

ISSN 1300-5413



**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DERGİSİ**

**YUZUNCU YIL UNIVERSITY  
JOURNAL OF THE INSTITUTE OF  
NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

Yıl/Year: 2007

Cilt/Volume: 12, Sayı/Number: 1

VAN / TÜRKİYE

**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DERGİSİ**

**YUZUNCU YIL UNIVERSITY  
JOURNAL OF THE INSTITUTE OF  
NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**YIL/YEAR: 2007**

**Cilt / Volume : 12, Sayı / Number : 1**

**VAN/TÜRKİYE**

**SAHİBİ (OWNER) : Rektör**  
Prof. Dr. Hasan CEYLAN

**Editör (Editor) : Enstitü Müdürü**  
Doç. Dr. Nahit AKTAŞ

**Yayın Kurulu (Editorial Board)**

Doç. Dr. Nahit AKTAŞ  
Prof. Dr. Bekir TİLEKLİOĞLU  
Doç. Dr. Hüdayi YILMAZ  
Yrd. Doç. Dr. M. Fatih ÇELEN  
Yrd. Doç. Dr. M. Sedat BEKİROĞLU

**Bilimsel Danışma Kurulu( Advisory Board)**

Prof. Dr. Nezaket ADIGÜZEL	Gazi Üniversitesi, Fen - Edebiyat Fakültesi
Prof. Dr. İ. Zafer ARIK	Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. Abdurrahman TANYOLAÇ	Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi
Prof. Dr. Abdülkerim KARABAKAN	Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi
Prof. Dr. Tuna EKİM	İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi
Prof. Dr. Mehmet ERTUĞRUL	Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. Kadir HAKMAN	Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. Şefik TÜFENKÇİ	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. A. Ömer KOÇAK	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen - Edebiyat Fakültesi
Prof. Dr. Metin KURLU	Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Türker SAVAŞ	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen - Edebiyat Fakültesi
Prof. Dr. Işık TEPE	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. Ruşen USTAOĞLU	Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Mecit VURAL	Gazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi
Prof. Dr. Hasan YUMAK	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik - Mimarlık Fakültesi
Doç. Dr. Aşkın KOR	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ	Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Ankara
Doç. Dr. Murat SİPAHİOĞLU	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Van
Prof. Dr. Hayrettin OKUT	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Van
Yard. Doç. Dr. Sıddık KESKİN	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Van
Doç. Dr. Aydan YILMAZ	Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ankara
Prof. Dr. Murat GÖRGÜLÜ	Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Adana
Prof. Dr. Bahşeli GULİYEV	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Van
Prof. Dr. Necmettin CEYLAN	Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ankara
Yard. Doç. Dr. Filiz KARADAŞ	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Van
Yard. Doç. Dr. Nazmi TEKELİOĞLU	Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Adana
Prof. Dr. Serap PÜLATSU	Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ankara
Doç. Dr. Hüdayi YILMAZ	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Van
Doç. Dr. Kenan YILDIZ	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, TOKAT
Doç. Dr. Semra DEMİR	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Van

