitan, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Tekirdağ. E-mail: unakitan@nku.edu.tr  ORCID: 0000-0002-9824-5975

¹Sema Konyalı, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Tekirdağ. E-mail: skonyali@nku.edu.tr  ORCID: 0000-0002-6049-495X

Atıf/Citation: Yılmaz, E., Özdemir, G., Oraman, Y., Unakitan, G., Konyalı, S. Tarımsal üretimde kadınların karar alma süreçlerine katılımı ve kooperatiflerden beklentileri, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 71-81.

Extended Summary

In the agriculture sector, female labor is not seen as an income-generating activity because women who work are unregistered, lack insurance, and constitute unpaid family workers involved in production, and they also are not reflected in the statistics. The fact that women are seen as an aid to cheap labor or family economy, and that most of their activities are considered as part of their natural life – not in the real sense of domestic work – cause a low perception of the work. The population of Turkey reached 80.810.525 by the end of 2017, and 92.5% of population lives in urban areas, while 7.5% lives in rural ones. Some 50.2% of total population is male, and 49.8% is female; also, 50.6% of total rural population is male, and 49.4% is female. There are no major differences between male and female population in urban and rural areas. The most important role assumed by women in rural areas is agricultural production. Women go through the struggles of production, but, unfortunately, they cannot make use of its benefits. The majority of women employed in agricultural labor in rural areas receives marginal jobs and work as unpaid family workers. Women contribute to the right and healthy nutrition of the family, which is the smallest unit of the social structure. Nutrition plays an important role in the education of children by transferring to new generations various patterns of behavior, as well as information and culture. As long as women carry out the tasks they assume, they contribute significantly to the developments in the socio-economic and cultural structure of society. Although the roles and functions of women are very important in rural places, they work as unpaid family workers in many areas. On the one hand, women carry out the daily chores; on the other hand, they contribute to the family budget by doing profitable works such as handcrafts and agricultural production. However, they do not contribute effectively to decisions taken in the family or about production. Although women largely take part in agricultural production in Turkey, their roles should be improved in marketing and entrepreneurship. Women cannot put forth their entrepreneurship skills in rural areas. Thus, their active participation in entrepreneurship and marketing processes will play a significant role for them to assume more active roles in both economic and social processes in rural areas.

The present research concerns 255 women living in 55 villages in Tekirdağ. It has been prepared with data obtained from various written sources and from authentic data collected from the area. Through the questionnaire method applied to rural women within the scope of the research, subject matters, such as rural family structure and education level of women, income sources, and contribution to decisions on agricultural production, were examined. According to the results of the study, some 60.8% of women who took part in the questionnaire are primary school graduates. Women contribute to every level of production by ploughing and planting in plant production, and by milking animals in animal production. Women decide mostly on the purchase (40.4%) of clothes in the family. The subject on which the couples decide together (82.3%) is primarily on how many children they would have. According to the results of the study, the husband and/or father of the family is actually in effect in making financial and social decisions. Our research employs multi-dimensional scaling (MDS) analysis in order to position women's expectations from cooperatives. The study has determined that women's priorities in cooperative partnership are input supply and the marketing of their products.

In order to increase the tendency to create various forms of communion in rural areas, trainings should be organized and the existing unions and organizations should be further developed. Cooperatives represent an important tool for women in rural areas. Therefore, women should be partners in cooperatives. Increasing the impact of women's existence and decision-making processes in cooperatives should be important in meeting the cultural, social and economic needs of women, as well as in meeting the needs for the production of goods and services within the scope of economic activities and their marketing. In this way, important steps would be made in reducing the poverty, increasing instead the income distribution of women living in rural and being involved in agricultural activities by providing them with different forms of cooperation and organization.

Women entrepreneurship in rural areas, the inadequacy of women's access to property, material resources and education, and low income levels limit the rate of traditional labor force participation. Women's cooperatives can be an important role model for women's labor force participation.

Türkiye’de kırsal ve kentsel alanlarda kadınların işgücüne katılımlarında büyük farklılıklar vardır. Kırsalda çalışan kadınların oranı erkeklerin oranından daha fazladır. Kadın, şehirlerde ekonomik özgürlüğünü kazanabilmek için daha iyi şartlarda çalışırken, kırsal kesimde daha ağır şartlarda çalışmak durumundadır. Kırsalda kadının çalıştığı işler genellikle tarımsal faaliyetlere yöneliktir. Kadınlar ülkemizde kırsal kesim ekonomisini ayakta tutan temel bir güçtür. Tarımsal faaliyetlere de büyük ölçüde bedenen katılan kırsal kadınlar aile içinde de evinin kadını ve anne olarak büyük sorumluluklar taşımaktadırlar.

Kırsal alanda, kadının üretimdeki emek yoğunluğu çok yüksektir. Kırsalda kadınlar ve genç kızlar ücretsiz aile işçisi konumunda olup aynı zamanda ağır bir iş yüküne de sahiptirler (Fazlıoğlu 2002).

Kadın, toplumsal yapının en küçük birimi olan ailenin, doğru ve sağlıklı beslenmesine katkıda bulunur. Diğer taraftan çocuklarına davranış biçimlerini, bilgilerini ve kültürünü aktararak çocukların eğitiminde de önemli bir role sahiptir. Kadınlar üstlenmiş olduğu görevleri yaptıkları sürece, toplumun hem sosyo-ekonomik, hem de kültürel yapısındaki gelişmelere önemli katkı sağlamış olurlar.

Bu araştırma ile Tekirdağ İli’nde kırsal kesimdeki kadınların işgücüne ve üretime katılım düzeyleri, tarımsal üretim ile ilgili kararlara katılımları, kooperatif ortaklığındaki öncelikleri değerlendirilmeye çalışılmış ve öneriler ortaya konulmuştur.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışmanın ana materyalini Tekirdağ ili merkezine bağlı 55 köydeki 255 kadından anketlerle sağlanan veriler oluşturmaktadır. Çalışmanın anket aşamasında uygulanacak anketlerin eksikliğini gidermek amacıyla pilot anketler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu anketler tesadüfi olarak seçilen ailelere uygulanmıştır. Pilot anketlerden elde edilen sonuçlardan hareketle anket formları tekrar gözden geçirilmiş, düzenlemeler yapılmış ve esas anketler hazırlanarak anket çalışmasına başlanmıştır. Araştırmada konu ile ilgili daha önce yapılmış çeşitli araştırmalardan yararlanılmıştır. Çalışmanın örnek hacmi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır (Malhotra, 1999).

$$n = \frac{N \cdot p(1-p)}{(N-1)\sigma_{px}^2 + p(1-p)}$$

Formüle N: populasyon, n: örnek hacmi, p:populasyonun özelliği (kırsal kesimde kadınların oranı), (1-p): kırsal kesimde erkeklerin oranı, oranların standart sapması, d: örnekleme hata payı, $Z_{\alpha/2}$: güven aralığı

Tekirdağ merkez ile bağlı 55 köyde 4601 hane halkı bulunmaktadır. Yukarıdaki örnekleme formülüne göre %95 güven aralığı ve 0,05 hata payı dikkate alındığında örnek hacmi 255 olarak hesaplanmıştır. Her bir hanede bir kadın bulunduğu varsayımından hareketle en yüksek örnek hacmine ulaşabilmek üzere p ve (1-p) 0,50 kabul edilmiştir. Örnek hacmi Tekirdağ merkez ile bağlı köyler arasında oransal olarak dağıtılmıştır. Çalışma kapsamında 55 adet köyün tamamı ziyaret edilerek, örnek hacmini oluşturan 255 haneden birer kadın ile yüz yüze görüşülmüştür.

Anket sonuçlarının değerlendirilmesinde kırsal alanda yaşayan kadınların kooperatiflerden beklentilerini konumlandırmak üzere yapılan çok boyutlu ölçekleme (ÇBÖ) analizinden yararlanılmıştır.

Araştırma Bulguları

Kadınların Demografik Yapısı

İklim ve arazi koşullarındaki olumsuzluklar, köyde yaşamayı zorlaştırmaktadır. Tüm aile bireylerinin yaşadığı bu zorluğu kadınlar çok daha fazla yaşamaktadır. Çünkü kadın, günlük hem ev işleri ve hem de ev dışındaki işlerde yoğun bir şekilde emek harcamakta, erkeğin çalışmak için köy dışına çıkması nedeni ile de ailenin yükünü tek başına üstlenmektedir. Böylece kadın, ailenin gıda güvenliğinde ve kırsal kalkınmada da önemli bir rol oynamaktadır (Demir, 2002).

Kadınların yaşları diğer nitelikleri arasındaki ilişkileri ortaya çıkarması bakımından önem taşımaktadır. Yaş, Türk toplumunda bireylerin kabul görmesinde, toplumda belli bir yer edinmesinde, ayrıca kendilerini ve çevrelerini belirli bir biçim ve düzeyde etkilemelerinde önemlidir (Yıldırak ve ark., 2003). Bu sebeple araştırma kapsamındaki kırsal kadınların yaş durumları Çizelge 1’ de verilmiştir.

Çizelge 1. Ankete Katılan Kadınların Yaş Durumu

Table 1. Age Status of Women Participated in the Survey

Yaş	Sayı	Oran (%)
15-24	21	8.2
25-34	49	19.2
35-44	86	33.7
45-54	66	25.9
55-64	22	8.6
65+	11	4.2
Toplam	255	100

Çizelge 1’de kadınların yaş gruplarına göre dağılımı verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü gibi kadınların yaklaşık %33.7’sinin 35-44 yaş grubunda olduğu, bunu sırasıyla %25.9 ile 45-54 ve yine %19.2 ile 25-34 yaş grubunun izlediği görülmektedir.

Kalkınmanın odak noktasının insan olarak dikkate aldığımızda, dünyadaki bütün ülkeler eğitimi önemli bir yatırım aracı olarak kabul etmektedirler. Durum böyleyken, ülkemizde kırsal kesimdeki kadınlar, eğitim açısından olumsuz koşullarda bulunmaktadır (Karataş,1997; Özgen ve Ufuk, 2011).Tekirdağ köylerinde yaşayan anket katılımcısı kadınların eğitim düzeyleri Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. Ankete Katılan Kadınların Eğitim Durumu

Table 2. Education Status of the Surveyed Women

	Sayı	Oran (%)
İlkokul	155	60.8
Ortaokul	51	20.0
Lise	37	14.5
Üniversite	12	4.7
Toplam	255	100

Ankete katılan kadınların eğitim durumları incelendiğinde, %60.8’sinin ilkökul mezunu olduğu görülmektedir. Ortaokul mezunları %20, lise mezunlarının oranı %14.5, üniversite mezunu olanların oranı ise %4.7’dir.

Schultz’a göre; kadını eğitmek, verimlilik artışı sağlar ve buna bağlı olarak da kişisel ücret getirilerini artırır, doğurganlığı ve çocuk ölümlerini azaltır. Kadının sosyal çevresinin dışı açılmasını sağlar, çocukların iyi bir eğitim ve sağlık olanaklarına erişmesiyle kuşaklar arası farklılıkları giderir, geliri düşük ve yüksek olanlar arasında fırsat eşitliği sağlar. Bir kadını eğitmek, bir aileyi ve bir toplumu eğitmekle eşdeğerdir (Bubolz, 2001). Kadın eğitiminin, toplumun gelişmesine olumlu katkı sağladığının bilinmesine rağmen, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, kadınların eğitimine daha fazla önem verilmesi gerektiği dikkate alınmamaktadır (Yumuşak, 2004). Çalışmada görüldüğü üzere kırsaldaki kadınları eğitim düzeyi büyük bir çoğunlukla ilkökul ve ortaokul düzeyinde olup, eğitim seviyesinin yükseltilmesi açısından daha çok yol alınması gerektiği ortaya çıkmaktadır.

Kadınların İşgücüne Katılım Durumu

Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de tarım ve hayvancılık sonucunda elde edilen ürünler, gıda güvenliğinin önemli bir parçasıdır ve bu faaliyetler çoğunlukla kadınlar tarafından yerine getirilir. Türk toplumunda kırsaldaki kadınlar büyük ölçüde üretime katılmak ve ekonomik kalkınmaya katkı sağlamaktadır. Araştırmanın yapıldığı Tekirdağ’ın köylerinde de kadınların tarım ve hayvancılık faaliyetlerine katılımları oldukça yüksek düzeydedir.

Sosyo-ekonomik faktörler sebebiyle son yıllarda genç neslin göç ederek tarımsal faaliyetlerden uzaklaşması farklı iş sektörlerinde çalışmaya başlaması, kadınların ev içi ve dışında yeni görev ve sorumluluklar yüklenmesine neden olmuştur. Kadınlar ev içindeki görev ve sorumluluklarının dışında hayvansal ve bitkisel üretimde de emek yoğun faaliyetlere katılmak durumunda kalmışlardır. Ülkemizde yapılan araştırmalara bakıldığında kadınların işgücüne katılımı başlıca üretim faaliyeti ve işletmenin mekanizasyon düzeyi gibi pek çok etken tarafından belirlenmektedir. Örneğin kadınlar hasat sonrası faaliyetlere veya hayvansal üretim faaliyetine, erkeklerden çok daha fazla katılmaktadır. Aile düşük mekanizasyon düzeyine sahip olduğunda da kadınlar tarımsal faaliyetlerde daha fazla yer almaktadır (Özçatalbaş, 2001).

Ankete katılan kadınların tarımsal faaliyetlerde yaptıkları işler, hayvansal üretim ve bitkisel üretim şeklinde iki gruba bölünerek Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3 incelendiğinde, kadınların bitkisel üretim faaliyet alanında en çok (%78.4) çapalama, ekim (%64.3), dikim (%60.8) işlerinde çalıştıkları görülmektedir. Sulamada çalışan kadınların oranı % 54.0, toprağı ekime hazırlamada çalışanların oranı %39.6, hasatta çalışanların oranı %37.6, gübrelemede çalışanların oranı %33.7, ilaçlamada çalışanların oranı %21.6 olarak belirlenmiştir. Hayvansal üretimle ilgili faaliyetlere bakıldığında, kadınların %76,5'inin süt sağımı, %61,2'sinin ahır-ağıl temizliği, %62,0'sinin hayvan besleme, %58,0'inin hayvan sulama, %38,0'inin hayvan otlatma işlerini yaptığı görülmektedir. Elde edilen bu bilgilere göre kırsalda kadınların tarımsal üretimin her aşamasında yer aldıklarını söylemek mümkündür.

Çizelge 3. Tarımsal Faaliyetlerde Kadınların Yaptıkları İşler

Table 3. Women's Works in Agriculture

Tarımsal faaliyet	Yapılan işler	Kadın sayısı	Oran (%)
Bitkisel Üretim	Ekim	164	64.3
	Dikim	155	60.8
	Sulama	140	54.0
	Toprağı Ekime Hazırlama	101	39.6
	Gübreleme	86	33.7
	Çapa Yapma	200	78.4
	Budama	61	23.9
	Hasat	96	37.6
	Taşıma	81	31.8
	Ürün Pazarlama	49	19.2
	İlaçlama	55	21.6
	Aşı Yapma	21	8.2
	Tohum Ekme	122	47.8
	Hayvansal Üretim	Ahır-Ağıl Temizliği	156
Yem Hazırlama		151	59.2
Süt Sağımı		195	76.5
Hayvan Beslemesi		158	62.0
Hayvan Otlatma		97	38.0
Sulama		148	58.0

Not: Sorulara birden fazla cevap vermiştir.

Araştırma alanındaki hayvancılık faaliyetleri çoğunlukla kadınlar tarafından yerine getirilmektedir. Bakılabilecek hayvan çeşidi ve sayısının belirlenmesi, satılacak hayvanların hangileri olduğunun kararının verilmesi genellikle kadınlara aittir. Hayvanların sağılması, bakımı, sütün işlenerek ikincil ürünlere dönüştürülmesi çoğunlukla kadınların sorumluluğundadır.

Kadınların Aile İçi Kararlara Katılımı

Türkiye'de genellikle kırsal ya da kentsel alanda aile biçimlerine göre farklılık olsa da karar aşamasında erkekler daha etkin rol almaktadır. Günümüzde hızla değişen dünya koşulları içerisinde kentleşme, ulaşım, sağlık, eğitim, göç ve teknolojiye gelişmelere koşut olarak, kadınların aile içi ve dışı ilişkilerinde, üretim süreçlerindeki rollerinde, kararlara katılımlarında olumlu yönde bir gelişme olmamaktadır. Kırsal kadının topluluk düzeyinde etkili olamaması temel olarak geleneksel cinsiyete dayalı tabakalaşma ve eğitim düzeyinin düşüklüğünden kaynaklanmaktadır. Karar vermede söz sahibi olamama her kesimdeki kadınlar tarafından hissedilen, ama kırsal alan kadınlarında daha belirgin olan bir gerçektir (Fazlıoğlu 2001).

Kırsalda aile içerisinde erkek, kadın ve çocuklar farklı konumlarda bulunurlar. Genellikle aile içerisinde bütün dikkatler ilk önce baba, sonra erkek çocuklar üzerinde toplanmakta ve kadın ise ikinci planda yer almaktadır. Karar alma işlemi zihinsel bir faaliyet sonucunda ortaya çıkmakta ve bu işlem bir süreci gerektirmektedir. Bu yönüyle kırsalda yaşayan kadınların tarımsal üretim faaliyetinin karar sürecine katılmaları ekonomik anlamda bir işittir. Bu nedenle tarımsal işletmede alınan kararlara katılım, üretim faaliyetine katılım kadar incelemeye değerdir. (Merter,

1990).

Kadınlarla erkeklerin aynı oranda karar verme sürecine katılması, ülkemizde önemli engellerle karşılaşmıştır. Bu engellerin bir bölümü toplumsal bir bölümü ise kültürelidir. Aile sisteminde karar verme bir uzlaşma biçimidir. Kırsal alandaki kadının karar verme sürecine katılımı ailedeki ataerkil yapının boyutları ve kadının statüsü ile yakından ilişkilidir (Bayoğlu, 2010).

Anket yapılan kadınların %52.1'i arazi satın alınıp satılmasına ailede erkeklerin karar verdiklerini belirtmişlerdir. Kadınlar en çok ailede giyim eşyalarının satın alınmasına (%40.3), ikinci sırada da hangi siyasi partiye oy verileceğine (%36.0) karar vermektedirler. Eşlerin birlikte karar verdiği konuların başında ise sahip olunmak istenen çocuk sayısı (%82.3) gelmektedir. Araştırmada elde edilen sonuçlarda aile içinde alınan ekonomik ve sosyal kararlarda etkili olan kişi genelde aile reisi olmaktadır.

Çizelge 4. Kırsal ailede kadının kararlara katılımı

Table 4. Women's participation in decisions in rural family

Kararlar	Kadın		Erkek		Eşler Birlikte		Aile Üyeleri Birlikte		Toplam	
	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)
Araç Gereç Satın alımı	16	6.27	113	44.31	99	38.82	27	10.58	255	100
Yeni teknolojik araç gereçlerin kullanılmasına	13	5.09	116	45.49	92	36.07	34	13.33	255	100
Arazi satın alınıp satılmasına	4	1.56	133	52.15	81	31.76	37	14.50	255	100
Yeni bir tarımsal ürün çeşidinin üretimine	29	11.37	126	49.41	68	26.67	32	12.54	255	100
Ürünlerin ne zaman satılacağına	33	12.94	123	48.23	68	26.67	31	12.15	255	100
Aile gelirinin harcanmasına	19	7.45	48	18.82	150	58.82	38	14.90	255	100
Ev eşyalarının satın alınmasına	55	21.56	24	9.41	142	55.68	34	13.33	255	100
Giyim eşyalarının satın alınmasına	103	40.39	6	2.35	116	45.49	29	11.37	255	100
Çocukların öğrenim süresine	15	5.88	28	10.98	133	52.15	53	20.78	255	100
Kadının tarım dışı bir işte çalışmasına	55	21.56	48	18.32	130	50.98	34	13.33	255	100
Seçimlerde hangi siyasi partiye oy verileceğine	92	36.07	36	14.11	191	74.90	27	10.58	255	100
Sahip olunmak istenen çocuk sayısına	13	5.09	18	7.05	210	82.35	11	4.31	255	100

Kırsal alanda yapılan birçok araştırmada kadınların, tarımsal üretim faaliyetlerine katılmalarına rağmen, tarımsal üretimle ilgili alınan kararlarda karar verici olarak değil de kararın oluşmasında katkıda bulunan olduğu görülmüştür. Kadınlar aile içinde alınan birçok kararda da etkili olamamaktadır. Konya ilinde yapılan bir araştırmada erkeklerin tarım dışı işlerde çalışması kadın işgücü kullanımını artırdığı, fakat kadınların işletme ile ilgili kararlarda pek fazla etkili olmadıkları belirlenmiştir (Mülayim, 1999). Amerika Birleşik Devletlerinde kırsal alanda yaşayan kadınların tarımsal faaliyetlere ve kararlara katılımının araştırıldığı bir çalışmada, işletmede uygulamaya yönelik kararları genellikle eşin ya da aile büyüğü olan başka bir erkeğin verdiği, kadınların %2-4 oranıyla son derece düşük bir katılıma sahip olduğu belirlenmiştir (Rosenfeld, 1986).

Antalya ilinde sera sebzeçiliğinde çalışan üretici kadınlarla yapılan bir araştırmada, kadınların serada sebze üretiminde işgücü olarak çok büyük katkıları olmasına rağmen işletmede pazarlama ve üretim ile ilgili konularda alınan kararlarda etkili olarak rol almadığı belirlenmiştir (Özkan 2000). Kentucky'de yapılan bir çalışmada ise kırsal alanda işleri yapan kadınlar olmalarına rağmen, işletme ile ilgili kararlara katılımlarının düşük olduğu görülmüştür (Bokemier ve Garkouich, 1987). Elde edilen bu veriler bize, kadınların tarımsal üretim ile ilgili birçok faaliyete katılmasına rağmen, karar alma mekanizmasında yeterince etkili olmadıklarını göstermektedir.

Trabzon ilinin orman köylerinde kırsal kadınlarla yapılan bir çalışmada, kadınların %71,0'i aile ile ilgili önemli kararlar alınırken eşlerinin kendilerine danıştığını belirtmişlerdir (Alkan ve Toksoy, 2009). Konya ilinin Yaylacık Köyünde yapılan bir araştırmada kadınlara aile gelirinin harcanmasında kararı kimler verir diye sorulduğunda kadınların, %40,0'ı kocasının karar verdiğini, %36,4'ü kocası ile birlikte karar verdiklerini, %21,8'i tüm aile

bireyleri ile birlikte karar verdiklerini, %1,8'i yalnızca kendisinin karar verdiğini belirtmiştir (Oğuz ve Kan, 2010).

Kırsal alanda yaşayan kadınların, tarımsal üretim faaliyetlerinin her aşamasına katıldıkları ancak alınacak kararlarda çoğu zaman etkili olamadıkları Kulak (2011), Oğuz ve Kan (2010), Özer ve Taluğ (2008), Kutlar (2002), Özçatalbaş (2001), Özkan (2000), Mülayim (1999) ve Hablemitoğlu (1996) tarafından da tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada da kırsal alanda yaşayan kadınların %24,3'ünün elde ettikleri kazançlarının kullanımına ilişkin karar sürecinde de hiçbir söz hakkı olmadığı görülmüştür (Kulak, 2011). Kırsal alanda kadın gelir getirici bir işte çalışsa bile elde ettiği geliri eşine vermekte ya da ailenin ihtiyaçları için harcamaktadır. Bu sonuçlardan da anlaşıldığı üzere verilen örnekler araştırma bulgularını destekler niteliktedir.

Kadınların Kooperatife, Birliğe, Derneğe Ortak veya Üye Olma Durumları ve Kooperatiflerden Beklentileri

Fertlerin tek başlarına yapamayacakları veya birlikte yapmalarında fayda bulunan işleri en iyi bir biçimde ve maliyet fiyatına yapmak üzere dayanışma suretiyle ekonomik güçlerini bir araya getirmelerine kooperatif denilmektedir (Mülayim, 1992). Ülkemizde sayısal olarak 4-5 milyon ortağı bulunan tarımsal kooperatifler çeşitli alanlarda faaliyet göstermesine rağmen, batı ülkelerinde olduğu gibi etkili değildir (Yılmaz ve Gül, 2010). Araştırma kapsamındaki kadınlara tarımsal kalkınma kooperatifi, tarım kredi kooperatifi, pancar kooperatifi, ziraat odası, üretici birliği, önder çiftçi deneği gibi kooperatif ve diğer kuruluşlara ortak olup olmadığı sorulmuş, %79.3'ü üye veya ortak olmadıklarını ifade etmişlerdir.

Üye veya ortak olduğunu belirten kadınlara (53 kadına) "hangisine üyesiniz?" diye sorulduğunda, kadınların % 32,0'ı ziraat odasına, %19,0'ı üretici birliğine, % 13.22'si tarım kredi kooperatifi- tarım kalkınma kooperatifi, % 11.3'ü önder çiftçi- pancar kooperatifine üye- ortak olduğunu belirtmiştir.

Özdemir ve ark. (2017) Trakya Bölgesinde yapmış oldukları araştırmada da kadınların %30.2'si Trakya birliğe, % 21'i Ziraat odasına, %16.8'i tarım kredi kooperatifine, %15.9'u pancar kooperatifine üye- ortak olduğu görülmektedir. Bölgede yapılan araştırmalar da hemen hemen aynı sonucu desteklemektedir.

Kooperatifler, ekonomik açıdan darda ve zorda olan kadınların ekonomik gelişmeleri için oldukça önemli araçlardır. Kooperatiflerin kurulmasında dikkat edilmesi gereken nokta, tabandan gelen gönüllü bir hareketle kurulmalarıdır. Kadınlar gerçekten ihtiyaç duyarak bu harekete başlamalıdır. Türkiye'de tarımda yer alan bazı kooperatif örneklerine bakılacak olursa, yıllarca devlet güdümlü ve ortakların sahiplenmediği kooperatifler olarak varlıklarını sürdürdükleri görülmektedir. Bunlar olumsuz birer örnek olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak bunların yanında bağımsız, tıpkı kadın kooperatiflerinde olduğu gibi tabandan gelen örgütlenme ile kurulmuş kooperatifler de ekonomik olarak güçsüz ve dağınık bir yapıda gelişmelerini sürdürmektedirler. Bu nedenlerden dolayı kadın kooperatiflerinin aynı duruma düşmemeleri için, kooperatifleşmeyi bilinçli bir şekilde örgütlemek ve yönetmek gerekmektedir (Özdemir, 2013).

Araştırmaya katılan kadınlara destek verildiğinde kendi aralarında kooperatif kurmayı düşünür müsünüz? diye sorulduğunda kadınların %60.7'si evet, % 39.2'si hayır cevabını vermiştir.

Doğanay (1993)'ın da bildirdiği gibi kooperatif politikasının amacı, tarımsal üretimin ulusal kalkınmaya olan dolaylı ve dolaysız katkılarını en yüksek düzeye ulaştırma ve bu gereklere uygun nicelik ve niteliklerde tarımsal ürün türlerinin üretilmesini gerçekleştirmektir. Bunun anlamı ise tarım kesiminin planlanmasında kooperatifçiliğin etkin bir araç olarak kullanılabilirdir. Kooperatifçilik uygulamaları, tarımsal üretimi planlamanın etkin araçlarından birisi olarak kullanılabilirse, tarımsal gelir ve üretimdeki artış hızları hem istenilen büyüklüğe ulaştırılabilir hem de tarımsal üretimde yıldan yıla görülen değişiklikler ortadan kaldırılabilir. Türkiye'de tarım küçük üreticiler tarafından yapılmakta ve küçük üreticiler fiyatların oluşmasında tek başına yeterli olamamaktadırlar.

Çizelge 5. Kooperatif Kurulduğunda Kadınların Kooperatiften Beklentileri

Table 5. Women Expectations From Cooperative When Cooperative Founded

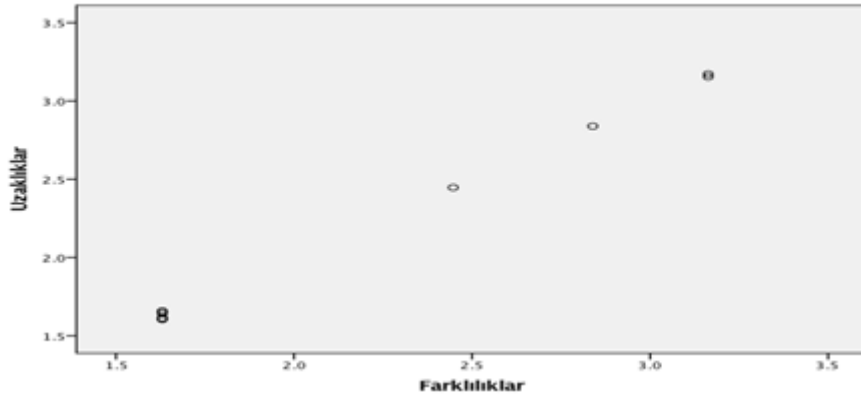
	Hiç Önemli değil	Önemli değil	Fark etmez	Önemli	Çok önemli
Tecrübeleri paylaşmak	2.0	1.6	5.1	41.9	43.8
Gelir elde etmek	0.4	2.7	0.8	32.9	54.1
İhtiyaç sahiplerine yardımcı olmak	0.4	2.4	4.3	34.1	54.1
Tarımsal girdi sağlamak	0.4	0.8	5.1	50.3	39.3
Ürünü pazarlamak	0.4	0.4	5.5	27.7	61.9

Kooperatif kurmayı düşünen kadınlara kooperatif kurulduğunda kooperatiften beklentileri sorulduğunda

%61.9'u ürünü pazarlamamın, %54.2'si gelir elde etmek ve ihtiyaç sahiplerine yardımcı olmanın çok önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Kırsal alanda yaşayan kadınların kooperatiflerden beklentilerini konumlandırmak üzere yapılan çok boyutlu ölçekleme (ÇBÖ) analizinden yararlanılmıştır.

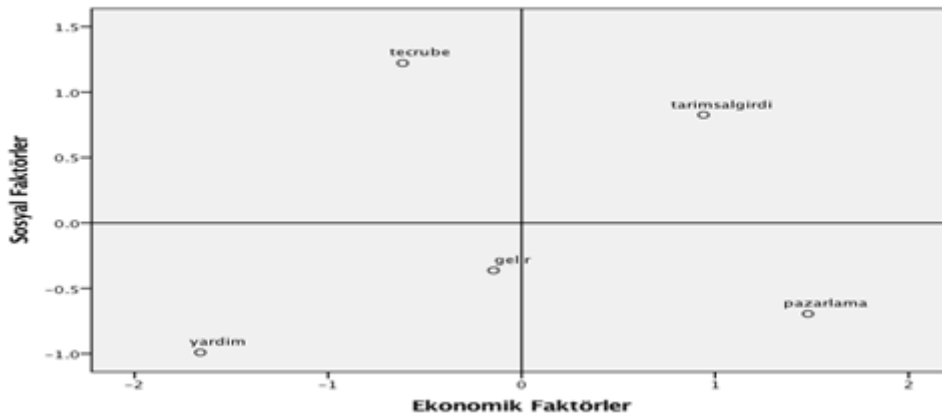
Çok boyutlu ölçekleme analizi sonucunda iki boyutlu gösterim incelendiğinde Kruskal'ın (1978) geliştirdiği stres değerinin 0,00766 olduğu görülmektedir. Bu değer veri ve konfigürasyon uzaklıkları arasındaki uyumun tam olduğunu ifade etmektedir. Elde edilen matrise ait determinasyon katsayısı (R^2) 0,99 hesaplanmıştır. Çalışmada ele alınan verilerin geometrik gösterimi lineer form ile uyumlu sonuçlar vermektedir. Bu sonuç, gözlem uzaklıkları ve farklılıklar arasında lineer bir ilişki olduğu anlamına gelmektedir (Stres=0,00766<0,025). Şekil 3.1'de verilen Shepard diyagramı gözlenen uzaklıklar ile konfigürasyon uzaklıklarının dağılımını göstermektedir.



Şekil 1. Shepard Diyagramı

Figure 1. Shepard Diagram

Çok boyutlu ölçekleme analizinin iki boyutlu grafiği ekonomik ve sosyal faktörler olarak belirlenmiştir. Kadınların kooperatiflerden beklentilerinin dağılımı Şekil 3.2'de verilmiştir. Ekonomik boyut incelendiğinde tarımsal girdi tedariki ve ürünlerin pazarlanması pozitif yönde konumlandırılırken, gelir elde etme isteği negatif bölgede konumlanmıştır. Aslında uygun fiyatlarla girdi tedarik edilmesi ve ürünlerin pazarlanması doğrudan gelirin artırılmasına yönelik beklentilerdir. Ancak deneklerin gelir elde etme isteğini doğrudan doğruya belirtmedikleri görülmektedir.



Şekil 2. Kooperatif kurulduğunda beklentiler

Figure 2. Expectations when the cooperative is established

Dağılımın sosyal boyutu incelendiğinde ise kadınların çeşitli konularda tecrübe edinme isteklerinin pozitif yönde konumlandığı görülürken ihtiyaç sahiplerine yardımcı olmak kriterinin negatif yönde konumlandığı görülmektedir. Buna göre kırsal kesimdeki kadınların kooperatif ortaklığındaki önceliklerinin tarımsal girdi temini

ve ürünlerini pazarlayabilmek olduğu söylenebilmektedir.

Sonuç

Araştırma sonuçlarını değerlendirdiğimizde, kırsal kesimde yaşayan kadınların hem hayvansal hem de bitkisel üretimin her aşamasına katkıda buldukları ve eğitim düzeylerinin oldukça düşük olduğunu görmekteyiz. Kırsalda kadınların ekonomik katkıları fazla olmasına rağmen bu katkı görünmez nitelikte olduğundan kadınlar hak ettikleri yerin gerisinde kalmaktadır.

Araştırmaya katılan kadınların % 56,1'inin sosyal güvencesinin olduğu belirlenmiştir. Sosyal güvencesi olan kadınların eşinden dolayı BAĞ-KUR , SSK ve emekli sandığı ile sosyal güvenceye sahiptir. Ailelerin %47,6'sının 50 dönümden az araziye sahip olduğu görülmektedir.

Kadınların bitkisel üretim faaliyet alanında en fazla ekim, dikim, çapalama işlerinde çalıştıkları anlaşılmaktadır. Hayvansal üretimle ilgili faaliyetlere katılımlarına bakıldığında, kadınların hayvan besleme, süt sağımı, sulama, ahır-ağıl temizliği gibi işleri yaptığı belirlenmiştir. Kırsalda kadınların tarımsal üretimin her aşamasında yer aldıkları görülmektedir.

Araştırma alanındaki hayvancılık faaliyetleri çoğunlukla kadınlar tarafından yerine getirilmektedir. Bakılabilecek hayvan sayısı ve çeşidinin belirlenmesi, satılacak hayvanların hangileri olduğunun kararının verilmesi genellikle kadınlara aittir. Hayvanların sağılması, bakımı, sütün işlenerek ikincil ürünlere dönüştürülmesi çoğunlukla kadınların sorumluluğundadır.

Araştırma kapsamındaki kadınlara tarım kredi kooperatifi, tarımsal kalkınma kooperatifi, pancar kooperatifi, ziraat odası, üretici birliği, önder çiftçi derneği gibi kooperatif ve diğer kuruluşlara üye veya ortak olup olmadığı sorulmuş, %79.3'ü üye veya ortak olmadıklarını ifade etmişlerdir. Üye veya ortak olduğunu belirten kadınların % 32.0'ı ziraat odasına üye- ortak olduğunu belirtmiştir.

Kooperatif kurmayı düşünen kadınlara kooperatif kurulduğunda kooperatiften beklentileri sorulduğunda ürününü pazarlamanın, gelir elde etmek ve ihtiyaç sahiplerine yardımcı olmanın çok önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Çok boyutlu ölçkleme analizinin ekonomik boyutu incelendiğinde tarımsal girdi tedariki ve ürünlerin pazarlanması pozitif yönde konumlandırılırken, gelir elde etme isteği negatif bölgede konumlanmıştır. Aslında uygun fiyatlarla girdi tedarik edilmesi ve ürünlerin pazarlanması doğrudan gelirin artırılmasına yönelik beklentilerdir. Ancak deneklerin gelir elde etme isteğini doğrudan doğruya belirtmedikleri görülmektedir. Bu sonuç özellikle kırsal alanda kadınların karara alma süreçlerine katılımı açısından önemli bir bulgudur. Kadınların hala gelir elde etmek konusunda geri planda kaldıkları ve bu konuda aktif hale gelebilmeleri için eğitilmeleri gerekmektedir. Daha önce Özdemir ve ark.(2015) yaptığı bir çalışmada kadınların çiftçiliği meslek olarak kabul etmemeleri de bu sonucu destekler niteliktedir.

Toplumun sosyal, ekonomik ve kültürel açılarından gelişmesi cinsiyet açısından kadın ve erkeklerin eşit imkanlara sahip olmasına bağlıdır. Toplumun oluşturulan bireylerin bütün olanaklardan eşit oranda yararlanması toplumun dengeli kalkınmasında oldukça önemlidir. Toplumun bütün kesiminde, her konuda başarı sağlamanın en önemli koşulu eğitimidir. Kırsal kesimdeki erkeklerin ve kadınların eğitim düzeyleri verilecek eğitimlerle yükseltilmelidir. Böylece eşler arasında iş bölümü ve yardımlaşma da artırılabilir. Kadınların karar verme sürecine daha fazla katılmaları için gerekli girişimler planlanarak hayata geçirilmelidir. Kırsal kadınların bilgi ve becerilerini geliştirmek için çeşitli kurslar düzenlenmeli, aynı faaliyetlerde bulunan kadınların örgütlenmeleri sağlanmalı, sosyal güvenlik hizmetleri sunarak kadınların kendi ayakları üzerinde durmaları ve kendilerini ifade edebilmeleri için ortam oluşturulmalıdır.

Kırsal alanda örgütlenme eğilimini arttırmak için eğitimler yapılarak mevcut olan örgütler geliştirilmelidir. Kırsal alandaki kadınlar için kooperatifler önemli birer araç niteliğini taşımaktadır. Bu nedenle kadınların kooperatif ortağı olmaları sağlanmalıdır. Kooperatiflerde kadın varlığının ve karar verme süreçlerindeki etkisinin artırılması kadınların kültürel, sosyal ve ekonomik ihtiyaçlarının karşılanmasında ve ekonomik faaliyetler kapsamında yer alan mal ve hizmet üretimi ile bunların pazarlanmasına yönelik ihtiyaçların karşılanmasında önemli olacaktır. Bu şekilde kırsalda yaşayan ve tarımsal faaliyet içinde bulunan kadınların kooperatifleşme, örgütlenme ile daha fazla gelir elde etmelerine katkıda bulunarak, yoksulluğun azaltılması ve gelir dağılımının iyileştirmesinde önemli bir adım olacaktır.

Tarımsal üretimin bütün aşamalarında yer alan kırsal kadınların ihtiyaç duydukları tüm konulardaki bilgilerin yerinde sağlanması ve kendilerine hak ettikleri değerin verilmesi gerekmektedir. Kadınlara yönelik gerçekleştirilen bütün projeler ve faaliyetler, yetiştirmiş oldukları çocuklara ve böylece de nesilden nesille aktarılmış olacaktır. Bu

konuda yapılan çalışmalar ne kadar verimli olursa, yeni yetişen nesillerin de o kadar bilinçli olarak yetişeceğini söyleyebiliriz.

Teşekkür

Bu çalışma NKUBAP.00.24.AR.10.07 nolu “Kırsal Kalkınmada Kadının Yeri” isimli Projeden üretilmiştir. NKUBAP ‘a teşekkürü borç biliriz.

Kaynakça/References

- Bayoğlu, A.S. (2010). "Kırsal Alanda Kadının Ekonomik Konularla İlgili Karar Verme Sürecine Katılımı: Polatlı Örneği", *Gazi Üniversitesi Endüstriyel Sanatlar Eğitim Fakültesi Dergisi*, 26: 57-65.
- Bokemeier, J. Garkovich, L., (1987). "Assessing the Influence of Farm Women's Self-Identity on Task Allocation and Decision Making". *Rural Sociology*, 52(1): 13-36.
- Bubolz, M.M. (2001). Family as source, user and builder of social capital. *Journal of socio economics* 30:129-131.
- Demir, S. (2002). "Kırsal kalkınmada kadınlar orman köyü kalkınma kooperatifleri yönetici ve üyelerinin orman ekosistemlerindeki biyolojik çeşitliliği yerinde koruma eğitimi projesi", Ankara.
- Doğanay, F. (1993). "Türkiye'de kadın girişimciliğini özendirme ve destekleme konusunda görüşler ve öneriler" *Kadın Girişimciliğe Özendirmeye Ve Destekleme Paneli (Bildiriler Ve Tartışmalar)*, Sf:84-86. T.C. Başbakanlık Kssgm Eğitim Serisi, Yayın No: 74. Ankara.
- Fazlıoğlu, A. (2001). GAP'ta çok amaçlı toplu merkezleri (GAP-ÇATOM), toplum kalkınması hizmetlerinde sektörlerarası işbirliği içinde, UNICEF ve SHÇEK Ortak Yay., Ankara.
- Fazlıoğlu, A. (2002). Kadının kırsal kalkınmadaki yeri: GAP örneği, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü ve Tarım Ekonomisi Derneği, 5. *Tarım Ekonomisi Kongresi*, Erzurum. www.gap.gov.tr (erişim tarihi, 21/07/2012).
- Fazlıoğlu A., Gülçubuk, B. (2003). Türkiye'de ve GAP bölgesinde kadının statüsü ve toplumsal ilişkiler sistemindeki yeri, 6. *Avrupa Sosyoloji Kongresi İspanya/Murcia* www.gap.gov.tr (erişim tarihi, 30/07/2017).
- Hablemitoğlu, Ş. (2001). Kırsal kesimde kadınların güçlenmesi ve "bilgi" arasındaki ilişki. *Çiftçi Ve Köy Dünyası*, 16 (203): 17-19.
- Kulak, E., (2011). "Tarımsal üretim süreçlerindeki değişimin kırsal alanda kadın istihdamına etkileri: 1980 sonrası gelişmeler". (Başbakanlık Kadının Statüsü Genel Müdürlüğü Uzmanlık Tezi), Ankara.
- Malhotra N.K. (1993). *Marketing research: An applied orientation*, Prentice-Hall
- Malhotra, N.K. (1999). *Marketing Research, Prentice-Hall International*, New Jersey, 864p.
- Merter, F. (1990), *1950-1988 yılları arasında köy ailesinde meydana gelen değişimler: Malatya örneği*. Aile Araştırma Kurumu Yayınları, Ankara.
- Mülayim, EAÜ (1999). *Konya bölgesinde kırsal alanda tarımsal üretimde kadının yeri ve önemi*. (Yüksek Lisans Tezi), Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Mülayim, Z.G., (1992). "Atatürk'ten Bugüne Kooperatifçilik", Yetkin Yayınları, Ankara.
- Oğuz C., (1992). "Konya ili tarım işletmelerinin hayvancılık şubelerinde kadın işgücü kullanma kapasitesinin saptanması üzerine bir araştırma", *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, sayı:4, Konya.
- Oğuz, C., Kan, A., (2010). "Kırsal Alanda Kadın Yoksulluğu:Yaylacık Köyü Örneği". Türkiye IX. Tarım Ekonomisi Kongresi, S:427-435, Urfa.
- Özçatalbaş, O., (2001). "Adana İlinin Sosyo-Ekonomik Özellikleri Farklı İki Köyünde Kadınların Tarımsal Faaliyetlere Katılımı ve Yayımdan Yararlanma Olanakları". Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 14/1, 79-88, Antalya
- Özdemir, G., Unakıtan, G., Keskin, G., Yılmaz, E., Er Ülker, F., (2017). "Tarım İşletmelerinde Kadınların Yarattığı İş Gücü Değeri Ve Örgütlenme Yaklaşımları: Trakya Bölgesi Örneği" *Sosyal Politika Çalışmaları Dergisi* Yıl: 17 Sayı: 39 Tarih: Temmuz-Aralık 2017 Ss: 33-58 İssn: 2148-9424
- Özdemir, G., Unakıtan, G., Keskin, G., Yılmaz, E., Er Ülker, F., (2015). *Tarım işletmelerinde alternatif gelir sağlama olanaklarına kadınların bakış açısı ve örgütlenme durumlarının belirlenmesi Trakya bölgesi araştırması*, DÜNYA BANKASI Destekli Proje.
- Özdemir, G., (2013). Women's Cooperatives in Turkey" (Orijinal Research Article), *Procedia- Social and Behavioral Sciences*, vol. 81, pp. 300-305, 2013.
- Özer, D. Taluğ, C., (2008). "Yeniden yerleşimin hayvancılıkla uğraşan kırsal hanelerde kadının toplumsal cinsiyet rollerine etkisi". *Harran Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12 (2):1-9, Urfa.
- Özgen, Ö. Ufuk, H. (2011). "Kırsal kesimde kadın eğitimi", http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/6121d1f782d29b6_ek.pdf?tipi=14&sube (Erişim: 14.11.2017): 1063-1078.
- Özkan, B., (2000). "Antalya ilinde sera sebzeçiliğinde kadın üreticilerin rolü", *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt: 13 (2): 133-143
- Rosenfeld, R.A., (1986). U.S. "Farm women: their part in farm work and decision making". *Work And Occupations*, 13(2): 179-202.
- Yıldırak, N., Gülçubuk, B., Gün S., Olhan, E., Kılıç, M., (2003), "Türkiye'de gezici ve geçici kadın tarım işçilerinin çalışma ve yaşam koşulları ve sorunları", Tarım-İş, Ankara.
- Yılmaz, H., Gül, A. (2010). "Adana ilinde kooperatifler aracılığıyla uygulanan süt sığırcılığı projelerinin genel bir değerlendirilmesi". *Türkiye IX. Tarım Ekonomisi Kongresi*, sayfa 534-541, Şanlıurfa.
- Yumuşak, İ. G. (2003). "Kadın eğitiminin ekonomik boyutu, II. Ulusal Bilgi, Ekonomi ve Yönetim Kongresi, Derbent.

Agronomic Performance of Seeds of Some Bread Wheat (*Triticum aestivum L.*) Cultivars Exposed to Drought Stress

Kuraklık Stresinde Kalmış Bazı Ekmelik Buğday (*Triticum aestivum L.*) Çeşitlerinin Tohumluklarının Agronomik Performansları

Alpay BALKAN^{1*}

Abstract


This study was carried out to determine agronomic performance of seeds of some bread wheat cultivars exposed to artificial drought stress. Seeds obtained from eight bread wheat cultivars with different response to drought (Konya 2002, Alpu 2001, Sultan 95 and Eser as drought sensitive cultivars; Karahan 99, Tosunbey, Kate A1 as drought resistant cultivars and Golia as moderate drought resistant cultivar) after their treatment, in previous years, by artificial drought stress through using chemical desiccant (4% potassium chlorate-KClO₃) at the post-anthesis stage were used as experimental material. The field experiment was arranged in a split-plot design with 3 replicates during 2009-2010 and 2010-2011 wheat growing seasons. Cultivars were adjusted as main plots and seeds were allotted as subplots. In the experiment, seeds obtained from desiccant applied plants (SDAP) and control (non-desiccant) plants (SCP) were compared for plant height (PH), spike length (SL), number of grain per spike (NGPS), grain weight per spike (GWPS), grain yield (GY) and thousand kernel weight (TKW). It was determined that the drought resistant cultivars had generally higher values for PH, GWPS, GY and TKW than the other cultivars. However, the highest NGPS was obtained from the drought sensitive cultivars. The study has shown that desiccant application has detractive impact on seed size in all cultivars. Therefore, the SCP showed significantly higher performance for all examined traits than the SDAP. Consequently, data showed that artificial drought stress by chemical desiccant application at the post-anthesis stage affected negatively seed quality in bread wheat.

Keywords: Potassium chlorate, drought, seed quality, grain yield, yield components.

Öz

Bu çalışma, yapay kuraklık stresinin etkisinde kalmış bazı ekmelik buğday çeşitlerinin tohumluklarının agronomik performanslarını belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Bir önceki yıl çiçeklenme sonrası dönemde kimyasal desikant (%4 potasyum klorat-KClO₃) kullanılarak oluşturulan yapay kuraklık stresinin etkisinde bırakılmış kurağa yanıtları farklı sekiz ekmelik buğday çeşidinden (Konya 2002, Alpu 2001, Sultan 95 ve Eser kurağa hassas çeşitler; Karahan 99, Tosunbey, Kate A1 kurağa dayanıklı çeşitler ve Golia kurağa orta dayanıklı çeşit) elde edilen tohumluklar deneme materyali olarak kullanılmıştır. Tarla denemesi 2009-2010 ve 2010-2011 buğday yetiştirme dönemlerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak kurulmuştur. Çeşitler ana parsellere, tohumluklar ise alt parsellere yerleştirilmiştir. Denemede, desikant uygulanmış bitkilerden elde edilmiş tohumluklar (DUBT) ile kontrol bitkilerden elde edilmiş tohumluklar (KBT) bitki boyu (BB), başak uzunluğu (BU), başakta tane sayısı (BATS), başakta tane ağırlığı (BATA), tane verimi (TV) ve bin tane ağırlığı (BTA) bakımından karşılaştırılmıştır. Genellikle, BB, BATA, TV ve BTA bakımından kurağa dayanıklı çeşitler hassas çeşitlerden daha yüksek değerlere sahip olmuştur. Bununla birlikte, en yüksek BATS kurağa hassas çeşitlerden elde edilmiştir. Çalışmada, desikant uygulamasının bütün çeşitlerde tane boyutu üzerine olumsuz etki yaptığı görülmüştür. Bu nedenle, incelenen tüm özellikler bakımından KBT, DUBT'dan daha iyi performansı göstermiştir. Sonuç olarak, elde edilen veriler ekmelik buğdayda çiçeklenme sonrası dönemde kimyasal desikant uygulanarak oluşturulan yapay kuraklık stresinin tohumluk kalitesini olumsuz etkilediğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Potasyum klorat, kuraklık, tohumluk kalitesi, tane verimi, verim unsurları.

^{1*}**Corresponding Author:** Alpay Balkan, 1 Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, 59030 Süleymanpaşa/Tekirdağ, Turkey. E-mail: abalkan@nku.edu.tr,  ORCID: 0000-0002-9203-6144

Citation: Balkan, A. Agronomic performance of seeds of some bread wheat (*Triticum aestivum L.*) cultivars exposed to drought stress. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 82-91.

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is a strategic plant and a stable food for more than 35% of the world's population (Khakwani et al., 2011), and it is also one of the most important cereal crops in Turkey. According to FAO's latest forecast, wheat production of the world and Turkey are 749.4 Mt and 20.6 Mt, respectively (Anonymous, 2016). While wheat is the second crop after maize (1.06 Bt) as production amount in the world, it is the first crop in Turkey. Wheat grows as a rain-fed crop in semi-arid and arid regions of Turkey, where large fluctuations occur in the amount and frequency of precipitation from year by year.

In recent years, abiotic stress factors result from global climate change has greatly affected by wheat production in many arid and semi-arid regions of the world. Drought is one of the most common abiotic/environmental stresses that affect growth and development of plants. It is assumed that by the year 2025, around 1.8 billion people will face absolute water shortage and 65% of the world's population will live under water-stressed environments (Nezhadahmadi et al., 2013). The response of plants to water stress depends on several factors such as developmental stage, severity and duration of stress and cultivar genetics (Beltrano and Ronco, 2008). Although all phenological stages of wheat are affected by drought stress, especially the reproductive and grain-filling stages are the most sensitive (Pradhan et al., 2012). Drought during reproductive and grain-filling stages is known as terminal drought (Reynolds et al., 2005). Under terminal drought, the grain-filling rate decreases due to reduced photosynthesis, accelerated leaf senescence, and sink limitations (Farooq et al., 2014). Therefore, terminal drought early grain development curtails potential grain size by reducing the rate and duration of grain filling (Saini and Westgate, 2000). Cseuz (2009) indicated that drought stress during post-anthesis and grain-filling stages may cause grain yield reduction due to seed shriveling as high as 20-50%.

One of the methods that were approved as effective for the selection of cereal varieties resistant to drought is the chemical desiccant application (Dogan et al., 2012). For this purpose, chemical desiccants such as potassium iodide (Sawhney and Singh, 2002), magnesium chlorate (Blum et al., 1983), sodium chlorate (Haley and Quik, 1993) and potassium chlorate (Budaklı et al., 2007) are used. Artificial drought stress induced by applying chemical desiccant at the post-anthesis stage caused the reduction in seed size and weight (Blum et al., 1983; Haley and Quik, 1993; Chandra et al., 2005; Cseuz, 2009; Mohammadi et al., 2009).

Seed size is an important physical indicator of seed quality that affects vegetative growth and it is frequently related to yield, market grade factors and harvest efficiency (Rukavina et al., 2002). Seed size as a characteristic of seed quality, also plays a major role on germination and establishment of vigorous seedlings that is essential to achieving high yield in wheat (Nik et al., 2011). Generally, large seed has better field performance than small seed (Ambika et al., 2014). Farahani et al. (2011) explained that the effect of seed size was significant on germination percentage, seedling dry weight and seedling vigour in bread wheat. The highest germination percentage, seedling dry weight, seedling vigour, and seedling length were achieved came up to large seeds. Kara and Akman (2007) indicated that emergence rate, seedling length, dry weight of above-soil surface organs and root dry weight were higher in large seeds than small and medium seeds, but tillering and root/dry weight ratio of above-soil surface organs were not affected from seed size. Akinci et al. (2008) reported that effect of seed size on plant height, spike length, spikelet number, grains number per spike and grain weight per spike was not significant in durum wheat. They also indicated that increasing seed size increased seedling emergence, thousand kernel weight and grain yield. Taner et al. (2011) stated that thousand kernel weight, test weight and grain yield was higher in larger seeds than small seeds, and plant height was not affected by seed size. Zareian et al. (2012) emphasized that increasing seed size increased seedling emergence percentage, number of spikes per m² and grain yield in three bread wheat cultivars. Kahraman and Avcı (2016) stated that thousand kernel weight, test weight and grain yield were higher in large seeds than small seeds in bread wheat. They also found no interaction between seed size and number of spike per m² and number of grain per spike. Haider et al. (2016) studied on influence of seed priming and seed size on wheat performance under different tillage systems. Researchers found that large seeds had better performance than small seeds in terms of plant height, spike length, number of productive tillers per m², spikelets per spike, grains per spike, thousand kernel weight, biological yield, straw yield and grain yield.

In our previous study, it was examined the characteristics of germination and seedling growth of seeds obtained from plants exposed to artificial drought stress using potassium chlorate in bread wheat cultivars. We found that non-desiccant/large seeds showed higher performances for root number, coleoptiles length, seedling length, seedling fresh weight, seedling dry weight, root fresh weight and root dry weight than desiccated/small seeds (Balkan, 2012). Thus, the aim of this study was to determine grain yield and yield components of seeds of some bread wheat cultivars exposed to artificial drought stress under field conditions, and also to examine effect of artificial drought stress on seed quality in bread wheat.

Materials and Methods

Experimental site and growing conditions:

This study was carried out in the experiment area of Field Crops Department of Agricultural Faculty of Tekirdağ Namik Kemal University, Tekirdağ, Turkey between 2009-2010 and 2010-2011 wheat growing seasons. Tekirdağ district locates at latitude 40° 36'-40° 31' and longitude 26° 43'-28° 08' and asl is 10 m.

According to soil analysis results, experimental area's soil was clay-loam, slightly acidic (pH 6.7), limeless, and poor (1.05%) in the organic matter. In addition, K₂O content of the soil was adequate, but P₂O₅ and nitrogen content was very low.

The climate data during the 2009-2010 and 2010-2011 wheat growing seasons and long-term average were given in Table 1. In the first year of the study, the total precipitation, the average temperature and relative humidity were 525.0 mm, 12.1 °C and 84.0%, respectively. The total precipitation and relative humidity of this year was higher than long-term (Table 1). In the second year of the study, the total precipitation, the average temperature and relative humidity were 459.0 mm, 11.3 °C and 78.0%, respectively. The climatic data of the second year were similar to the long-term (Table 1).

Experimental materials and design:

Eight bread wheat cultivars with different responses to drought (Konya 2002, Alpu 2001, Sultan 95 and Eser as drought sensitive cultivars; Karahan 99, Tosunbey, Kate A1 as drought resistant cultivars and Golia as moderate drought resistant cultivar) were used as experimental material in this study. These cultivars were grown in separate plots of 5 m² in the experimental area of Field Crops Department of Agricultural Faculty of Tekirdağ Namik Kemal University during 2007-2008 and 2008-2009 growing seasons. Fourteen days after the heading of cultivars (Zadoks 69. stage-post-anthesis), artificial drought stress was induced by spraying chemical desiccant (4% potassium chlorate-KClO₃) on 1 m² part of each plot (Budaklı and Çelik, 2005). Thus, the complete drying of the plants was achieved after 48 hours of desiccant application. Desiccant applied parts and non-desiccant (control) parts of each plot were harvested separately when the plants reached maturity. The material of the field experiments in 2009-2010 and 2010-2011 consisted of these seeds. A thousand kernel weights (TKW) of seeds obtained from desiccant applied plants (SDAP) and control (non-desiccant) plants (SCP) in 2009 and 2010 are given at Table 2. As can be seen from Table 2, seeds of control plants (non-desiccant) were larger than seeds of desiccant applied plants in all cultivars.

Table 1. Some climatic parameters during the wheat growing season in 2009-2010 and 2010-2011.

Months	Precipitation (mm)			Average Temperature (°C)			Relative Humidity (%)		
	2009-10	2010-11	Long-term	2009-10	2010-11	Long-term	2009-10	2010-11	Long-term
November	32.2	30.6	81.3	11.9	15.3	11.4	97.6	82.6	81
December	132.8	107.8	86.2	9.2	8.8	7.2	97.4	78.5	82
January	74.6	45.8	69.9	4.8	5.3	4.4	94.2	84.7	82
February	150.2	40.2	54.7	7.9	5.1	5.3	85.5	77.1	80
March	46.6	22.2	55.6	8.5	7.3	6.8	79.2	77.0	79
April	27.6	75.2	42.9	13.2	10.5	11.5	73.7	76.5	76
May	14.4	41.8	37.6	18.7	16.5	16.6	71.9	77.4	75
June	46.6	95.4	37.8	22.7	21.9	28.9	72.9	70.4	71
Total	525.0	459.0	466.0	-	-	-	-	-	-
Average	-	-	-	12.1	11.3	11.5	84.0	78.0	78.2

Source: Tekirdağ Meteorological Station.

The field experiment was carried out in a split-plot design with cultivars as main plots and seeds as subplots, with 3 replicates in 2009-2010 and 2010-2011 years. Experimental plots consisted of six rows, 5 m long and spaced 20 cm apart. The experiments were sowed on 07 November 2009 and 11 November 2010 with a seedling rate of 500 seeds m⁻². At sowing, 5 kg da⁻¹ pure nitrogen (N) and 5 kg da⁻¹ pure phosphor (P₂O₅) were applied as 20.20.0 composed fertilizer. Also, 8 kg da⁻¹ pure N as urea fertilizer (46% N) and 3 kg da⁻¹ pure N as ammonium nitrate fertilizer (26% N) were applied at tillering and stem elongation stages, respectively. Weeds in the plots were controlled with chemical control methods between tillering and stem elongation stages in spring. The plots were harvested with a HEGE-160 combine harvester on the July 2010 and 2011 during the maturity (Zadoks 93. stage).

In the experiment, grain yield (GY-kg da⁻¹), plant height (PH-cm), spike length (SL-cm), number of grains per spike (NGPS-no), grain weight per spike (GWPS-g), harvest index (HI-%), thousand kernel weight (TKW-g) were determined.

Table 2. Mean thousand kernel weights of seeds of each cultivar

Cultivars	TKW (g)			
	2009		2010	
	SCP	SDAP	SCP	SDAP
Kate A1	36.82	20.18	34.70	23.92
Golia	30.56	17.01	29.67	21.97
Konya 2002	38.62	24.18	36.57	24.97
Karahan 99	33.54	21.17	32.96	22.47
Alpu 2001	37.31	23.00	33.07	23.53
Sultan 95	24.59	19.17	24.00	17.23
Tosunbey	35.93	22.38	35.27	27.93
Eser	24.62	19.30	23.10	17.41

Statistical analysis:

All the data obtained from the experiments were subjected to variance analysis (ANOVA) using JMP 5.0.1 statistical software, and mean values were compared using Fisher's Least Significant Difference (LSD) test (Steel & Torrie 1960).

Results and Discussion

ANOVA results indicate significant effect of both cultivars and seeds on PH, SL, NGPS, GWP, GY and TKW in both years (Table 3-6).

Plant height (PH-cm):

PH was significantly affected by cultivar, seed and cultivar x seed interaction in both years (Table 3 and 5). In 2010, PH varied between 57.4 and 110.7 cm for cultivars. The highest PH was measured in Karahan 99 cultivar followed by Konya 2002 cultivar (101.0 cm), and the lowest Golia cultivar (Table 3). PH of SCP (94.9 cm) was significantly more than SDAP (90.1 cm) (Table 3). In cultivar x seed interaction, PH varied from 54.0 to 114.5 cm. SCP of Karahan 99 cultivar had the longest PH followed by SDAP of same cultivar (106.9 cm) (Table 3). The shortest PH was determined in SDAP of Golia cultivar followed by SCP of same cultivar (60.8 cm). Similar results to the first year were obtained in the second year of the experiment (Table 5). Karahan 99 cultivar had the highest mean value of PH (120.4 cm) followed by Konya 2002 cultivar with 114.0 cm. The shortest PH occurred in Golia cultivar (65.0 cm) followed by Eser cultivar with 90.8 cm. There was a significant difference between SCP and SDAP, and their mean values for PH were determined as 104.3 cm and 96.8 cm, respectively (Table 5). Mean PH values were varied between 62.0 cm and 125.2 cm in cultivar x seed interaction (Table 5). The longest PH was measured in SCP of Karahan 99 cultivar followed by SCP of Konya 2002 cultivar with 120.2 cm. SDAP of Golia cultivar had the shortest PH followed by SCP of Golia cultivar with 68.0 cm.

Our results showed that mean values of PH in 2011 were higher than 2010 year. This may result from the higher amount of precipitation in the second year at the stem elongation stage of plants (in April) (Table 1). A significant variation for PH was determined among cultivars. This may be associated with different genetic structure of the cultivars. Golia cultivar already has a genetically short plant height. Results of this study showed that SDAP had significantly lower mean values of PH than SCP. Mean PH values of SDAP was 5.06% and 7.19% lower in the experiment years, in comparison with SCP. This situation can be ascribed to their seed size. This result is also in agreement with the observations of Shahwani et al. (2014) and Haider et al. (2016), who found that large seeds had longer PH than small seeds. However, Taner et al. (2011) stated that PH was not affected by seed size.

Spike length (SL-cm):

The effects of cultivar and seed on SL were statistically significant in both experimental years. Cultivar x seed interaction was not significant in the first year, but significant in the second year (Table 3 and 5). In the first year, mean values of cultivars for SL varied between 8.6 and 11.3 cm (Table 3). Eser cultivar had the highest SL

followed by Sultan 95 cultivar with 10.7 cm. The lowest SL was obtained from Golia cultivar with the shortest PH. Mean values of SL in SCP and SDAP were 10.6 cm and 9.7 cm, respectively (Table 3). In 2011, Karahan 99 cultivar had the highest SL with 11.1 cm, followed by Kate A1 (9.8 cm) and Sultan 95 (9.7 cm) cultivars. Golia cultivar had the lowest SL. In cultivar x seed interaction, mean values of SL varied between 6.9 and 11.8 cm. The highest SL value was obtained from SCP of Karahan 99 cultivar followed by SDAP of same cultivar (10.5 cm). SDAP of Golia cultivar had the lowest SL followed by SCP of same cultivar (7.2 cm) (Table 5).

In this study, mean values of SL in 2010 year were lower than 2011. This may be associated with PH values of years. As stated by Genç (1977), increasing PH value caused decreasing of SL. The effects of cultivars on SL were statistically significant. As similar to plant height values, Golia cultivar had the shortest SL in both years. When SDAP (small size) compared with SCP (large size), it had the 8.49% to 10.20% shorter SL than SCP. Our results were similar to the finding of Sarker and Malaker (2009), Shahwani et al. (2014) and Haider et al. (2016). However, Akinci et al. (2008) reported that effect of seed size on SL was not significant.

Number of grains per spike (NGPS-no):

NGPS was significantly affected by cultivar, seed and their interaction in both experimental years (Table 3 and 5). Among cultivars, NGPS varied between 37.0 and 62.2 in 2010, 36.6 and 50.1 in 2011. In the first year, Alpu 2001 (62.2) and Eser (62.1) cultivars had the highest NGPS, these followed by Sultan 95 cultivar (56.8). The lowest NGPS were obtained from Karahan 99 cultivar followed by Kate A1 cultivar (39.8) (Table 3). Similarly, in the second year, the highest mean values of NGPS were determined in Sultan 95 (50.1), Eser (45.5) and Alpu 2001 (44.4), respectively. Kate A1 (36.6), Karahan 99 (36.7) and Golia (37.6) had the lowest mean values of NGPS (Table 5). Results shown that SDAP had the lower mean value of NGPS than SCP in both years. While mean values of NGPS in SDAP were 46.9 and 44.5, SCP had 46.9 and 38.7 mean value of NGPS (Table 3 and 5). In cultivar x seed interaction, in 2010, SCP of Eser (65.8) and Alpu 2001 (64.5) had the highest NGPS value, SDAP of Karahan 99 (35.3) was the lowest (Table 3). In 2011, the highest mean value of NGPS was recorded for SCP of Sultan 95 (52.4). The lowest NGPS was determined in SDAP of Golia (33.1), Karahan 99 (33.5) and Konya 2002 (35.2) (Table 5).

According to results of the present study, mean values of NGPS in 2010 were higher than 2011. This may be due to the spikes were longer in 2010 and precipitation was higher. Differences among 8 cultivars were significant for NGPS. This result indicated that cultivars used in this study are genetically different for this trait. As an expected result, drought sensitive cultivars, which were improved for irrigated conditions, had the higher NGPS values than the other cultivars. There was also a significant difference between SDAP and SCP for NGPS in both years. Mean values of SCP for NGPS were 12.82% to 13.03% higher than SDAP. This result indicated that large seeds in bread wheat produced more NGPS. This result is also agreement with the results of Shahwani et al. (2014) and Haider et al. (2016), who reported that large seeds had higher NSPS than small seeds. In contrary, Sarker and Malaker (2009) and Zareian et al. (2012) found that NGPS was significantly decreased by increasing of seed size. Besides, Akinci et al. (2008) and Kahraman and Avcı (2016) stated that NGPS in wheat was not significantly affected by seed size.

Grain weight per spike (GWPS-g):

Effects of cultivar, seed and cultivar x seed interaction on GWPS were statistically significant in both years (Table 3 and 5). In the first year, mean value of GWPS in cultivars ranged from 1.52 to 2.26 g. The highest GWPS was determined in Alpu 2001 cultivar closely followed by Tosunbey (2.23 g). GWPS was the lowest in Golia cultivar (Table 3). It was determined that GWPS value of SCP (2.09 g) was higher than SDAP (1.60 g). Mean values of GWPS varied between 1.25 and 2.62 g in cultivar x seed interaction (Table 3). SCP of Alpu 2001 had the highest GWPS, and the lowest in SDAP of Sultan 95. In the second year, mean values of GWPS ranged from 1.11 to 1.50 g among 8 cultivars (Table 5). The highest GWPS obtained in the Tosunbey cultivar followed by Konya 2002 (1.45 g) and Kate A1 (1.42 g) in the same statistical group. GWPS was the lowest in Sultan 95 cultivar. There was a significant difference between SCP and SDAP for GWPS, and their GWPS was determined as 1.45 and 1.13 g, respectively (Table 5). In cultivar x seed interaction, the highest GWPS was recorded for SCP of Tosunbey cultivar (1.72 g) followed by SCP of Kate A1 (1.67 g). SDAP of Sultan 95 cultivar (1.00 g) had the lowest GWPS followed by SDAP of Eser (1.02 g), Alpu 2001 (1.04 g) and Golia (1.07 g) in the same statistical group (Table 5).

The results of this study shown that mean values of GWPS in the first were higher than the second year. The more NGPS was obtained with the effect of high precipitation in the first year. This caused increasing of GWPS. There were significant differences among 8 cultivars in terms of GWPS. Generally, Sultan 95, Eser and Golia cultivars had the lower mean values of GWPS than other cultivars in both years. This may be due to that these cultivars have genetically small seeds. This research also indicated that SDAP with small size had the 23.44% to

22.06% lower GWPS than SCP with large seed. Our results were similar to the findings of Rukavina et al. (2002) in barley, who found that GWPS of large seeds was higher than small seeds. However, Akinci et al. (2008) reported that effect of seed size on GWPS was not significant.

Grain yield (GY-kg da⁻¹):

GY was significantly affected by cultivar, seed and their interaction in 2010 (Table 4). GY ranged from 424.3 to 631.3 kg da⁻¹ among examined cultivars. The highest GY was determined in Kate A1 cultivar followed by Golia (607.6 kg da⁻¹). Sultan 95 cultivar had the lowest GY followed by Eser (426.6 kg da⁻¹) in the same statistical group (Table 4). GY of SCP (569.1 kg da⁻¹) with large seeds was significantly higher than SDAP (497.2 kg da⁻¹) with small seeds. In cultivar x seed interaction, the highest GY was recorded for SCP of Kate A1 (656.0 kg da⁻¹) closely followed by SCP of Golia (640.5 kg da⁻¹) and Tosunbey (638.6 kg da⁻¹). SDAP of Sultan 95 (376.3 kg da⁻¹) had the lowest GY followed by SDAP of Alpu 2001 (390.2 kg da⁻¹) and Eser (395.9 kg da⁻¹) (Table 4). In 2011, the effects of cultivar and seed on GY were statistically significant. However, cultivar x seed interaction was not significant for GY (Table 6). Mean values of cultivars for GY ranged from 330.5 to 629.5 kg da⁻¹ (Table 6). Golia cultivar had the highest GY followed by Tosunbey (510.6 kg da⁻¹) and Kate A1 (508.1 kg da⁻¹). The lowest GY was determined in Karahan 99 cultivar followed by Eser (359.7 kg da⁻¹) and Alpu 2001 (361.7 kg da⁻¹). GY of SCP (476.3 kg da⁻¹) was significantly higher than SDAP (398.2 kg da⁻¹) with small seed (Table 6).

In the present study, as an expected result, mean values of GY in 2010 were higher than 2011. The high precipitation in the first year may have caused this. In both years, Sultan 95, Eser and Alpu 2001 cultivars had the lowest mean values for GY. This result shown that these cultivars were more affected by chemical desiccation than the other cultivars. This research also indicated that SDAP with small size had 12.63% to 16.40% lower GY than SCP with large seed. Similar findings were recorded by Akinci et al. (2008), Sarker and Malaker (2009), Taner et al. (2011), Zareian et al. (2012), Shahwani et al. (2014), Haider et al. (2016), Kahraman and Avcı (2016), who reported that large seeds had higher GY than small seeds in wheat.

Thousand kernel weight (TKW-g):

The cultivar and seed had significant effect on TKW, but effect of their interaction was not significant in 2010 (Table 4). Among cultivars, Konya 2002 had the highest TKW (38.1 g) in 2010 followed by Tosunbey (37.7 g) in the same statistical group. The lowest TKW value occurred in Eser (30.2 g) followed by Sultan 95 (31.0 g) in the same statistical group (Table 4). Mean value of SCP (36.8 g) for TKW was higher than SDAP (32.6 g). In 2011, TKW was significantly affected by cultivar, seed and their interaction (Table 6). Tosunbey cultivar (31.5 g) had the highest TKW followed by Konya 2002 (30.9 g), Kate A1 (30.6 g) and Alpu 2001 (30.4 g). The lowest TKW value was obtained from Eser cultivar (24.8 g) followed by Sultan 95 with 25.1 g in the same statistical group. In cultivar x seed interaction, mean values of TKW varied between 22.6 and 32.9 g (Table 6). The highest TKW value was determined in SCP of Kate A1 cultivar followed by SCP of Tosunbey and Alpu 2001 cultivars with 32.6 g in the same statistical group. SDAP of Eser cultivar had the lowest TKW followed by SDAP of Sultan 95 cultivar with 24.3 g (Table 6).

Our results showed that mean values of TKW in 2010 year were more than 2011. This may be associated with precipitation amount of year. The precipitation amount in 2010 was higher than 2011. Differences among 8 cultivars for TKW were statistically significant. This result indicated that cultivars had genetically different seed size. SDAP had 11.41% to 10.20% lower TKW than SCP. This result may be associated with the reduction in seed size due to chemical desiccant application. Sarker and Malaker (2009), Taner et al. (2011), Şahin et al. (2013), Aydoğan et al. (2014), Shahwani et al. (2014), Haider et al. (2016) and Kahraman and Avcı (2016) found similar results in that large seeds have higher TKW in comparison with small seeds.

Table 3. Mean values and significance groups for plant height (PH), spike length (SL), number of grains per spike (NGPS) and grain weight per spike (GWP) in 2010.

Cultivars	PH (cm)			SL (cm)			NGPS (no)			GWPS (g)		
	Seeds		Mean	Seeds		Mean	Seeds		Mean	Seeds		Mean
	SCP	SDAP		SCP	SDAP		SCP	SDAP		SCP	SDAP	
Kate A1	100.9 d	98.0 ef	99.5 c	10.2	9.3	9.7 d	42.1 g	37.5 h	39.8 f	1.85 de	1.65 f	1.75 c
Golia	60.8 l	54.0 m	57.4 g	8.9	8.4	8.6 e	53.9 d	42.1 g	48.0 d	1.65 f	1.39 g	1.52 d
Konya 2002	103.7 c	98.4 e	101.0 b	10.5	9.5	10.0 bcd	50.7 e	41.7 g	46.2 e	2.12 bc	1.76 e	1.94 b
Karahan 99	114.5 a	106.9 b	110.7 a	10.9	9.7	10.3 bcd	38.8 h	35.3 i	37.0 g	1.86 de	1.42 g	1.64 cd

(Continuation of the Table 3)

Alpu 2001	89.5 j	84.5 k	87.0 f	10.9	10.1	10.5 bc	64.5 a	59.9 b	62.2 a	2.62 a	1.90 d	2.26 a
Sultan 95	96.6 fg	93.2 hi	94.9 de	11.2	10.3	10.7 ab	59.8 bc	53.7 d	56.8 b	2.02 c	1.25 h	1.64 cd
Tosunbey	97.7 ef	93.8 h	95.7 d	10.3	9.2	9.8 cd	54.6 d	46.6 f	50.6 c	2.41 b	2.05 c	2.23 a
Eser	95.9 g	92.0 i	94.0 e	11.7	10.9	11.3 a	65.8 a	58.4 c	62.1 a	2.17 b	1.34 gh	1.76 c
Mean	94.9 a	90.1 b	92.5	10.6 a	9.7 b	10.1	53.8 a	46.9 b	50.3	2.09 a	1.60 b	1.84
LSD (P≤0.05)	C ^{**} : 1.351, S ^{**} : 0.563, CxS ^{**} : 1.592			C ^{**} : 0.736, S ^{**} : 0.260, CxS ^{ns} : -			C ^{**} : 1.415, S ^{**} : 0.512, CxS ^{**} : 1.448			C ^{**} : 0.144, S ^{**} : 0.040, CxS ^{**} : 0.109		

** : Significant at 1%, ns: Non-significant

Table 4. Mean values and significance groups for grain yield (GY) and thousand kernel weight (TKW) in 2010.

Cultivars	GY (kg da ⁻¹)			TKW (g)		
	Seeds			Seeds		
	SCP	SDAP	Mean	SCP	SDAP	Mean
Kate A1	656.0 a	606.6 c	631.3 a	35.6	33.7	34.7 bc
Golia	640.5 b	574.6 e	607.6 b	33.5	31.2	32.4 cd
Konya 2002	583.4de	498.5 g	540.9 d	40.0	36.2	38.1 a
Karahan 99	617.6 c	547.9 f	582.8 c	39.3	35.4	37.4 ab
Alpu 2001	487.6 f	390.2 j	438.9 e	38.8	33.7	36.3 ab
Sultan 95	472.3 h	376.3 k	424.3 f	33.9	28.1	31.0 d
Tosunbey	638.6 b	587.3 d	613.0 b	39.8	35.5	37.7 a
Eser	457.3 i	395.9 j	426.6 f	33.2	27.2	30.2 d
Mean	569.1 a	497.2 b	533.1	36.8 a	32.6 b	34.7
LSD (P≤0.05)	C ^{**} : 8.634, S ^{**} : 4.243, CxS ^{**} : 11.999			C ^{**} : 2.808, S ^{**} : 0.792, CxS ^{ns} : -		

** and * : Significant at 1% and 5%, ns: Non-significant

Table 5. Mean values and significance groups for plant height (PH), spike length (SL), number of grains per spike (NGPS) and grain weight per spike (GWP) in 2011.

Cultivars	PH (cm)			SL (cm)			NGPS (no)			GWPS (g)		
	Seeds			Seeds			Seeds			Seeds		
	SCP	SDAP	Mean	SCP	SDAP	Mean	SCP	SDAP	Mean	SCP	SDAP	Mean
Kate A1	115.6 c	109.9 d	112.7 c	10.3 b	9.3 de	9.8 b	37.7 gh	35.4 hi	36.6 e	1.67 ab	1.17 f	1.42 a
Golia	68.0 l	62.0 m	65.0 h	7.2 h	6.9 h	7.0 d	42.0 ef	33.1 i	37.6 de	1.28 e	1.07 g	1.18 cd
Konya 2002	120.2 b	107.7 e	114.0 b	9.4 d	8.4 g	8.9 c	43.5 de	35.2 i	39.3 d	1.61 b	1.29 e	1.45 a
Karahan 99	125.2 a	115.7 c	120.4 a	11.8 a	10.5 b	11.1 a	39.9 fg	33.5 i	36.7 e	1.37 d	1.20 f	1.29 b
Alpu 2001	95.7 h	91.7 j	93.7 f	9.9 c	8.9 f	9.4 bc	48.3 b	40.5 f	44.4 bc	1.50 c	1.04 g	1.27 bc
Sultan 95	105.6 f	99.7 g	102.6 e	10.3 b	9.1 ef	9.7 b	52.4 a	47.8 b	50.1 a	1.22 ef	1.00 g	1.11 d
Tosunbey	110.5 d	100.1 g	105.3 d	9.4 d	8.8 f	9.1 bc	45.1 cd	40.5 f	42.8 c	1.72 a	1.28 e	1.50 a
Eser	93.5 i	88.1 k	90.8 g	9.8 c	8.8 f	9.4 bc	47.3 bc	43.7 de	45.5 b	1.23 ef	1.02 g	1.13 d
Mean	104.3 a	96.8 b	100.6	9.8 a	8.8 b	9.3	44.5 a	38.7 b	41.6	1.45 a	1.13 b	1.29
LSD (P≤0.05)	C ^{**} : 1.039, S ^{**} : 0.423, CxS ^{**} : 1.195			C ^{**} : 0.715, S ^{**} : 0.107, CxS ^{**} : 0.304			C ^{**} : 2.560, S ^{**} : 0.871, CxS ^{**} : 2.464			C ^{**} : 0.094, S ^{**} : 0.024, CxS ^{**} : 0.077		

** : Significant at 1%, ns: Non-significant

Table 6. Mean values and significance groups for grain yield (GY) and thousand kernel weight (TKW) in 2011.

Cultivars	GY (kg da ⁻¹)			TKW (g)		
	Seeds			Seeds		
	SCP	SDAP	Mean	SCP	SDAP	Mean
Kate A1	555.9	460.3	508.1 b	32.9 a	28.4 d	30.6 a
Golia	699.7	559.4	629.5 a	30.0 c	26.7 ef	28.3 b

(Continuation of the Table 6)

Konya 2002	451.9	385.0	418.4 c	31.8 ab	30.1 c	30.9 a
Karahan 99	353.1	307.8	330.5 e	30.0 c	27.8 de	28.9 b
Alpu 2001	400.6	322.8	361.7 de	32.6 a	28.1 de	30.4 a
Sultan 95	400.9	357.8	379.4 d	26.0 f	24.3 g	25.1 c
Tosunbey	560.6	460.6	510.6 b	32.6 a	30.4 bc	31.5 a
Eser	387.8	331.6	359.7 de	27.0 def	22.6 h	24.8 c
Mean	476.3 a	398.2 b	437.2	30.4 a	27.3 b	28.9
LSD ($P \leq 0.05$)	C ^{**} :32.364, S ^{**} : 15.534 CxS ^{ns} : - C ^{**} : 1.226, S ^{**} : 0.530, CxS [*] : 1.499					

** and *: Significant at 1% and 5%, ^{ns}: Non-significant

Conclusion

As a result, it was determined that artificial drought stress by chemical desiccant application affected negatively seed quality due to its detractive effect on seed size in bread wheat. Generally, this effect in drought sensitive cultivars was more than resistance cultivars. Consequently, it can be said that it is necessary to use large seeds, which obtained from grown plants in areas without drought stress, to reach high grain yield in bread wheat.

References

- Akinci, C., M. Yildirim and B. Bahar. 2008. The effects of seed size on emergence and yield of durum wheat. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 6 (2): 234-237.
- Ambika, S., V. Manonmani and G. Somasundaram. 2014. Review on effect of seed size on seedling vigour and seed yield. *Res. J. Seed Sci.*, 7(2): 31-38.
- Anonymous, 2016. FAO Statistical Databases. www.fao.org/site/567/default.aspx. (accessed date: 13.11.2018).
- Aydoğan, S., M. Şahin, A.G. Akçacık, E. Yakışır. 2014. Farklı tane iriliğinin ekmeklik buğday kalitesine etkisi. *Selçuk Tar. Bil. Der.*, 1(1): 27-33.
- Balkan, A. 2012. Effect of artificial drought stress on seed quality of bread wheat. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 2(2): 403-412.
- Beltrano, J. and M.G. Ronco. 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: effect on growth and cell membrane stability. *Braz. J. Plant Physiol.*, 20(1): 29-37.
- Blum, A., H. Poiarkova, G. Golan and J. Mayer. 1983. Chemical desiccation of wheat plants as a simulator of post-anthesis stress. I. Effects of translocation and kernel growth. *Field Crops Research*, 6: 51-58.
- Budaklı, E., N. Celik, M. Turk, G. Bayram and B. Tas. 2007. Effects of post-anthesis drought stress on the stem-reserve mobilization supporting grain filling of two-rowed barley cultivars at different levels of nitrogen. *Journal of Biological Sciences*, 7: 949-953.
- Chandra, S., D.P. Singh, R.K. Pannu, R. Singh. 2005. Response of wheat (*Triticum aestivum*) genotypes to post-anthesis moisture stress by chemical desiccation. *Indian Journal of Agronomy*, 50 (4): 296-299.
- Cseuz, L. 2009. Possibilities and limits of breeding wheat (*Triticum aestivum* L.) for drought tolerance. PhD Thesis, PhD School of Plant Sciences. Gödöllő.
- Dogan, R., O. Kacar, E.B. Carpicı and E. Goksu. 2012. Effects of drought stress post-anthesis stage on mobilization of stem-reserves supporting grain filling of some triticale cultivar and lines. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 18 (3): 325-329.
- Farahani, H.A., P. Moaveni and K. Maroufi. 2011. Effect of seed size on seedling production in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Adv. Environ. Biol.*, 5(7): 278-282.
- Farooq, M., M. Hussain and K.H.M. Siddique. 2014. Drought Stress in wheat during flowering and grain-filling periods. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 33(4): 331-349.
- Genç, İ., 1977. Tahıllarda tane veriminin fizyolojik ve morfolojik esasları. Ç.Ü. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Yetiştirme ve Islahı Bölümü Yayını, Adana.
- Haider, M.U., M. Hussain, M.B. Khan, M. Ijaz, A. Sattar, M. Akram and W. Hassan. 2016. Influence of seed priming and seed size on wheat performance under different tillage systems. *Int. J. Agric. Biol.*, 18: 858-864.
- Haley, S.D., J.S. Quick. 1993. Early generation selection for chemical desiccation tolerance in winter wheat. *Crop Sci.*, 33 (6): 1217-1233.
- Kahraman, T. ve R. Avcı. 2016. Bazı ekmeklik buğday çeşitlerinde farklı tohum iriliklerinin tane verimi, verim ögeleri ile kalite üzerine etkisi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2016, 25 (Özel sayı-1):110-116.
- Kara, B. ve Z. Akman. 2007. Farklı tane iriliği ve ekim derinliklerinin buğday (*Triticum aestivum* L.)'ın kök ve toprak üstü organlarının ilk gelişmesine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(2): 193-202.
- Khakwani, A.A., M.D. Dennett and M. Munir. 2011. Drought tolerance screening of wheat varieties by inducing water stress conditions. *Songklanakarın J. Sci. Technol.*, 33(2): 135-142.
- Mohammadi, M., R.A. Karimizadeh, M.R. Naghavi. 2009. Selection of bread wheat genotypes against heat and drought tolerance based on chlorophyll content and stem reserves. *J. Agric. Soc. Sci.*, 5 (5): 119-122.
- Nik, M.M., M. Babaeian and A. Tavassoli. 2011. Effect of seed size and genotype on germination characteristic and seed nutrient content of wheat. *Sci. Res. Essays* 6 (9): 2019-2025.
- Pradhan, G.P., P.V. Prasad, A.K. Fritz, M.B. Kirkham and B.S. Gill. 2012. Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat. *Functional Plant Biology*, 39: 190-198.
- Reynolds, M.P., A. Mujeeb-Kazi and M. Sawkins. 2005. Prospects for utilizing plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought and salinity-prone environments. *Ann. Appl. Biol.*, 146: 239-259.
- Rukavina, H., I. Kolak, H. Sarcevic and Z. Satovic. 2002. Seed size, yield and harvest characteristics of three Croatia spring malting barleys. *Bodenkultur*, 53(1): 9-12.
- Saini, H.S. and M.E. Westgate. 2000. Reproductive development in grain crops during drought. *Adv. Agron.*, 68: 59-96.
- Sarker, M.A.Z. and P.K. Malaker. 2009. Effect of management and seed rate on the performance of wheat varieties with varying seed sizes. *Bangladesh J. Agril. Res.*, 34(3): 481-492.
- Sawhney, V., D.P. Singh. 2002. Effects of chemical desiccation at the post-anthesis stage on some physiological and biochemical changes in the flag leaf of contrasting wheat genotypes. *Field Crops Research*, 77: 1-6.
- Shahwani, A.R., S.U. Baloch, S.K. Baloch, B. Mengal, W. Bashir, H.N. Baloch, R.A. Baloch, A.H. Sial, S.A.I. Sabel, K. Razzaq, A.A. Shahwani and A. Mengal. 2014. Influence of seed size on germinability and grain yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Journal of Natural Sciences Research*, 4(23): 147-155.

- Şahin, M., A.G. Akçacık, S. Aydoğan ve E. Özer. 2013. Ekmeklik buğday tane boyutunun kalite özellikleri üzerine etkisi. *Anadolu, J. of AARI*, 23(2): 1-8.
- Taner, S., S. Çeri, Y. Kaya, F. Partigöç, R. Ayrancı, E. Özer ve S. Aydoğan. 2011. Buğdayda tohum iriliğinin tane verimi bitki boyu ve bazı kalite unsurlarına etkisi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 20 (2): 10-16.
- Zareian, A., L. Yari, F. Hasani and G.H. Ranjbar. 2012. Field performance of three wheat (*Triticum aestivum L.*) cultivars in various seed sizes. *World Appl. Sci. J.*, 16 (2): 202-206.

Ganos Dağları Doğal Florasında Bulunan Kültür Asmalarının (*Vitis vinifera L.*) Moleküler ve Ampelografik Karakterizasyonu

Molecular and Ampelographic Characterization of Grapevine (*Vitis vinifera L.*) Genetic Materials Collected in Natural Flora of Ganos Mountains

Elman BAHAR¹, İlknur KORKUTAL¹, Nihan ŞAHİN¹, Fatma Seren SAĞIR¹, Demir KÖK¹,
Onur ERGÖNÜL², Tamer UYSAL², Zeliha Orhan ÖZALP²

Öz


Bu çalışma, Trakya Bölgesi Ganos (Işıklar) Dağları doğal florasına adapte olmuş ve varlığını sürdüren *Vitis vinifera L.* asma formlarına ait popülasyonların moleküler ve morfolojik karakterizasyonlarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. DNA izolasyonları için kullanılan materyaller 2014 ve 2016 yılları Mayıs, Haziran, Temmuz aylarında dağların kuzey ve güney yamaçlarından 7 farklı alandan toplanmıştır. 2014 yılında yapılmış olan sörvey çalışmalarında belirlenen 103 örnekten, salkım gösteren 34 tanesinden 2016 yılında materyal alınmış ve moleküler karakterizasyonları yapılmıştır. Genotiplerin ampelografik ve moleküler özellikler açısından genel olarak birbirlerinden farklı olduğu ve 5 ayrı küme oluşturduğu belirlenmiştir. 34 genotipin moleküler karakterizasyonunda iki temel bileşene göre yapılan kümeleme analizinde ise 3 ayrı küme oluşmuştur. Sonuç olarak bölgedeki asma biyoçeşitliliğinin moleküler karakterizasyonunun tanımlanması ileride yapılacak ilah çalışmalarını ve moleküler çalışmalarda genotiplerin belirlenmesi için bir referans niteliğindedir. Bu çalışmanın sonucunda elde edilmiş bulgular ile bölgesel kültür asma çeşitlerinin geliştirilmesi adına pratikte yararlı olacaktır. Öte yandan ileride SSR belirteçleri ile yapılacak diğer çalışmalar ile de karşılaştırılabilecektir.


Anahtar Kelimeler: *Vitis vinifera L.*, SSR, Moleküler Karakterizasyon, Biyoçeşitlilik, Ganos Dağları, Trakya.


Abstract

This study was carried out to determine the molecular and morphological characterization of the populations of *Vitis vinifera L.* grapevine forms which have been adapted to the natural flora of the Trakya Region in Ganos (Işıklar) Mountains. Materials were collected from 7 different areas on the northern and southern slopes of the mountains between 2014 and 2016 (May, June and July) used for DNA isolation. In 2014 year, 103 samples were taken from surveys. Molecular characterization was carried out in 2016 year on 34 samples were used which have grape clusters. It has been determined that genotypes are different from each other in terms of ampelographic and molecular properties and basis 5 different clusters. In the molecular characterization of 34 genotypes, it performed on the two basic components, there were 3 different clusters formed in terms of clustering analysis. As a result, grapevine biodiversity with molecular characterization in the region is defined. This will be a reference for the further grapevine breeding studies, and also the identification of genotypes. It will be opportunity to practical use in the future for growing regional cultivars. On the other hand these findings will be used as a reference to comparison with SSR marker studies about grape varieties.


Keywords: *Vitis vinifera L.*, SSR, Molecular characterization, Bio-diversity, Ganos Mountains, Trakya.


¹*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: İlknur Korkutal, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü-Tekirdağ. E-mail: ikorkutal@nku.edu.tr  OrcID: 0000-0002-8016-9804

²Elman Bahar, E-mail: ebahar@nku.edu.tr  OrcID: 0000-0002-8842-7695


³Nihan Şahin, E-mail: nihansahin@nku.edu.tr  OrcID: 0000-0002-3204-9082

⁴Fatma Seren Sağır, E-mail: fssagir@nku.edu.tr  OrcID: 0000-0003-2993-2701

⁵Demir Kök, E-mail: dkok@nku.edu.tr  OrcID: 0000-0001-5879-8535

⁶Onur Ergönül, E-mail: onur.ergonul@tarim.gov.tr  OrcID: 0000-0002-2251-426X

⁷Tamer Uysal, E-mail: tamer.uysal@tarim.gov.tr

⁸Zeliha Orhan Özalp, E-mail: zeliha.orhanozalp@tarim.gov.tr  OrcID: 0000-0002-3146-6888

Atıf/Citation: Bahar, E., Korkutal, İ., Şahin, N., Sağır, F.S., Kök, D., Ergönül, O., Uysal, T., Özalp, Z.O. Ganos Dağları doğal florasında bulunan kültür asmalarının (*Vitis vinifera L.*) moleküler ve ampelografik karakterizasyonu. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 92-102.

Extended Summary

Previous research the morphological description of the grapevine genetic biodiversity in the Ganos Mountains (Northwest of Turkey – Trakya Region) was made; however, it has not been identified by the molecular markers. This study was carried out to determine the molecular and morphological characterization of the populations of *Vitis vinifera* L. grapevine forms which have been adapted to the natural flora of the Trakya Region in Ganos (Işıklar) Mountains, Turkey.

Materials were collected from 7 different areas on the northern and southern slopes of the Ganos Mountains between 2014 and 2016 (May, June and July) used for DNA isolation. DNA isolation procedures Doyle and Doyle (1987) CTAB protocol was modified. UV gel imaging system and gel images were taken with GelAnalyzer 2010a, afterwards, the score tables were created by using these sizes. 24 genotypes collected from the region (A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9, A10, A11, A12, A13, A14, A15, A16, A17, A18, A19, A20, A21, A22, A23, A24) and some leaf and shoot characteristics were examined according to the OIV 2009 criteria (OIV.68, OIV.601, OIV.602, OIV.603, OIV.604, OIV.066-5, OIV.605, OIV.606, OIV.070, OIV.076, OIV.612, OIV.614, OIV.613, OIV.615, OIV.81, OIV.083-1, OIV.083-2, OIV.84). In 2014 year, 103 samples were taken from surveys. Molecular characterization was carried out in 2016 year on 34 samples were used which have grape clusters.

It has been determined that genotypes are different from each other in terms of ampelographic and molecular properties and basis 5 different clusters. In the molecular characterization of 34 genotypes, it performed on the two basic components, there were 3 different clusters formed in terms of clustering analysis. As a result, grapevine biodiversity with molecular characterization in the region is defined.

This will be a reference for the further grapevine breeding studies, and also the identification of genotypes. It will be opportunity to practical use in the future for growing regional cultivars. On the other hand these findings will be used as a reference to comparison with SSR marker studies about grape varieties

Kültür asmasının (*Vitis vinifera* L.) anavatanı Anadolu-Kafkasya olup, MÖ 3500'lü yılların öncesine dayanan köklü bir tarihsel geçmişe sahip olup dünyada yetiştirilen birçok üzüm çeşidinin kökeni bu bölgeye dayanmaktadır (Winkler 1962). Trakya bölgesi ve dolayısıyla Ganos Dağları da MÖ 2000 yıllarına kadar uzanan bağcılık kültürüne sahiptir ve doğal melezlerin yayılma alanıdır (Çelik 2011).

Asmaların tanımlanması ile ilgili çalışmalar 19. yüzyılda ampelografik yönteme dayanırken günümüzde bu yöntemlerin yanında DNA belirteçleri kullanılmaya başlanmıştır.

Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü, ülkemiz genelinden yaklaşık 1 436 çeşit toplayarak asma genetik potansiyelinin tanımlanması ve korunması amacı ile Milli Koleksiyon Bağı oluşturmuştur. Ampelografik çalışmaların tamamlandığı bu koleksiyonda farklı veya benzer morfolojik özelliklere sahip ancak aynı isimle adlandırılan çeşit grupları (homonim ve sinonim) ile karşılaşmaktadır (Yıldırım 2010).

Asmada ilk DNA testleri CSIRO' da 1990'lı yıllarda, DNA parmak izi tanımlama ile yapılmıştır. Bu teknoloji günümüzde daha geliştirilmiş ve alınan herhangi bir asma dokusundan kısa sürede tanımlama yapılabilmektedir. OIV tarafından Descriptor List for Grape Varieties and Vitis Species listesinin ikinci sürümünde ampelografik niteliklerin yanı sıra izoenzim karakteristikleri ve fitopatolojik özellikler de eklenmiştir (Tassie 2010). Asmada kullanılan moleküler belirteçlerin en önemlileri SSR belirteçlerdir (Yıldırım 2010). Çeşit tanımlama amaçlı uygulamalar, cins, tür ve çeşitler arasında farklılık (polimorfizm) gösterecek belirteçlerden yararlanılarak, gen kaynaklarının tanımlanabilmesini ve sınıflandırılabilmesini gerçekleştirmektedir (Ağaoğlu ve Ergül 1999).

İlk asma mikrosatellit (SSR) çalışmaları Avusturya'da Thomas ve Scott (1993) tarafından yapılmıştır. Thomas ve ark. (1994) tarafından yürütülen diğer bir çalışmada ise; 5A Teleki ve Kober 5BB anaçlarının SSR analizleri gerçekleştirilmiş, kullanılan belirteçler ile ayırım sağlanamamıştır. Yine Avusturya'da 18 sofralık üzüm çeşidi 11 SSR belirteci ile tanımlanmış, böylelikle genetik belirteçlerin ticari üzüm çeşitlerinde isim doğruluğu tespitinde kullanılabilirliği kanıtlanmıştır (Sefc ve ark. 2009).

Regner ve ark. (2001), *Vitis* türlerine ait 1 200 kadar örneğin genetik tanımlamasını SSR, ISSR, AFLP ve RAPD gibi tekniklerle yapmışlardır. Fossati ve ark. (2001), İtalya Schiave grubuna ait 10 üzüm çeşidinde hem AFLP hem de SSR markörlerle çalışmışlardır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada 17 yerli asma kültür çeşidinin genetik tanımlaması RAPD markörleri aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 22 primer kullanılmış, 179 bant amplifiye edilmiş bunlardan 110 tanesinin polimorfik olduğu saptanmıştır (Ergül ve ark. 2002).

Anadolu'da asmanın orijini olduğuna destek olan bir çalışmada (Arroyo-Garcia ve ark. 2006), üzümün iki orjininden birinin Anadolu, diğerinin ise İspanya olduğu tespit edilmiştir. Vouillamoz ve ark. (2006), Türkiye, Gürcistan ve Ermenistan'dan toplanan örneklerde 6 SSR belirteci ile genetik analizler yapmışlar; Türkiye'deki çeşitler ile dünya çapında tanınmış diğer çeşitler arasında sinonim ilişkisini araştırmış buna göre, İridaneli ile Italia, Parmak ile Jerusalem Bleu çeşitlerinin sinonim olabileceğini belirtmişlerdir.

Tangolar ve ark. (2009) çalışmada on dört SSR belirteci kullanmışlardır. Adana ve çevresindeki 59 asma kültür çeşidinde toplam 117 allel tanımlamışlardır. Ortalama allel sayısı 8,357 ve beklenen ve gözlenen heterozigoti oranı; sırasıyla 0,743 ve 0,749 olarak belirlenmiştir. Hızarcı ve ark. (2012) Kuzeydoğu Anadolu'daki Yusufeli bölgesinde bulunan 27 asma kültür çeşidinde yaptıkları çalışmada 6 farklı SSR belirteci kullanarak genetik karakterizasyonu ve 2 kültür çeşidi (Cabernet-Sauvignon ve Merlot) ile parmak izi belirleme çalışması yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda toplam 52 allel belirlenmiştir ve her lokus başına ortalama allel sayısı 8,670 olarak bulunmuştur.

Ülkemize ait bazı üzüm çeşitlerinin RAPD markörler kullanarak tanımlamaları Ergül ve ark. (2002) tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar 17 üzüm çeşidini kullandıkları kümeleme analizi sonucunda iki ana grup belirlemişlerdir. Genetik farklılık ve bölgesel ayırım yaparak 4 grup oluştuğunu; ilk grupta Hafızali, Razakı, Müşküle ve Kadın Parmağı üzüm çeşitlerinin yer aldığını, bu grubun Ege ve Marmara Bölgelerinden geldiğini, Hafızali ile Razakı'nın yüksek benzerlik gösterdiğini saptamışlardır. İkinci gruptaki Hasandede ve Emir çeşitlerinin de benzer olduklarını, ayrıca Kozak beyazı ve Kozak Siyahı'nın da akraba olduğu tespit etmişlerdir. Öküzgözü üzüm çeşidinin Doğu Anadolu, Papazkarası çeşidinin Trakya'da yer alarak yerel genotip olduklarını ifade etmişlerdir.

Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Milli Koleksiyon Bağı'nda bulunan; Güneydoğu Anadolu orijinli 55 (*Vitis vinifera* L.) üzüm çeşidini SSR markörleri kullanarak tanımlayan Boz ve ark. (2011), yaptıkları araştırmada Cabernet-Sauvignon, Merlot ve Pinot Noir çeşitleri referans olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar SSR yönteminin diğer tanımlama yöntemlerinden daha avantajlı ve 14 SSR markörünün çeşit-klon tanımlamada ve ayrıca akrabalık analizinde daha etkin olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, sinonim ve homonim olan çeşitleri de ortaya koyarak; ülkemizde homonim çeşitlerin sayısının çok olduğunu ifade etmişlerdir.

Karataş ve ark. (2014) Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan yabani ve kültüre alınmış asmaların genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla yürüttükleri bir çalışmada 21 yabani ve 13 kültür asmasının sürgün ucu örneklerinden DNA analizi yapmışlardır. Yabani asmalardan alınan yaprak ve çiçek örneklerinin ampelografik tanımlamaları sonucu *Vitis sylvestris* ile birçok benzer morfolojik özellik gösterdiğini belirlemişlerdir. *Vitis sylvestris*'in kültür asmalarıyla melezlenmesi ile çok geniş alanlara yayıldığı; bunun da çoğunlukla kuşlar nedeniyle olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar nSSR ve cpSSR markörlerinin kültür ve yabani asmalarda genetik farklılıkların ortaya konmasında ve akrabalık seviyelerinin belirlenmesinde kullanışlı olduğunu saptamışlardır.

Ganos Dağları'nda bulunan asma genetik biyoçeşitliliğinin daha önce NKÜ.BAP.00.24.AR.14.18 nolu proje kapsamında 2014 yılında alınan örnekler ile morfolojik tanımlaması yapılmış; ancak moleküler belirteçler ile tanımlanması yapılmamıştır. Bu çalışma, Trakya Bölgesi Ganos (Işıklar) Dağları doğal florasına adapte olmuş ve varlığını sürdüren *Vitis vinifera* L. asma formlarına ait popülasyonların ileride yapılabilecek ıslah çalışmaları için tespiti ve bunlardan elde edilen materyallerin önce morfolojik; sonrasında moleküler belirteçler (SSR) ile genetik karakterizasyonlarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal ve Konum

Ganos Dağı doğal florasında *Vitis vinifera* L.' ya ait birçok asma yetişmektedir. Tekirdağ ili sınırları içinde yer alan Ganos Dağı'nın diğer bir ismi de Işıklar Dağı'dır. Bu dağ Şarköy ilçe sınırları ile ilimize adını veren Tekir Dağları'nın en yüksek (945m) yeridir. Dağ ikinci jeolojik zamanda Kuzey Anadolu dağ kuşağı içinde yer alır. Dağ, adını Ksenofon'un Trak kralı Seuthes'e ait kıyı şehri olduğunu yazdığı ve bugün Gaziköy sınırlarında yer alan antik Ganos yerleşim yerinden almaktadır.

Sörvey Çalışmaları

Sörvey ve örnek toplama çalışmalarında Bitki Genetik Kaynaklarının standart toplama formatları kullanılmıştır. Örnek toplamada üç farklı yol izlenmiştir;

* Arkeolojik çalışmalar sonucu belirlenmiş olan eski uygarlıkların yerleşim alanları [Işıklar Eski Kilise, Sütluce Manastırı, Bilinmeyen Kilise, Heraion Teikhos, Hieron Oros (Kartalkaya), Kaletepe, Güzelköy (Melen) Manastır mevkii, vb.] veya yakınlarında inceleme yapılmış ve bulunan örnekler alınmıştır (Karataş ve ark. 2014).

* Köylerde yaşayanların bilip tespit ettikleri (Hoşköy, Gaziköy, Işıklar, vb.) asmalardan örnek alınmıştır.

* Asma bulunması ihtimali yüksek olan bölge ve dere yataklarından (Çitlenbik deresi, Gübürlük deresi, Polatandere, Mermer deresi, Menekşe deresi, Kavaklar deresi, Karadere, Ayvasıl deresi, Uçmakedere, Çınarlıdere, vb.) aramak suretiyle örnekler toplanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Örnek toplama çalışmaları

Figure 1. Collecting grapevine samples

2014 yılında yapılmış olan sörvey çalışmalarında belirlenen 103 örnekten salkım gösteren 34 tanesinden 2016 yılında materyal alınmış ve 6 SSR belirteci kullanılarak moleküler karakterizasyonları yapılmıştır. Elde edilen 24 genetik materyalde, 18 ampelografik karakter OIV (2009)'e göre incelenmiştir.

Moleküler Karakterizasyon

DNA izolasyon işlemleri Doyle ve Doyle (1987) CTAB protokolü modifiye edilerek yapılmıştır. Ayrıca bazı örneklerdeki kalıntıların temizlenmesi için fenolle yıkama prosedürü uygulanmıştır (Moore ve Dowhan 2002). DNA izolasyonları sonrasında PCR amplifikasyonları için OIV tarafından önerilen VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD8, VrZAG79, VrZAG67 (Bowers ve ark. 1996, Sefc ve ark. 1999) SSR primerleri kullanılmıştır. PCR koşulları Bowers ve ark. (1996) ve Sefc ve ark. (1999)'de bildirildiği gibi ayarlanmıştır. PCR işlemleri sonrasında elektroforez işlemleri %10 µl/ml (v/v) etidyum bromit ile boyanmış %2'lik agaroz jelde 130 Voltta 35 dakika yürütüldükten sonra UV jel görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir. Görüntüsü alınan jel fotoğrafları GelAnaylzer 2010a ile incelenerek DNA bant büyüklükleri belirlenmiş, daha sonra bu büyüklüklerden faydalanılarak skor tabloları oluşturulmuştur.

Morfolojik Karakterizasyon

Bölgeden toplanan 24 genotipte (A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9, A10, A11, A12, A13, A14, A15, A16, A17, A18, A19, A20, A21, A22, A23, A24) bazı yaprak ve sürgün özellikleri incelenmiştir (OIV.68, OIV.601, OIV.602, OIV.603, OIV.604, OIV.066-5, OIV.605, OIV.606, OIV.070, OIV.076, OIV.612, OIV.614, OIV.613, OIV.615, OIV.81, OIV.083-1, OIV.083-2, OIV.84) (OIV 2009).

İstatistik Analiz

Kümeleme analizi Ward metodu (en küçük varyans) ile R istatistik programı (3.3.2 Sincere Pumpkin Patch) kullanılarak yapılmıştır. Temel bileşenler analizi (PCA) yine R istatistik programında FactoMiner kütüphanesi kullanılarak yapılmıştır (Husson ve ark. 2010). Aynı analizler SPSS-PASW Statistics 18 paket programı ile tekrarlanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Çalışmada kullanılan altı belirteç toplam 17 farklı allel üretmiştir. Altı belirteç için yapılan temel bileşenler analizinde iki önemli bileşenin ortaya çıktığı ve bu iki temel bileşenin genotipler arasındaki toplam varyasyonun %38,796'sını içerdiği görülmüştür (Çizelge 1). Birinci temel bileşen için en yüksek etkinliğin VVMD6 belirtecinin 1. ve 3. allelinde, VVMD7 belirtecinin 1. ve 3. allelinde ve VVMD8 belirtecinin 2 ve 3. allellerinde olduğu görülmüştür. İkinci temel bileşen için en yüksek etkinlikler ise VVMD5 ve VVMD7 belirteçlerinin tüm allellerinde olmuştur.

Şekil 2'de incelenen 34 genotipin üç ana kümede toplandığı görülmektedir. Oluşan ilk kümede A3, A4, A5, A9, A12, A22, A23 ve A28 genotipleri yer almaktadır, ikinci kümede ise A2, A6, A7, A10, A13, A14, A16, A18, A19, A20, A21, A24, A26, A27, A29, A30, A31, A32 ve A34 olmak üzere 19 genotip yer almıştır. Diğer iki kümeden tamamen bağımsız olan, üçüncü ve son kümede ise A1, A8, A11, A15, A17, A25 ve A33 genotipleri yer almıştır. Faktör ve kümeleme haritalarında benzer şekilde, kümeleme analizinde de genotipler aynı gruplar içerisinde yer almıştır.

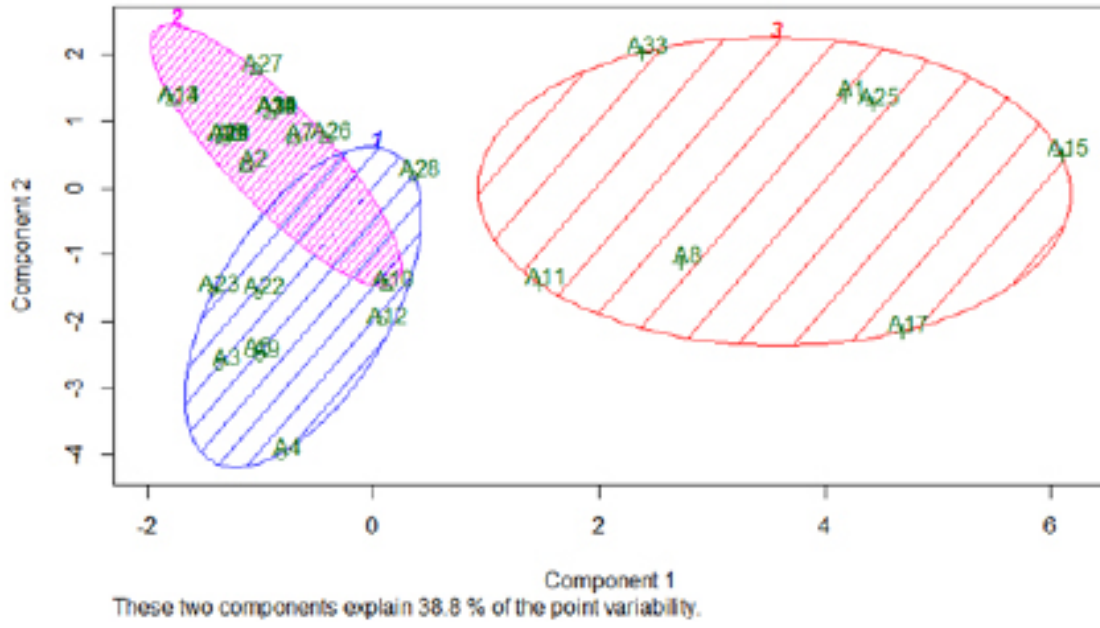
Çizelge 1. Altı belirteç için iki temel bileşen değerleri (L1: Locus 1; L2: Locus 2; L3: Locus3; L4: Locus 4; L5: Locus 5; L6: Locus 6; A1: Allel 1; A2: Allel 2; A3: Allel 3, PIC: Polimorfik Bilgi İçeriği)

Table 1. Two principle components for six markers (L1: Locus 1; L2: Locus 2; L3: Locus3; L4: Locus 4; L5: Locus 5; L6: Locus 6; A1: Allel 1; A2: Allel 2 2; A3: Allel 3, PIC: Polymorphic Information Content)

Belirteç	Allel	Temel Bileşen Katkısı		PIC
		Bileşen 1	Bileşen 2	
VVMD5 (L1)	A1	0,061	27,317	0.3893
	A2	0,012	18,688	0.3270
VVMD6 (L2)	A1	16,585	0,269	0.2907
	A2	1,114	1,857	0.1107
	A3	9,760	0,843	0.1107
VVMD7 (L3)	A1	14,650	1,052	0.2509
	A2	4,361	3,864	0.4931
	A3	13,937	0,731	0.3270
VVMD8 (L4)	A1	0,467	0,039	0.1107
	A2	16,447	1,061	0.2907
	A3	18,427	1,100	0.2509

(Çizelge 1 devamı)

VrZAG64 (L5)	A1	0,450	2,395	0.2076
	A2	0,079	3,239	0.2076
	A3	0,627	2,308	0.2907
	A4	0,881	0,011	0.1107
VrZAG79 (L6)	A1	2,091	17,067	0.3893
	A2	0,043	18,149	0.2907
Eigen Değerleri		4,209	2,386	
% Varyans		24,758	14,037	
%Kümülatif Varyans		24,758	38,796	



Şekil 2. İncelenen 34 genotipin iki temel bileşene göre kümeleme haritası

Figure 2. Factor map of examined 34 genotypes according to two principle components

Morfolojik bulgulara göre yapılan PCA sonucunda iki önemli bileşen ortaya çıkmış ve bu iki bileşenin toplam varyasyonun %54,99'unu açıkladığı görülmüştür (Çizelge 2). %41,90 toplam varyasyonu içeren ilk bileşen grubunda en yüksek etkinliğe sahip karakterler OIV.602, OIV.603 ve OIV.614 olurken, toplam varyansın %13,20'sini içeren ikinci bileşen grubunda en yüksek etkinliğin OIV.066-5, OIV.613 ve OIV.604 karakterlerinde olduğu görülmüştür.

Çizelge 2. Yirmidört genotipte incelenen ampelografik özellikler için temel bileşen değerleri

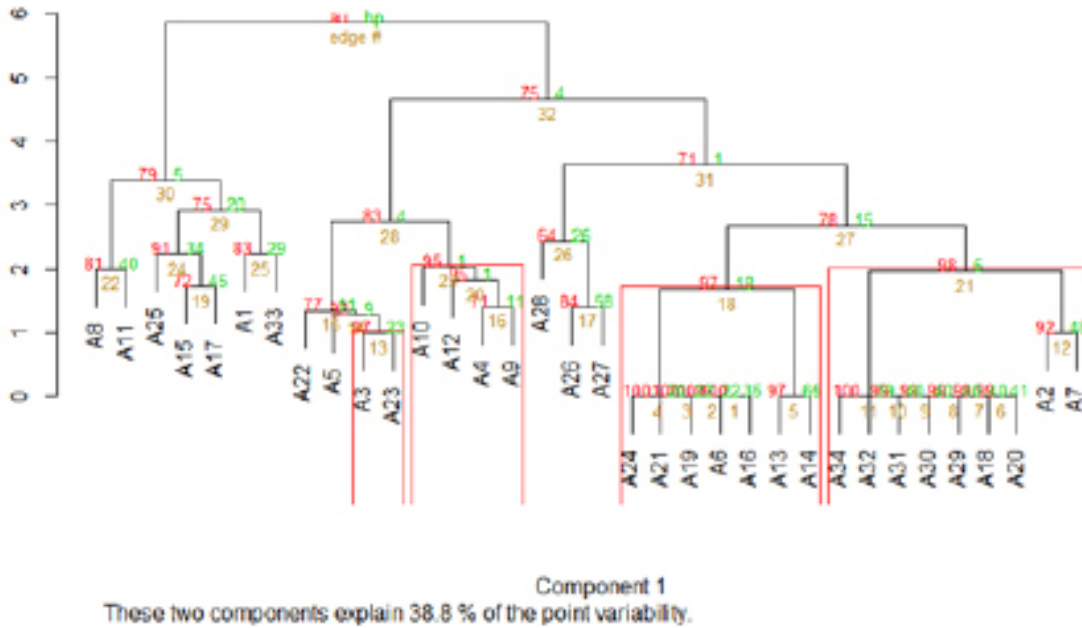
Table 2. Ampelographic characteristics of 24 genotypes' principle component values

Karakter	Temel Bileşen Katkısı	
	Bileşen 1	Bileşen 2
OIV.68	0,896	1,062
OIV.601	0,896	2,029
OIV.602	11,720	1,931
OIV.603	10,948	4,802
OIV.604	6,672	5,681
OIV.066-5	8,296	9,478
OIV.605	8,485	4,173
OIV.606	8,325	5,256
OIV.070	0,027	4,539

(Çizelge 2 devamı)

OIV.076	0,421	1,871
OIV.612	7,563	2,797
OIV.614	10,747	4,445
OIV.613	5,857	6,471
OIV.615	6,541	4,228
OIV.81	0,585	3,132
OIV.083-1	1,573	1,290
OIV.083-2	0,163	1,797
OIV.84	0,448	4,105
Eigen Değerleri	7,523	2,376
% Varyans	41,794	13,202
%Kümülatif Varyans	41,794	54,997

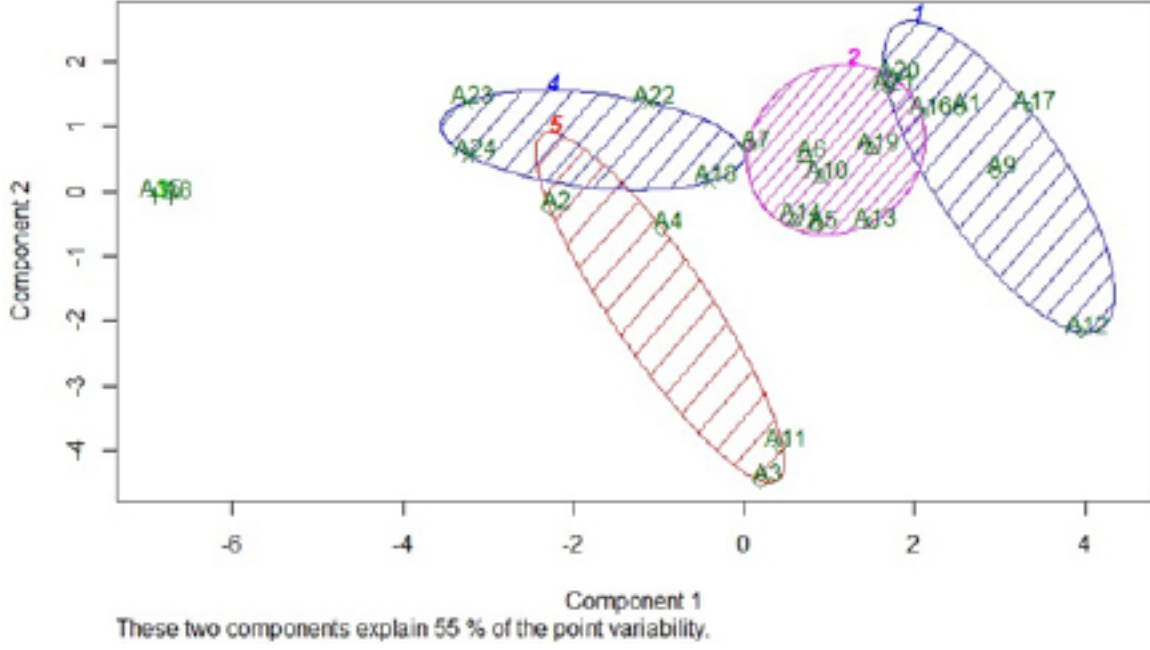
Değişkenlere ait faktör haritası incelendiğinde; karakterlerin haritanın dört bölümünde de bulunduğu görülmektedir (Şekil 3). Her iki bileşen açısından da pozitif olan ilk grupta OIV.083.2, OIV.605, OIV.606, OIV.066.5, OIV.601, OIV.602, OIV.603 ve OIV.604 karakterleri yer almaktadır. Bu karakterlerin tümü her iki bileşen için de pozitif etkili olmuştur. Birinci bileşen için pozitif, ikinci bileşen için negatif olan ikinci grupta OIV.614, OIV.613, OIV.612, OIV.615, OIV.68 ve OIV.81 karakterleri yer almaktadır. Bu karakterlerin birinci bileşene katkıları pozitif olurken, ikinci bileşen açısından negatif etkili olmuşlardır. Birinci bileşen açısından negatif, ikinci bileşen açısından pozitif olan diğer üçüncü grupta OIV.83.1, OIV.76.1 ve OIV.70.1 karakterleri yer almıştır. Her iki bileşen için negatif olan dördüncü grupta ise OIV.84 karakteri tek başına yer almıştır.



Şekil 3. İncelenen 34 genotipin kümeleme analizi dendogramı

Figure 3. Cluster analysis dendrogram of 34 genotypes

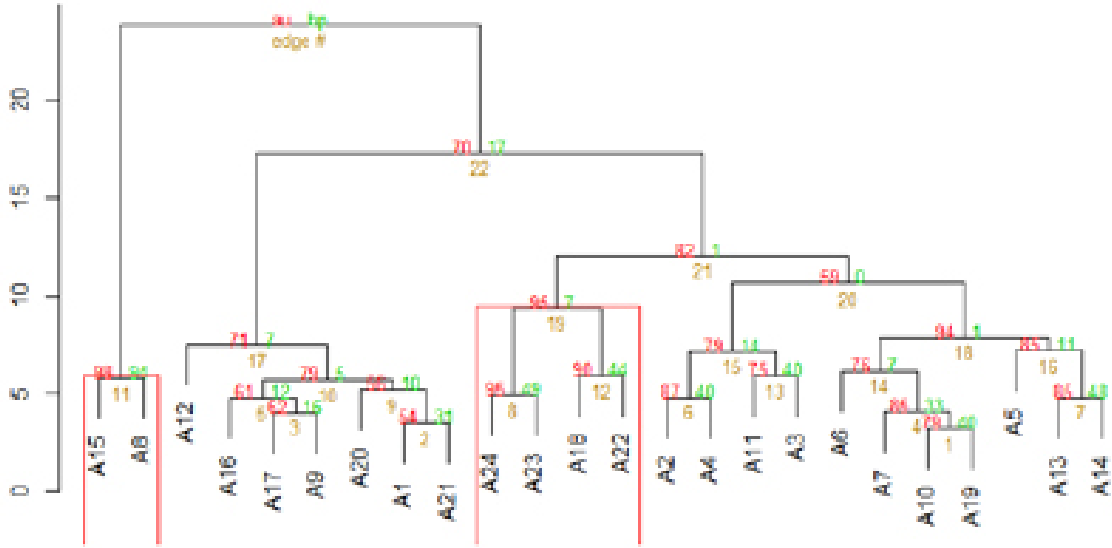
İki temel bileşen göz önüne alınıp kümeleme analizi yapıldığında incelenen 34 genotipin 5 kümeye ayrıldığı Şekil 4'de görülmektedir. Birinci kümede A17, A9, A12, A1, A16, A20 ve A21 yer almıştır. İkinci kümede A21, A19, A13, A10, A6, A5, A14 ve A7 yer almıştır. A21 genotipinin her iki kümenin kesiştiği alanda yer aldığı görülmüştür. Üçüncü küme tüm diğer kümelerden uzakta A15 ve A8 genotiplerini içermektedir. Dördüncü kümede A22, A18, A23 ve A24 genotipleri yer alırken, beşinci kümede A2, A4, A11 ve A3 genotipleri yer almıştır.



Şekil 4. Yirmidört genotipin 18 ampelografik (OIV) karaktere bağlı olarak iki temel bileşene göre kümeleme analizi grafiği

Figure 4. Two principle components cluster analysis map of 24 genotypes according to the 18 ampelographic characters (OIV)

İncelenen genotiplerin kümeleme analizi dendrogramı Şekil 5’de verilmiştir. Dendrogram incelendiğinde genotiplerin iki ana küme altında gruplandığı görülmektedir. İlk kümede temel bileşenler analizinde de olduğu gibi A8 ve A15 genotipleri yer almakta, diğer tüm genotipler ikinci ana kümede yer almıştır.



Şekil 5. İncelenen 24 genotipin 18 ampelografik (OIV) karaktere göre kümeleme analizi dendrogramı

Figure 5. Cluster analysis dendrogram of examined 24 genotypes according to the 18 ampelographic characteristics (OIV)

Oluşan ikinci ana küme de kendi içerisinde iki alt gruba ayrılmış, ilk alt grupta A12, A16, A17, A9, A20, A1 ve A21 yer almıştır. İkinci alt grupta ise A23, A24, A18, A22, A2, A4, A11, A3, A6, A7, A10, A19, A5, A13 ve A14 genotipleri yer almıştır. Dolayısıyla OIV’ye ait 18 ampelografik karaktere göre A8 ve A15 genotiplerinin birbirleriyle çok benzer bireyler olduğunu söylemek mümkün gözükmektedir. Ayrıca A24 ile A23 ve A18 ile A22 genotipleri de birbirlerine çok yakındır. Ayrı bir grup oluşturan A12, A16, A17, A9, A20, A1 ve A21 genotiplerinin içerisinde A12 genotipi tek başına yer alırken, A17 ve A9 yakın, A16 ise onlarla yakın ilişkili olarak görülmektedir.

Bu grup içerisindeki A1 ile A21 yine birbirine yakın genotipler olarak gözükmekteyken A20 genotipinin de bunlarla yakın ilişkili olduğu anlaşılmaktadır.

A2, A4, A11, A3, A6, A7, A10, A19, A5, A13 ve A14 genotiplerinin oluşturduğu diğer bir grupta A2 ile A4 ve A11 ile A3 genotiplerinin birbirleriyle çok benzer ve iki grubun birbiriyle yakın ilişkili oldukları görülmektedir. A6, A7, A10 ve A19 genotipleri arasındaki ilişki A13, A14 ve A15 arasındaki ilişkiye benzer şeklindedir. A13 ve A14 birbiriyle çok yakın ilişkili ve A15 genotipinin de bunlarla bağlantılı olduğu saptanmıştır. Tüm genotipler içerisinde A8 ile 15 genotiplerinin oluşturduğu grup ile A13 ve A14 genotiplerinin oluşturduğu grup, birbirleriyle en az ilişkili olmuştur (Şekil 5).

Genotiplerin kendi içlerinde incelendiği moleküler ve ampelografik iki kümeleme analizi (Şekil 3 ve Şekil 5) karşılaştırıldığında; genotipler benzer dağılımlar göstermiştir. Ampelografik verilere göre yapılan kümeleme analizinde (Şekil 3) ilk küme içerisinde yer alan A8 ve A15, moleküler verilere göre yapılan ikinci kümelemeye de ilk küme içerisinde yer almış, bu iki genotipe ek olarak, ampelografik analizde ikinci küme içerisinde yer alan A1, A11, A17 ve moleküler analizde dahil edilen A25 ve A33 genotipleri de bu küme içerisinde yer almıştır. A22, A5, A3, A23, A10, A12, A4, A9, A24, A21, A19, A6, A16, A13, A14, A18, A20, A2, A7 her iki analizde de ikinci küme içerisinde bulunmuştur. Moleküler kümeleme analizinde ilk defa eklenen A28, A26, A27, A34, A32, A31, A30 ve A29 genotiplerinin de ikinci küme içerisinde yer aldığı görülmüştür. Her iki dendogram incelendiğinde A13 ve A14 genotipleri beraber dağılmıştır. Buna ek olarak A8 ve A15; A12 ve A9; A6 ve A19 genotipleri de her iki dendogramda birbirine oldukça yakın dağılım göstermiştir.

Sonuç

Bu çalışmada, Trakya bölgesinde yer alan Ganos (Işıklar) Dağları doğal florasında bulunan asmalardan (*Vitis vinifera* L.) 34 genetik materyal toplanmıştır. Ampelografik ölçümlerle bu asmaların sürgün ucu, genç yaprak ve olgun yaprak özellikleri belirlenirken, DNA'ları izole edilerek 6 belirteç (VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD8, VrZAG64, VrZAG79) ile moleküler karakterizasyonları yapılmıştır. Örnekler; Karaevli altı, Kumbağ, Naip-Işıklar arası, Mermer-Yeniköy arası, Uçmakedere köyü, Gaziköy, Hoşkoy-Mürefte-Şarköy hattı olmak üzere 7 farklı alandan toplanmıştır. Çalışma sonucunda:

Elde edilen genetik materyallerden 24 tanesi 18 ampelografik karakter açısından karşılaştırılmıştır ve bunun sonucunda 5 ayrı küme oluşmuştur. Ayrıca 34 genotipin moleküler olarak iki temel bileşene göre yapılan kümeleme haritasında ise 3 ayrı küme oluşmuştur.

Ampelografik karşılaştırmada birbirlerine çok yakın ilişkili olarak bulunan A13 ve A14 genotipleri, moleküler karakterizasyonlar sonucunda da aynı kolda ve birbirlerine yakın olarak bulunmuşlardır. Benzer şekilde A8 ve A15, A12 ve A9, A6 ve A19 genotipleri her iki dendogramda da birbirlerine oldukça yakın dağılım göstermiştir.

Doğal florada nispeten dar bir çevrede olmalarına rağmen çalışmada yer alan genotiplerin hem ampelografik hem moleküler incelemeler sonucunda çoğunlukla birbirlerinden farklı oldukları saptanmıştır. Ampelografik ölçümlerin sonucunda birbirleriyle tamamen aynı olan hiçbir genotipe rastlanmazken, moleküler karakterizasyonda incelenen lokuslar bakımından A31, A32, A30, A29, A18 ve A20 genotiplerinin ve A19, A21, A6 ve A16 genotiplerinin birbirleriyle tamamen aynı olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla aynı bölgeden alınan genotiplerin ampelografik ve genetik olarak farklı özellikler gösterebildiği ve farklı bölgelerden toplanan bazı genotiplerin de birbirleriyle benzer özellikler taşıdığı anlaşılmıştır.

MÖ 2000 yıllarına dayanan geçmişe ve genetik çeşitliliğe sahip Trakya Bölgesi'nde incelenen genotiplerin kültüre alınarak morfolojik özellikleri ile fenolojik gelişimlerinin gözlenmesi, bölgenin yerel çeşitleriyle (Tekirdağ, Edirne, Kırklareli, Çanakkale çeşitleri) karşılaştırmalı olarak incelenmeleri, bölgenin asma biyoçeşitlilik haritasının çıkarılması, ekonomik değeri olan yerel çeşitlerimizin tanınması ve geliştirilmesi için faydalı olacaktır.

Sonuç olarak; geniş kapsamlı çalışmalarla bölgeden daha fazla genotip toplanması, ampelografik ve moleküler karakterizasyonlarının yapılması, genetik materyal olarak koleksiyon haline getirilmesi vb. işlemlerin biyolojik çeşitliliğimizin korunması ve gelecekteki ıslah çalışmaları için materyal sağlanması bakımından büyük önem taşıdığı düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından NKÜ. BAP.00.24.AR.14.19 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

Kaynakça/References

- Ağaoğlu YS, Ergül A, 1999. Amasya üzüm çeşidi ekotiplerinin RAPD markörler ile genetik tanımlamaları. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 14-17 Eylül 1999. 369-372. Kızılcahamam, Ankara.
- Arroyo-Garcia R, Ruiz-Garcia L, Bolling L, Ocete R, Lopez MA, Arnolda C, Ergül A, Söylemezoğlu G, Uzun Hİ, Cabello F, Ibanez J, Aradhya MK, Atanassov A, Atanassov I, Balint S, Ceniz JL, Constantini L, Goirslavets S, Grando MS, Klein BY, McGovern PE, Merdinoğlu D, Pejic I, Pelsy F, Primikiriou N, Risovannaya V, Roubelakis-Angelakis KA, Snoussi H, Sotiri P, Tamhankar S, This P, Troshin L, Malpica JM, Lefort F, Martinez-Zapater JM, 2006. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA Polymorphisms. *Molecular Ecology*. 15: 3707-3714.
- Bowers JE, Dangi GS, Vignani R, Meredith CP, 1996. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeats loci in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Genome*. 39: 628-633.
- Boz Y, Bakır M, Çelikkol BP, Kazan K, Yılmaz F, Çakır B, Aslantaş Ş, Söylemezoğlu G, Yaşasın AS, Özer C, Çelik H, Ergül A, 2011. Genetic characterization of grape (*Vitis vinifera* L.) germplasm from Southeast Anatolia by SSR Markers. *Vitis*. 50(3): 99-106.
- Çelik S, 2011. Bağcılık (Ampeloloji), Cilt 1, 3. Baskı, Tekirdağ, 423s.
- Doyle JJ, Doyle JL, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 19: 11-15.
- Ergül A, Marasalı B, Ağaoğlu YS, 2002. Molecular discrimination and identification of some Turkish grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) by RAPD Markers. *Vitis*. 41(3): 159-160.
- Fossati T, Labra M, Castiglione S, Failla O, 2001. The use of AFLP and SSR molecular markers to decipher homonyms and synonyms in grapevine cultivars: the case of the varietal group known as Schiave. *Theoretical and Applied Genetics*. 102: 200-205.
- Hızarcı Y, Ercişli S, Yüksel C, Ergül A, 2012. Genetic characterization and relatedness among autochthonous grapevine cultivars from Northeast Turkey by Simple Sequence Repeats (SSR). *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 85, 224 - 228.
- Karataş DD, Karataş H, Laucou V, Sankamış G, Riahi L, Bacilieri R, This P, 2014. Genetic diversity of wild and cultivated grapevine accessions from South-East Turkey. *Hereditas*. 151: 73-80.
- Moore DD, Dowhan D, 2002. Preparation and Analysis of DNA. *Current Protocols in Molecular Biology*. <http://dx.doi.org/10.1002/0471142727.mb0200s58>.
- OIV 2009. 2nd Edition of the OIV Descriptor List for Grape Varieties and *Vitis* species. 178p. Organisation Intergouvernementale cree par l'Accord International du 3 Avril 2001 <http://www.oiv.int/oiv/info/enplublicationoiv#grape>. Erişim Tarihi 24.02.2014.
- Regner F, Staldbauer A, Eisenheld C, 2001. Molecular markers for genotyping grapevine and for identifying clones of traditional varieties. *International Symposium on Molecular Markers in Horticultural Species, Acta Horticulturae*. 859, 546: 331-342.
- Sefc KM, Pejic I, Maletic E, Thomas MR, Lefort F, 2009. Microsatellite markers for grapevine: tools for cultivar identification and pedigree reconstruction, Book chapter of *Grapevine molecular Physiology and Biotechnology* 565-596. Print ISBN: 978-90-481-2304-9.
- Sefc MK, Regner F, Turetschek E, Glössl J, Steinkelher H, 1999. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. *Genome*. 42:367-373.
- Tangolar SG, Soydam S, Bakır M, Karaağaç E, Tangolar S, Ergül A, 2009. Genetic analysis of grapevine cultivars from the Eastern Mediterranean Region of Turkey, based on SSR Markers. *Tarım Bilimleri Dergisi*. 15(1): 1-8.
- Tassie L, 2010. Vine identification - knowing what you have, Australian Government, Grape and Wine Research and Development Corporation. Fact Sheet. August 2010, 8p.
- Thomas MR, Cain P, Scott NS, 1994. DNA Typing of Grapevines: a universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Molecular Biology*. 25: 939-949.
- Thomas MR, Scott NS, 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as Sequence Tagged Sites (STSs). *Theoretical and Applied Genetics*. 86: 985-990.
- Vouillamoz JF, McGovern PE, Ergül A, Söylemezoğlu G, Tevzadze G, Meredith CP, Grando MS, 2006. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia. *Plant Genetic Resources*. 4(2): 144-158.
- Winkler AJ, 1962. *General Viticulture*. University of California Press, Berkeley.
- Yıldırım N, 2010. Kara (Siyah) üzüm gruplarının SSR (Simple Sequence Repeat) Markörlere dayalı karakterizasyonu ve ülke asma kaynakları ile genetik ilişkisi. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü. YL Tezi, Ankara, 71s.

Ek: Moleküler karakterizasyonu yapılan genotipler arasındaki Öklid uzaklıkları matrisi / Appendix: Euclidean distance matrix of molecular characterized genotypes

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17	A18	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	A27	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34			
A1	0,00																																				
A2	2,65	0,00																																			
A3	3,32	2,00	0,00																																		
A4	3,32	2,00	1,41	0,00																																	
A5	3,32	2,00	1,41	1,41	0,00																																
A6	2,83	1,00	1,73	2,24	1,73	0,00																															
A7	2,45	1,00	2,24	2,24	2,24	1,41	0,00																														
A8	2,65	2,45	2,83	2,83	3,16	2,65	2,24	0,00																													
A9	3,32	2,00	1,41	1,41	1,41	1,73	2,24	2,93	0,00																												
A10	3,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,73	2,24	2,45	1,41	0,00																											
A11	3,00	2,45	2,45	2,45	2,24	2,24	2,00	2,00	2,00	0,00																											
A12	2,83	1,73	2,24	1,73	1,73	2,00	2,00	2,65	1,73	2,24	0,00																										
A13	3,00	1,41	2,00	2,45	2,00	1,00	1,73	2,83	2,00	2,00	2,45	0,00																									
A14	3,00	1,41	2,00	2,45	2,00	1,00	1,73	2,83	2,00	2,00	2,45	2,24	0,00																								
A15	2,45	2,00	3,32	3,22	3,00	2,83	2,83	2,95	3,00	2,65	2,24	2,83	3,00	3,00	0,00																						
A16	2,83	1,00	1,73	2,24	1,73	0,00	1,41	2,65	1,73	1,73	2,24	2,00	1,00	1,00	2,83	0,00																					
A17	2,65	2,16	2,93	2,83	2,45	3,00	3,00	2,93	2,83	2,45	2,65	3,16	3,16	1,73	2,00	0,00																					
A18	2,65	1,41	2,00	2,45	2,00	1,00	1,00	2,45	2,00	2,00	2,24	1,41	1,41	2,65	1,00	2,83	0,00																				
A19	2,83	1,00	1,73	2,24	1,73	0,00	1,41	2,65	1,73	1,73	2,24	2,00	1,00	1,00	2,83	0,00	0,00																				
A20	2,65	1,41	2,00	2,45	2,00	1,00	1,00	2,45	2,00	2,00	2,24	1,41	1,41	2,65	1,00	2,83	0,00	1,00	0,00																		
A21	2,83	1,00	1,73	2,24	1,73	0,00	1,41	2,65	1,73	1,73	2,24	2,00	1,00	1,00	2,83	0,00	0,00	1,00	0,00																		
A22	3,00	2,00	1,41	2,00	1,41	1,73	2,24	3,16	2,00	2,45	2,83	2,24	2,00	2,00	3,32	1,73	2,83	2,00	1,73	2,00	0,00																
A23	3,16	1,73	1,00	1,73	1,00	1,41	2,00	3,00	1,73	2,24	2,65	2,00	1,73	1,73	3,16	1,41	2,65	1,73	1,41	1,73	1,41	1,00	0,00														
A24	2,83	1,00	1,73	2,24	1,73	0,00	1,41	2,65	1,73	1,73	2,24	2,00	1,00	1,00	2,83	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,73	1,41	0,00													
A25	2,65	2,45	2,83	3,16	2,83	2,24	2,65	2,83	2,83	2,45	2,83	3,00	2,45	2,45	1,73	2,24	2,45	2,45	2,24	2,45	2,34	2,83	2,65	2,24	0,00												
A26	3,16	2,24	2,83	2,65	2,24	2,00	2,45	3,00	2,24	2,24	2,65	2,45	2,24	2,24	3,16	2,00	3,32	2,24	2,00	2,24	2,00	2,65	2,45	2,00	3,00	0,00											
A27	2,83	1,73	2,24	2,65	2,24	1,41	2,00	3,00	2,24	2,24	2,65	2,45	1,73	1,73	3,16	1,41	3,22	1,73	1,41	1,73	1,41	2,24	2,00	1,41	2,65	1,41	0,00										
A28	2,83	2,65	2,24	2,65	2,24	2,45	3,32	2,65	3,00	2,00	2,83	2,65	2,65	2,65	3,16	2,45	2,65	2,24	2,45	2,24	2,45	2,24	2,00	2,45	3,00	2,45	2,00	0,00									
A29	2,65	1,41	2,00	2,45	2,00	1,00	1,00	2,45	2,00	2,00	2,24	1,41	1,41	2,65	1,00	2,83	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,73	1,41	0,00	2,24	1,73	2,24	0,00									
A30	2,65	1,41	2,00	2,45	2,00	1,00	1,00	2,45	2,00	2,00	2,24	1,41	1,41	2,65	1,00	2,83	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,73	1,41	0,00	2,24	1,73	2,24	0,00	0,00								
A31	2,65	1,41	2,00	2,45	2,00	1,00	1,00	2,45	2,00	2,00	2,24	1,41	1,41	2,65	1,00	2,83	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,73	1,41	0,00	2,24	1,73	2,24	0,00	0,00	0,00							
A32	2,65	1,41	2,00	2,45	2,00	1,00	1,00	2,45	2,00	2,00	2,24	1,41	1,41	2,65	1,00	2,83	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,73	1,41	0,00	2,24	1,73	2,24	0,00	0,00	0,00	0,00						
A33	2,24	2,45	2,83	3,16	2,83	2,24	2,24	2,83	2,83	2,45	2,65	2,45	2,45	2,45	2,24	2,24	2,45	2,00	2,24	2,00	2,24	2,83	2,65	2,24	2,45	2,00	2,00	2,00	0,00								
A34	2,65	1,41	2,00	2,45	2,00	1,00	1,00	2,45	2,00	2,00	2,24	1,41	1,41	2,65	1,00	2,83	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,73	1,41	0,00	2,24	1,73	2,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

Improvement of Grain Yield and Yield Associated Traits in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes Through Mutation Breeding Using Gamma Irradiation

Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Genotiplerinde Tane Verimi ve Verimle İlişkili Özelliklerin Gamma Işını Kullanılarak Mutasyon İslahı ile Geliştirilmesi

Alpay BALKAN^{1*}, Oğuz BİLGİN¹, İsmet BAŞER¹, Damla BALABAN GÖÇMEN¹,
Alp Kayahan DEMİRKAN¹, Birol DEVİREN¹

Abstract


The present research was conducted to evaluate the M1, M2, M3 and M4 bread wheat (*Triticum aestivum* L.) mutant populations for yield and yield related traits during 2010-11, 2011-12, 2012-13 and 2013-14 at Tekirdağ ecological conditions. Three wheat genotypes were treated with different levels of gamma rays (100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy and Control). The mutated plants were evaluated along with parental lines (control) for grain yield (GY) and its contributing traits such as plant height (PH), spike length (SL), the number of spikelets per spike (NSPS), the number of grains per spike (NGPS), grain weight per spike (GWPS), harvest index (HI) and thousand grain weight (TGW) under field conditions. The results obtained from the present study showed that the genotypes significantly and variably differed in their response for various traits at different gamma rays doses. The traits such as PH, TGW and grain yield (GY) showed generally reduction with higher gamma irradiation doses as compared to low doses, while mutagenic treatments shifted the mean values mostly towards the negative direction in the other yield components. But, the negative or positive shifts were not unidirectional or equally effective for all the traits. These findings suggested that the variability could be induced through the use of gamma irradiations in bread wheat. Some of the traits showed improvement due to the induced mutations could be used in future wheat breeding programs. The differences in mean values and the nature of variability observed in M2 indicated a possible preference of selection in M3 generation.


Keywords: Bread wheat (*Triticum aestivum* L.), mutation, population, grain yield


Öz


Bu araştırma, M1, M2, M3 ve M4 ekmeklik buğday mutant populasyonlarını verim ve verime etkili özellikler bakımından değerlendirmek için 2010-11, 2011-12, 2012-13 ve 2013-14 yıllarında Tekirdağ ekolojik koşullarında yürütülmüştür. Üç buğday genotipine farklı dozlarda gamma ışını (Kontrol, 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy ve 500 Gy) uygulanmıştır. Mutant bitkiler anaçları (kontrol) ile birlikte tane verimi (TV) ve bitki boyu (BB), başak uzunluğu (BAU), başakta başakçık sayısı (BABS), başakta tane sayısı (BATS), başakta tane ağırlığı (BATA), hasat indeksi (HI) ve bin tane ağırlığı (BTA) gibi verime etkili özellikler bakımından tarla koşullarında değerlendirilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, genotiplerin çeşitli özellikler için farklı gamma ışını dozlarına yanıtlarının önemli ve değişken bir şekilde farklı olduğunu göstermiştir. Bitki boyu, bin tane ağırlığı ve tane verimi gibi özellikler düşük dozlarla karşılaştırıldığında yüksek gamma ışını dozlarında genellikle azalma gösterirken, mutagen uygulamaları diğer verim unsurlarında ortalama değerleri çoğunlukla negatif yöne doğru kaydırmıştır. Ancak, negatif ya da pozitif yöndeki kaymalar tüm özellikler için tek yönde ya da eşit derecede etkili olmamıştır. Bu bulgular, buğdayda gamma ışınları kullanılarak varyabilenin oluşturulabileceğini göstermiştir. Oluşturulan mutasyonlara bağlı olarak gelişme gösteren bazı özellikler gelecekte buğday ıslahı çalışmalarında kullanılabilir. M2'de gözlenen varyabilite ve ortalama değerlerdeki farklar M3 generasyonunda seleksiyonun mümkün olabileceğini göstermiştir.


Anahtar Kelimeler: Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.), mutasyon, populasyon, tane verimi


^{1*}Corresponding Author: Alpay Balkan, Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Tekirdağ, Turkey. E-mail: abalkan@nku.edu.tr,  OrcID: 0000-0002-9203-6144

¹Oğuz Bilgin, E-mail: obilgin@nku.edu.tr  OrcID: 0000-0002-4338-9912

¹İsmet Başer, E-mail: ibaser@nku.edu.tr  OrcID: 0000-0001-6748-3750

¹Damla Balaban Göçmen, E-mail: balaban.damlaa@gmail.com  OrcID: 0000-0002-3980-3906

¹Alp Kayahan Demirkan, E-mail: alpdemirkan1@gmail.com  OrcID: 0000-0001-9525-1678

¹Birol Deviren, E-mail: biroldeviren@gmail.com  OrcID: 0000-0003-4389-3673

Citation: Balkan, A., Bilgin, O., Başer, İ., Göçmen, D.B., Demirkan, A.K., Deviren, B. Improvement of grain yield and yield associated traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes through mutation breeding Using gamma irradiation. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 103-111.

Due to the increasing of global population together with a growing demand for meat and dairy products, a substantial increase of grain production in the next decades is critical. This is particularly challenging as the basic manageable resources for crop growth and yield (water, nutrients) will not increase (Connor and Minguez, 2012) and the land available for crop production is likely to decline (Albajes et al., 2013). Among the major crops, wheat is one of the most critical for warranting human nourishment: it is the most widely crop grown globally and is the primary source of protein for the world population, representing c. 20% of the daily intake for developing countries (Braun et al., 2010). In order to maintain balance between demands and supply alternative ways and means to further raise wheat yield must be found (Chand, 2009). The grain yield, a complex polygenic trait is highly affected by environmental stresses (Sial et al., 2010), itself is determined by yield component traits, which besides the number of spikes per unit area are characteristics of the spikes and kernels. Previous studies suggest that the number of grains is much more plastic than the seed morphology, and yield in the wheat therefore appears to be more related to grain number than to grain weight (Fischer, 2011). Consequently, wheat yield improvements appear to have been realized mainly through an increase in the grain number rather than through the size of grains (Calderini et al., 1995). A promising approach to continue improving yield levels in the wheat is therefore the targeted exploitation of genetic variation for yield component traits such as the PH, SL, NSPS, NGPS, GWPS, TGW and HI.

Mutagenesis and hybridization are generally the most commonly used breeding methods to develop new superior varieties. Mutation breeding has some advantages compared to cross breeding. When comparing mutation and hybridization; the occurrence of even a few desirable mutation in high yielding varieties has the great advantage of becoming homozygous and expressing its superiority within a couple of generations after induction in M_2 or M_3 as compared to F_6 or F_7 generations in case of hybridization (Chakraborty and Paul, 2013). Mutation breeding has become an appropriate option to improve plant traits when conventional breeding does not work, or the desired traits were recessive, or improving another character in an established plant variety, or improving one or two main character(s) (Ahloowalia and Maluszynski, 2001; van Harten, 1998). In addition, mutagenesis is able to isolate mutant with multiple traits, as compared to transgenes where only line can be introduced, it's the major advantage of induce mutations (Louali et al., 2015). Mutation breeding can be applied to improve a specific character without changing other characters and it is possible to improve a single line without causing an important disturbance in the genome. Furthermore, it may create a new character that was not belong to parental plants The mutants developed in the wheat have a great potential for direct release and for inclusion in hybridization breeding programs (Sakin et al., 2005). The released mutant cultivars in different crops had great economic impact on agriculture and food productions and added billion of dollars in the economy of many countries (Jain, 2006). More than 3000 varieties of different crops have been officially released by mutation breeding technique. Mutation induction with radiation has been the most frequently used method to develop direct mutant varieties, accounting for about 90% of obtained varieties (64% with gamma-rays, 22% with X-rays) (Ahloowalia et al., 2004). Gamma ray mutagen was effective in broadening genetic variability and increasing means of the wheat cultivars for the GY and its components, helping plant breeders to practice an efficient selection in the M_2 and next mutated generations (Khanna et al., 1986; Al-Naggar et al., 2007). Mutant populations have now been created for many cereal crops, including rice (Suzuki et al., 2008), durum wheat (Başer et al. 1997; Sakin and Yildirim, 2004) and the bread wheat (Slade et al., 2005). The present work envisages providing information on the effects of gamma rays with regard to the PH, SL, NSPS, NGPS, GWPS, TGW, HI and GY of M_1 , M_2 , M_3 and M_4 populations in the bread wheat genotypes.

Materials and Methods

Plant material

Three bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes, Bezostaja 1 (tall, mid-early, awnless, superior in flour quality for bread making, but inferior in lodging resistance and yield capacity), Kate A-I (tall, mid-early, awnless and inferior in flour quality for bread making, lodging and disease resistance and superior in yield capacity) and IBWSN4 (tall, early, awned and inferior in flour quality for bread making, disease resistance and superior in lodging and yield capacity), were used as the experimental material.

Gamma irradiation

The moisture contents of seeds of wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) used in the study were 11.4% for Bezostaja 1, 11.7% for Kate A-I and 12.0% for IBWSN4. The grains for each genotype were divided into six groups (A, B, C, D, E and F), each of which contained 2000 grains. Group A was kept un-irradiated (Control), while the other groups were irradiated with various levels of gamma ray (100, 200, 300, 400 and 500 Gy). Gamma treatment was obtained from $^{60}\text{Cobalt}$, Ob-Servo Sanguis Co-60 Research Irradiator with isotope model, while the dose

rate was 2.190 kGy h⁻¹ in before the 2009-2010 growing season sowing at the Turkish Atomic Energy Authority, Sarayköy Nuclear Research and Training Center, Ankara, Turkey. The unit for the absorbed dose of radiation energy is the gray (Gy), which is equivalent to 1 J Kg⁻¹ and 100 rads. Right after irradiation, the experiment was set up using a total of 15 M₀ combination seeds together with the un-irradiated (Control) in the experimental field of the Field Crops Department of the Faculty of Agriculture of Tekirdağ Namık Kemal University during the growing season of 2009-2010. The experiment was carried out in a randomized complete block design (RCBD) with 3 replicates. Plots were sown on Nov.15, 2010 by hand at the rate of 350 seeds per m² and were 2 m in length x 1.0 m wide, with 6 rows 0.2 m apart. 20.20.0 composed fertilizer was used which include 50 kg ha⁻¹ pure nitrogen (N) and 50 kg ha⁻¹ pure phosphor (P₂O₅) was with the sowing. In addition to this, 60 kg ha⁻¹ pure N as urea fertilizer (46% N) at the tillering stage and 50 kg ha⁻¹ pure N as ammonium nitrate fertilizer (33% N) at the stem elongation stage were also given. The plots were kept free of weeds by hand hoeing when necessary. The remaining seeds were sown in the greenhouse in order to guarantee the work. The seeds obtained from the harvested plants in M₁ generation were sown in 2011-12 (M₂), 2012-13 (M₃) and 2013-14 (M₄) growing seasons as 20 cm row distance in 5 meters of 6-row parcels with 4 replicates and as 400 seeds in each row.

Data Collection

To study the effect of gamma irradiation doses on yield and yield related characters such as the PH-cm, SL-cm, NSPS-no, NGPS-no, GWPS-g, HI-%, TGW-g and GY-kg da⁻¹ were investigated in the M₁, M₂, M₃ and M₄ generations of the studied genotypes.

Statistical analyses

The data thus collected on yield and some yield components was subjected to analysis of statistical manipulation as outlined by Steel and Torrie (1980). The statistical analysis concerned mainly as a comparison between data of the control and that of the corresponding population using two groups t-test (means) and one tail F-ratio (variances).

Results and Discussion

Analysis of variance for the experiment with six treatments (gamma rays) and three genotypes for eight traits viz., PH, SL, NSPS, NGPS, GWPS, HI, TGW and GY were carried out in the M₁, M₂, M₃ and M₄ generations for testing the significance of variance among the treatments for each trait through 'F' test (Table 1).

The 'F' test indicated that variances due to genotypes were highly significant for all the characters which provided the evidence for the significant genetic variability for heading among the varieties.

The analysis of variance results for the treatments (which means the gamma radiation doses), indicated that the traits out of HI in the M₂, PH, GWPS and HI in the M₃ and NGPS in the M₄ under study were highly significant at (p<0.01) probability level. Whereas, significant for the NSPS and TGW in the M₁, for the PH and TGW in the M₂, for the TGW in the M₄, at (p<0.05) probability level.

Table 1. Significances of variance components for 8 traits in the bread wheat mutated populations of M₁, M₂, M₃ and M₄

Traits	Replication d.f.= 2				Treatments d.f.= 5				Genotype d.f.= 2				Treatment x genotype d.f.= 10			
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄
PH (cm)	ns	*	ns	**	**	*	ns	**	**	**	**	**	**	ns	ns	**
SL(cm)	ns	ns	ns	*	**	**	**	**	**	*	**	*	**	**	**	ns
NSPS (no)	ns	ns	ns	**	*	**	**	ns	**	**	**	**	*	*	**	**
NGPS (no)	ns	ns	ns	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**	**
GWPS (g)	ns	ns	ns	ns	**	**	ns	**	*	**	**	**	**	ns	**	**
HI (%)	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns	**	**	**	**	**	**	*	**	**
TGW (g)	ns	*	ns	ns	*	*	**	*	**	**	**	**	**	**	*	**
GY (kg da ⁻¹)	ns	ns	ns	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	ns	*

d.f.: degree of freedom, ns: non-significant, *: significance at 5% level, **: significance at 1% level.

Mean values at 100, 200, 300, 400 and 500 Gy of gamma rays and its controls in tested three genotypes for the investigated characters during the M₁, M₂, M₃ and M₄ generations are presented in Tables 2-4. However, the response was non-conventional; following results explore the findings of present investigation.

The PH is widely used as an index in determining the biological effects of various physical mutagens. In the present investigation, it was observed that all the gamma rays treatments were non-equally effective in shifting the mean values significantly towards reduced height.

Among genotypes, Bezostajal genotype was the least affected by gamma irradiation, while IBWSN4 showed high response to gamma irradiations. However, the maximum reduction of the PH was happened in the M₁ generation of all the varieties for gamma rays 500 Gy (Tables 2-4). The grains irradiated with low dose (100 Gy) of gamma radiation surpassed the other four-irradiation doses and the control in the PH, while, high gamma irradiation doses caused high reduction in the PH for 4 mutated generations of the three genotypes.

Table 2. Mean performance and significances of the M₁, M₂, M₃ and M₄ generations of Bezostaja 1

Generation	Gamma doses (Gy)	PH (cm)	SL (cm)	NSPS (no)	NGPS (no)	GWPS (g)	HI (%)	TGW (g)	GY (kgda ⁻¹)
M ₁	Control	114.6	10.2	21.3	28.5	1.103	32.68	42.5	330.0
	100	108.1**	10.4	21.1	24.1**	0.797**	31.35	38.8**	329.7
	200	115.2	10.6	21.5	33.9**	1.270**	31.04*	39.8**	318.0
	300	92.4**	10.3	20.3**	27.0*	1.153	31.97	38.7**	348.7*
	400	102.7**	10.6	19.9**	33.3**	1.303**	33.98	40.0**	264.0**
	500	99.2**	10.7	21.3	34.5**	1.330**	34.14	39.9**	264.3**
M ₂	Control	104.3	10.5	20.6	34.6	1.440	30.61	37.8	525.0
	100	107.8	10.6	20.7	40.6**	1.580*	29.62	37.6	406.3**
	200	99.9*	10.5	20.9	33.2	1.463	32.73	36.2**	472.0*
	300	102.9	10.1**	21.5**	34.4	1.200**	35.97	35.3**	453.0*
	400	99.8*	10.3**	21.4**	36.9*	1.240**	34.95	38.6	441.0**
	500	97.3**	10.6	20.8	43.3**	1.650**	33.08	38.3	403.0**
M ₃	Control	118.9	10.0	20.3	31.8	1.047	28.88	35.6	579.3
	100	119.8	10.1	20.2	32.8	1.077	31.28**	35.6	528.7*
	200	115.9*	10.2	20.6	31.4	1.100	30.73*	32.7**	569.3
	300	116.9*	11.1**	22.4**	43.7**	1.387**	31.02**	31.9**	482.0**
	400	118.1	10.9**	21.6**	40.5**	1.263**	30.89*	32.4**	534.3
	500	119.0	11.5**	21.5**	41.7**	1.400**	32.31**	31.8**	498.3**
M ₄	Control	110.7	9.2	22.7	47.9	1.697	36.15	44.6	604.7
	100	105.8	9.4	22.6	40.7**	1.887	42.33	47.0*	588.3
	200	102.0	10.3**	23.7	48.1	2.283*	43.10	48.1**	651.7*
	300	111.0	10.5**	22.9	41.8**	1.923	42.83	47.8*	587.0
	400	86.1**	10.7**	22.7	43.4**	2.103*	42.70	45.9*	625.0
	500	110.2	10.4**	22.7	43.3**	2.070	37.28	44.1	622.0

* and **statistically significant differences from control at %5 and %1 level.

The stimulatory effect of gamma irradiation at low doses was reported by several researchers such as Farag and El-Khawaga (2013) and Shubhra et al. (2013). The irradiation of seeds with high doses of gamma rays disturbs the synthesis of protein, hormone balance, leaf gas-exchange, water exchange and enzyme activity which may be the possible causes of adverse effects of gamma radiations on the PH in the present investigation.

The SL and NSPS are the most important yield components, as they determine the ultimate GY (Siddiqui et al., 1979). The highest SL in the four evaluated generations (M₁, M₂, M₃ and M₄) were 11.5 cm for IBWSN4, 11.3 cm for IBWSN4, 11.5 cm for Bezostajal and 11.1 cm for Kate A-1 were shown in genotypes derived from irradiation with 500 Gy and 400 Gy gamma ray dose. These present results also shows co-linearity with the studies of Bano et al. (2017) in which they observed significant increase of spike length in nearly all the radiation doses. The highest NSPS in the four evaluated generations (M₁, M₂, M₃ and M₄) were 21.5 for Bezostajal, 23.1 for IBWSN4, 22.7 for IBWSN4 and 23.7 for Bezostajal were shown in genotypes derived from irradiation with 200, 500, 500, 200 Gy gamma ray doses, respectively. Gamma radiation resource displayed positive effects upon these traits. The increase was however non-significant in 100 Gy and 200 Gy. Every additional after 200 Gy dose of

radiation progressively increased the NSPS and SL. In such treatments it is difficult to select desirable plants with respect to the SL and NSPS. These results are similar to those of [Mohammad et al. \(2004\)](#) and [Githinji and BIRTHIA \(2015\)](#), who also reported highly significant differences for the SL in the bread wheat.

The NGPS and GWPS are a reliable measure of yielding ability ([Borojevic and Borojevic, 1972](#)). In addition, they were the most sensitive traits to mutagenic action, and were suggested as criteria for investigating the action of gamma rays ([Rachovska and Dimova, 2000](#)).

Concerning to the NGPS, it was significantly altered mutated populations of studied genotypes from that of the controls. In comparison between the controls and irradiation treatments, NGPS was significantly increased in the four evaluated generations of IBWSN4 and Bezostaja1, while it reduced in M_1 , M_2 , M_3 and M_4 of Kate A-1. However, these shifts were not unidirectional.

Table 3. Mean performance and significances of the M_1 , M_2 , M_3 and M_4 generations of IBWSN4

Generation	Gamma doses	PH (cm)	SL (cm)	NSPS (no)	NGPS (no)	GWPS (g)	HI (%)	TGW (g)	GY (kg da ⁻¹)
M_1	Control	103.4	9.1	21.5	38.1	1.113	30.36	33.2	407.0
	100	99.5**	9.5**	20.6*	34.9*	1.020**	31.48	34.7	420.7
	200	106.6	9.8**	21.5	39.8*	1.123	32.36*	36.9**	394.3
	300	102.1	10.2**	19.9**	41.1*	1.850**	39.10**	37.8**	373.3**
	400	100.0*	10.5**	22.6*	39.7*	1.253**	40.14**	41.8**	310.0**
	500	72.0**	11.5**	20.6	33.3*	1.323*	35.72**	42.8**	227.7**
M_2	Control	87.1	9.0	19.9	48.5	1.677	36.00	33.4	594.3
	100	90.5**	9.3**	21.5**	52.5**	1.957**	38.21**	36.4*	446.7**
	200	89.4*	10.2**	21.9**	53.4**	1.940**	38.19**	36.6**	494.3**
	300	84.9	10.2**	21.9**	45.7	1.493**	36.32**	36.5*	463.0**
	400	85.7	10.3**	21.5**	47.5	1.777*	36.98**	37.4**	544.0**
	500	82.9**	11.3**	23.1**	55.7**	2.090**	36.14**	38.0**	402.7**
M_3	Control	102.8	9.1	20.6	41.9	1.237	36.06	31.4	721.0
	100	104.6**	9.5**	21.3**	43.1*	1.360**	37.60**	29.3**	685.7**
	200	103.8**	9.8**	21.8**	50.3**	1.583**	38.70**	28.6**	678.3**
	300	99.6**	10.1**	22.1**	45.6**	1.417**	38.58**	28.8**	681.3**
	400	100.1**	10.4**	22.7**	45.7**	1.193	36.84	27.3**	660.0**
	500	98.2**	11.1**	22.7**	51.1**	1.577**	35.68	28.7**	574.3**
M_4	Control	91.5	9.6	21.5	48.9	2.407	41.51	43.0	735.7
	100	100.2**	10.4*	21.2	48.9	2.250	42.00	43.8	709.3
	200	89.8**	10.4*	22.3	55.5**	2.787*	42.11	43.8	788.0*
	300	92.0	10.5**	21.9	47.4	2.250	42.34	43.5	696.3
	400	95.0**	10.8**	22.9*	47.9	2.137	42.54	43.1	734.7
	500	91.4	10.8**	23.5*	49.5	2.790*	42.45	44.0	575.0**

* and **statistically significant differences from control at 5% and 1% level.

The highest NGPS was counted in IBWSN 4 (41.1 no for M_1 at 300 Gy, 55.7 no for 500 Gy in M_2 , 51.1 no for 500 Gy in M_3 and 55.5 no for 200 Gy in M_4). These results collaborate with those of [Ahmad et al. \(2011\)](#) who found a highly significant difference ($p \leq 0.01$) in mixed genotypes showing diverse types of the wheat genotypes. This could be attributed to the different genetic makeup of the three wheat genotypes or be the rearrangement of the genes on the same or other chromosomes. In case of GWPS, in comparison between controls and irradiation treatments, grains weight per spike was significantly increased in the four evaluated generations of IBWSN4 and Bezostaja1, while it reduced in M_1 , M_2 , M_3 and M_4 of Kate A-1. However, these deviations were not systematic as that of NGPS. The highest GWPS was weighted in IBWSN 4 (1.850 g for M_1 at 500 Gy, 2.090 g for 500 Gy in M_2 , 1.583 g for 200 Gy in M_3 and 2.790 g for 500 Gy in M_4). The results also concur with those of [Sobieh and Ragab \(2000\)](#) who explained although they are not regular in the M_2 generation, there is an increase in the grain weight increases with increasing mutation doses.

Table 4. Mean performance and significances of the M₁, M₂, M₃ and M₄ generations of Kate A-1

Generation	Gamma doses	PH (cm)	SL (cm)	NSPS (no)	NGPS (no)	GWPS (g)	HI (%)	TGW (g)	GY (kg da ⁻¹)
M ₁	Control	117.8	9.4	19.3	30.7	1.043	32.47	36.1	427.3
	100	114.0*	9.9**	19.0	30.9	0.870*	24.26**	35.1*	412.3
	200	113.6 **	9.7	18.4**	37.5**	1.237**	34.02 **	35.8	382.0**
	300	103.3**	10.5**	18.1**	33.9	1.200*	34.90 **	36.1	429.3
	400	105.4**	10.5**	20.3**	35.8**	1.250**	31.91	35.0*	362.3**
	500	79.9**	9.6	18.9*	24.7**	0.987	25.32 **	33.0*	195.7**
M ₂	Control	95.9	9.9	19.3	40.2	1.467	35.84	34.5	561.3
	100	95.1	9.8	19.5	40.8	1.480	36.73	33.9	488.7**
	200	88.1**	10.1	19.7	42.6*	1.280*	36.74	33.4	507.7**
	300	89.5**	10.3**	19.5	36.4**	1.317	36.56	33.5	467.7**
	400	87.6**	10.3**	18.6*	34.3**	1.417	36.41	33.1	402.3**
	500	83.3**	10.7**	19.0	35.7**	1.370	35.53	34.4	354.7**
M ₃	Control	116.5	10.2	20.6	47.0	1.373	40.18	30.8	704.3
	100	113.4**	10.8*	20.6	45.8*	1.580**	38.78**	28.9**	660.7*
	200	118.3**	10.2	21.2	36.2**	1.163**	38.59**	29.4*	731.7
	300	112.5**	10.4	21.4*	41.4**	1.350	37.21**	30.3	645.3**
	400	112.3**	10.0	20.5	42.7**	1.483	38.65**	27.5**	623.0**
	500	109.4**	9.4*	19.8*	35.1**	1.200**	37.64**	29.1*	619.3**
M ₄	Control	106.9	9.0	20.2	40.7	1.763	42.34	44.7	689.7
	100	101.4*	9.7*	21.3	49.3**	2.430**	43.48	43.6	687.3
	200	107.3	10.6**	21.5	46.1**	2.613**	43.07	41.6*	695.0
	300	101.8*	10.5**	20.9	45.5**	2.167**	42.74	42.0*	708.0
	400	98.8**	11.1**	20.4	53.3**	2.160**	42.67	40.6**	633.0*
	500	82.5**	10.7**	18.9	34.9**	2.067**	41.66	44.8	618.3**

* and **statistically significant differences from control at %5 and %1 level.

The grain yield can be determined from the components of the biological (biomass) yield and harvest index (Passioura, 1977), and the potential yield of bread wheat has increased due to increases in the harvest index (Gustavo and Andrade, 1989; Curtis, 2002). The HI is considered to be associated with the PH, stem dry weight and straw yield. Reduction in the PH had the greatest effect on the stem dry weight and least on the GY. Reduction in the PH lowered the dry weight of the vegetative parts and thereby lowered the straw yield, which resulted in an increased the HI (Singh and Stoskopf, 1971). Recently, the values of HI have been increased to 40% and even 45%. However, the future purpose is to the increase HI to over 50%. Regarding to the HI, gamma irradiations shifted the mean values from the control towards positive or negative direction depending on genotype and dose, but these siftings were not consistent. Among the genotypes, it was found that the plant treated with gamma irradiated at 200-300 Gy gained the highest increase when compared with control in the Bezostaja 1 and Kate A-1 genotypes except M₂ and M₄ generations. In case of IBWSN4, out of M₄ generation, significant deviations from the controls were observed in the M₁, M₂ and M₃, indicating that the IBWSN4 is more sensitive to gamma irradiations than the other two bread wheat genotypes. These findings are supported by results of Mohammad and Abdollah (2011) who stated that harvest index were affected with different levels of irradiation.

In addition to being a very important yield component, the thousand grain weight is also considered as an important quality criterion and a feature used in the calculation of the amount of seed to be sown in the unit area. Different dose of gamma rays irradiation in three wheat varieties affected TGW differently in different genotype. The highest TGW in the four evaluated generations (M₁, M₂, M₃ and M₄) were 42.8 g for IBWSN4 (500 Gy), 38.6 for Bezostajal (400 Gy), 35.6 for Bezostajal (Control and 100 Gy) and 48.1 for Bezostajal (200 Gy), respectively. In general, gamma irradiations shifted the mean values from the control towards negative direction in all mutated generations of Bezosytajal and Kate A-1, while that of IBWSN4 was towards positive direction, indicating that the effect of irradiation was depressing with increase in irradiation doses, which is transmitted from generation to

generation (Ayub et al., 1989).

Radiation in general reduced the grain yield (Table 2, 3 and 4). In all the genotypes gamma rays displayed progressive decrease with the increase of radiation dosage in all the cases except 100 and 200 Gy treatment where the character showed some improvement over the control in M₁, M₂, M₃ and M₄. Yield is a dependent character, and is the result of all the biological processes going on during the growth and development of plant (Scarascia-Mugnozza, 1964). The general trend of reduced yield among the mutagenic treated material could be due to pleiotropic effects (Brock, 1965; Gaul, 1977) on other characters. However, the present results suggest that the lower doses of gamma rays in general and 100-200 Gy treatment in particular can be useful from breeding point of view for selecting higher yielding plants in early generations. Gamma-rays are effective in broadening genetic variability and increasing means of wheat cultivars for grain yield and its components, helping plant breeders to practice an efficient selection in the M₂ and next mutated generations (Sobieh, 2002; Al-Naggar et al., 2007). From practical breeding point of view increased variation assumes greater significance. Frey (1969) reported that mutagen derived variability for quantitative characters in crop plants is heritable and that the response to selection is good. The relative value of this source of variability for use in crop improvement, therefore, depends almost entirely upon the nature of phenotypic expression caused by the mutations induced at polygenic loci.

Conclusion

The shifts in the M₁, M₂, M₃ and M₄ generations were significantly important than that in the control for the PH, NGPS and GY, indicating that these are the most sensitive to gamma irradiation. In the ascending order, NSPS, SL, HI, TGW and GWPS were the least sensitive characters to the gamma irradiation. The results of the study showed that 200 and 300 Gy irradiation were the most beneficial doses for improving yield and its components.

References

- Ahloowalia, B.S. and M. Maluszynski, 2001. Induced mutations - A new paradigm in plant. *Euphytica*. 118 (2): 167-173.
- Ahloowalia, B.S., M. Maluszynski and K. Nichterlein, 2004. Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica*. 135: 187-204.
- Ahmad, I., F. Mohammad, N.U. Khan, K. Maqbool, A. Naz, S. Shahee and K. Ali, 2011. Comparative study of morphological traits in wheat and triticale. *Pakistan Journal of Botany*. 1:165-170
- Albajes, R., C. Cantero-Martínez, T. Capell, P. Christou, A. Farre, J. Galceran, A.F. López-Gatius, S. Marin, O. Martín-Belloso, M.J. Motilva, C. Nogareda, J. Peman, J. Puy, J. Recasens, I. Romagosa, M.P. Romero, V. Sanchis, R. Savin, G.A. Slafer, R. Soliva-Fortuny, I. Vinas and J. Voltas, 2013. Building bridges: an integrated strategy for sustainable food production throughout the value chain. *Mol. Breed.* 32: 743-770.
- Al-Naggar, A.M.M., M.M. Atta, A.M. Shaheen and K.F. Al-Azab, 2007. Gamma rays and EMS induced drought tolerant mutants in bread wheat. *Egypt. J. Plant Breed.* 11 (3): 135-165.
- Ayub, M., S. Rehman and A.D. Khan, 1989. The response of different wheat varieties to gamma irradiation in relation to yield. *Journal of Gomal University Research*. 9: 77-84.
- Bano, S., Z.A. Soomro, A.A. Kaleri, R. Akram, S. Nazeer, A.L. Laghari, I.A. Chandio, R. Keerio and N.A. Wahocho, 2017. Evaluation of M2 wheat (*Triticum aestivum* L.) mutants for yield and its contributing traits. *Journal of Basic & Applied Sciences*. 13: 359-362.
- Başer, İ., O. Bilgin, E. Sara ve Ö. Yorgancılar, 1997. Uzun boylu makarnalık buğday çeşitlerine uygulanan farklı dozdaki gamma ışınlarının bitki boyu, tane verimi ve bazı tarımsal özellikler üzerine etkisi, II. Tarla Bitkileri Kongresi, Samsun, 25-27 Eylül, 26-31.
- Borojevic, K. and S. Borojevic, 1972. Mutation breeding in wheat. In "Induced Mutations and Plant Improvement". Proc. Panel Meeting, Buenos Aires, IAET/FAO, Vienna, pp. 237-249.
- Braun, H.-J., G. Atlin and T. Payne, 2010. Multi-location testing as a tool to identify plant response to global climate change. In: Reynolds, M.P. (Ed.), *Climate Change and Crop Production*. CABI, Wallingford, UK, pp. 115-138.
- Brock, R.D., 1965. Induced mutations affecting quantitative characters. In the use of induced mutations in plant breeding. *Radiation Botany (Suppl.)*. 5: 451-464.
- Calderini, D.F., M.F. Dreccer and G.A. Slafer, 1995. Genetic improvement in wheat yields and associated traits. A re-examination of previous results and the latest trends. *Plant Breed* 114:108-112 Connor, D.J., Mínguez M.I. (2012). Evolution not revolution of farming systems will best feed and green the world. *Global Food Secur.* 1, 106-113.
- Chakraborty, N.R. and A. Paul, 2013. Role of Induced Mutations for Enhancing Nutrition Quality and Production of Food. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*. 4(1): 091-096.
- Chand, R., 2009. Challenges to ensuring food security through wheat. *CAB Rev.: Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour.* 4.
- Connor, D.J. and M.I. Minguez, 2012. Evolution nor revolution of farming systems will best feed and green the world. *Global Food Secur.* 1: 106-113.
- Curtis, B.C., 2002. Wheat in the world. In B. C. Curtis, S. Rajaram, & H. Gomez Macpherson (Eds.), *Bread wheat improvement and production* (p. 544). Rome.
- Farag, I.A.A. and A.A.H. El-Khawaga, 2013. Influence of gamma irradiation and nitrogen fertilizer levels on Gemmeiza-9 wheat cultivar. Yield and its attributes. *Arab Journal of Nuclear Science and Applications*. 46 (2): 363-371.
- Fischer, R.A., 2011. Wheat physiology: a review of recent developments. *Crop Pasture Sci.* 62: 95-114.
- Frey, K.J., 1969. Release of mutagen-induced genetic variability in oats by outcrossing. *Japan J. Genet.* 44: 396-403.
- Gaul, H., 1977. Mutagen effects in first generation after seed treatment. In: *Manual of Mutation Breeding*. Tech. Report Series No. 119. IAEI, Vienna, Austria, pp. 87-96.
- Githinji, G.G. and R.K. BIRTHIA, 2015. Effects of induced mutagenesis and single crossing on agronomic traits of wheat (*Triticum Aestivum* L.). *Journal of Agriculture and Life Science*. 2(2): 31-37.
- Gustavo, A.S. and F.H. Andrade, 1989. Genetic improvement in bread wheat (*Triticum aestivum*) yield in Argentina. *Field Crops Research*. 21: 289-296.
- Jain, S.M., 2006. Mutation-assisted breeding in ornamental plant improvement. *Acta Hort.* 714: 85-98.
- Khanna, V.K., G.C. Bajpai and S.M. Hussain, 1986. Effect of gamma radiation on germination and mature plant characters of wheat and triticale. *Haryana Agricultural University Journal of Research*. 16 (1): 42-50.
- Louali, Y., N. Belbekri, R. Bouldje, N. Ykhlef and A. Djekoun, 2015. Effect of gamma irradiation on morphological, biochemical, physiological character and cytological studies, of durum wheat mutants. *Int. J. Advanced Res.* 3(10): 246-256.
- Mohammad, F., S.M.A. Shah, S.M. Swati, T. Shehzad and S. Iqbal, 2004. Genotypic variability for yield and morphological traits in bread wheat. *Sarhad J. Agric.* 20(1): 67-71.
- Mohammad, M.R. and B. Abdollah, 2011. Influence of gamma irradiation on some physiological characteristics and grain protein in wheat (*Triticum aestivum* L.). *World Appl. Sci. J.* 15: 654-659.
- Passioura, J. B., 1977. Grain yield, harvest index and water use of wheat. *The Journal of the Australian Institute Agricultural Science*. 43: 117-121.
- Rachovska, G. and D. Dimova, 2000. Effect of sodium azide and gamma rays on M1 quantitative characteristics of the productivity and their connection with M2 mutation changes in winter common wheat. *Rasteniev dni Nauki*. 37(7): 413-419.

- Sakin, M.A. and A. Yildirim, 2004. Induced mutations for yield and its components in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Food, Agric. and Environ. 2(1): 285-290.
- Sakin, M.A., S. Gokmen and A. Yildirim, 2005. Investigation of mutants induced in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) for yield and some agronomic and quality traits. Asian Journal of Plant Sciences. 4(3): 279-283.
- Scarascia-Mugnozza, G.I., 1964. Induced mutations in breeding for lodging resistance. In: Use of induced mutations in plant breeding. Rad. Bot. 5: 537-558.
- Shubhra, S., R.M. Marker, Y.B. Abrar and K. Akhilesh, 2013. Induced mutation through gamma irradiation at different doses to create genetic variability and study the improvement in yield and yield attributes of genotype HD 2867. Trends in Bio-Sciences. 6(1): 65-67.
- Sial, M.A., M.A. Arain, M.U. Dahot, G.S. Markhand, K.A. Laghari, S.M. Mangrio, A.A. Mirbahar and M.H. Naqvi, 2010. Effect of sowing dates on yield and yield components of bread wheat. Pak. J. Bot. 42(1): 269-277.
- Siddiqui, K.A., M.A. Rajput and K.H. Tahir, 1979. Inter relationships of straw architecture with grain yield of wheat mutants. Genet. Agraria. 33: 221-330.
- Singh, I.D. and N.C. Stoskopf, 1971. Harvest index in cereals. Agron. J. 63: 224-226.
- Slade, A.J., S.I. Fuerstenberg, D. Loeffler, M.N. Steine and D. Facciotti, 2005. A reverse genetic, nontransgenic approach to wheat crop improvement by tilling. Nat. Biotechnol. 23: 75-81.
- Sobieh, S.S. and A.I. Ragab, 2000. Gamma rays induced variability in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Seventh Conference of Arab J. of Nuclear Sci. and Applications 6-10 February, Cairo, Egypt, (1,2,3) 1341.
- Sobieh, S.S., 2002. Induction of short culm mutants for bread wheat by using gamma rays. Arab Journal of Nuclear Sciences and Applications. 35(1): 309-317.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie, 1980. Principle and procedures of statistics: A Biometrical Approach. McGraw Hill Book Co. Inc. New York. pp: 232-249.
- Suzuki, T., M. Eiguchi, T. Kumamaru, H. Satoh, H. Matsusaka, K. Moriguchi, 2008. MNU-induced mutant pools and high performance tilling enable finding of any gene mutation in rice. Mol. Genet. Genomics. 279: 213-223.
- van Harten, A.M., 1998. Mutation Breeding: Theory and practical application. Cambridge University Press. Cambridge.