**Yazı İşleri (Typesetting)**  
Nuray TEMİZAY - Yunus ARDIÇ

**Yazışma Adresi (Correspondence Adress)**

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 65080, VAN

Telefon : 0 (432) 225 11 21

Fax : 0 (432) 225 11 23

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. <b>M-Plus'ta Latent Class Analizlerin Uygulamasına İlişkin Bir Örnek Çalışma</b> .....	1-9
The Application of Latent Class By Using M-Plus Programme : A Case Study <i>Murat KAYRI</i>	
2. <b>İnsan Patojeni <i>Escherichia coli</i> İzolatlarının Fenotipik Özellikleri, Plazmit ve Protin Profillerine Göre Karakterizasyonu</b> .....	10-15
Characterization of Human Pathogenic <i>Escherichia coli</i> Isolates According to Phenotypic Properties, Plasmid and Protein Profiles <i>İsmet BERBER, Akın ÖTER</i>	
3. <b>Nematik Sıvı Kristal Bir Filmin Elektro-Optik Özelliklerinin İncelenmesi</b> .....	16-23
Investigation of Electro-Optical Properties of a Nematic Liquid Crystal Film <i>Nilay ÖZÇANKAYA, Rıdvan KARAPINAR</i>	
4. <b>Perovskit Yapıdaki Kristallerde İzotop Yerleştirmenin Etkisi</b> .....	24-27
Effect of Isotope Investigation in Perovskite Type Crystals <i>Bahattin ERDİNÇ</i>	
5. <b>Enzimlerin Silaj Katkı Maddesi Olarak Kullanımı</b> .....	28-31
Enzymes Usage as Silage Additives <i>Mehtap GÜNEY, Murat DEMİREL</i>	
6. <b>Kanatlı Hayvan Beslemede Fitin Fosforu ve Fitaz Enziminin Önemi</b> .....	32-39
The Importance of Enzyme in Poultry Nutrition <i>Tülay ÇİMRİN, Murat DEMİREL</i>	
7. <b>Van İli'nde Kırsal Kalkınma Amacıyla Kurulan Gökkuşluğu Alabalığı, <i>Oncorhynchus mykiss</i>, İşletmelerinin Genel Durumları, Sorunları ve Çözüm Önerileri</b> .....	40-44
The Status, Problems and Proposals of the Small Scale Rainbow Trout Farms, Supported the Countryside of Van Province <i>Şenol GÜZEL, Kenan GÜLLÜ</i>	
8. <b>Patlıcanda <i>Verticillium</i> Solgunluğuna Dayanıklılık ile Kallus Kültüründe Solavetivon Birikimi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi</b> .....	45-53
Investigation on the Relationship Between Resistance to <i>Verticillium</i> Wilt and Solavetivone Accumulation in Callus Culture of Eggplants <i>Sevinç USLU-KIRAN, Şebnem ELLİALTIOĞLU, F.Sara DOLAR, A.Sülün ÜSTÜN, Ülkü MEHMETOĞLU, Harun BAYRAKTAR</i>	
9. <b>Fasulye Genotiplerinin (<i>Phaseolous vulgaris</i> L.) Artan Tuz Konsantrasyonu ve Farklı Zamanlardaki Gelişim Performansları</b> .....	54-58
Growth Performance Dependent on Different Times and Increased Salt Concentration for Bean Genotypes dried with different procedures <i>Fikret YAŞAR, Şebnem ELLİALTIOĞLU, Özlem Gürbüz KILIÇ, Özlem UZAL</i>	
10. <b>Karpuz (<i>Citrullus lanatus</i>) Genotiplerinde, Tuz Stresinden Kaynaklanan Oksidatif Zararlanmanın Zamana Göre Değişimi ve Skala ile İlişkinin Belirlenmesi</b> .....	59-64
Determination of Relation with Scala and Exchange of According to the Time of the Oxidatife Damage from salt Stres in Watermelon Genotypes <i>Fikret Yaşar, Şebnem Ellialtıoğlu, <sup>1</sup>Taylan Özpay, <sup>1</sup>Özlem Uzal</i>	



# M-Plus'ta Latent Class Analizlerin Uygulanmasına İlişkin Bir Örnek Çalışma

Murat KAYRI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Bilgisayar Bölümü, Van

**Özet :** Popülasyona uygulanacak olan test istatistiğinin ve bu test istatistiği doğrultusunda kurulacak olan modele ait parametre tahminlemesinin doğru ve sağlam bir zeminde ele alınması dikkat edilmesi gereken bir unsurdur. Popülasyonu meydana getiren birey ya da değişkenlerin benzer özellikler taşımadığı durumlarda; tek gibi gözükən popülasyonun alt popülasyonlara bölünmesi istatistik süreç açısından daha sağlıklı sonuçlar üretebilmektedir. Zira, alt popülasyonlar için elde edilen tanımlayıcı istatistik sonuçları ve parametre tahminlemeleri daha sağlam (robust) olabilmektedir. Bu çalışmada, heterojen bir veri setinin, homojen olan alt-popülasyonlara (latent class) bölünmesini hedef alan karışımli modelin M-Plus yazılımında uygulanabilirliği ele alınmıştır. Ayrıca, M-Plus'ta karışımli modelin nasıl kodlandığı ve bu kodlamaların ne anlam içerdiği de tartışılmıştır. Araştırmacıları karışımli modelleri uygulamaya teşvik amacıyla, modelin literatür bildirişleri özenle seçilmiş; modelin matematiksel ve mantıksal boyutları da etraflıca irdelenmiştir. Özellikle heterojen olan popülasyonu, ideal homojen alt sınıflara (sub-population) ayırmada uyum kriterleri (Akaike Bilgi Kriteri, Bayesian Bilgi Kriteri ve Log-olabilirlik) örneklem üzerinde vurgulanmıştır. Örneklem, heterojen olan sürekli ve kesikli değişkenlerden oluşan 643 birey tarafından oluşturulmuştur. Bu çalışma sonucunda; analiz yapılacak olan veri setinin büyüklüğü durumunda; veri setinin heterojenliği riskini yok etmek üzere ve bu anlamda elde edilen homojen alt-sınıfların regresyon denklemlerinin ve parametre tahminlemelerinin Latent Class (mixture models) tekniği tarafından M-Plus ortamında sağlıklı bir şekilde yapılabileceği kanısına varılmıştır.

**Anahtar sözcükler :** Karışımli model, latent class, M-Plus, uyum kriteri

## The Application of Latent Class By Using M-Plus Programme : A Case Study

**Abstract :** It is considered to be important to handle the test statistics that is going to be applied to population and the parameter estimation statistics on an accurate and robust manner. If individuals or variables do not carry some similar features then searcher must use some clustering method. By this way a heterogeneous population is divided into enough homogeneous sub-population. And the result of descriptive statistics and parameter estimation will be more robust and coherence. In these cases, using latent class statistics contribute to obtain robust parameter estimation. Also it provides the homogeneity assumption. Especially, the mixture model was studied on this article which belongs to the latent class. The purpose of mixture model is to divide heterogeneous population into homogeneous sub-populations. At the same time, in this article it was explained how to construct a mixture model by using M-Plus programme. To encourage the use of the mixture model in the educational sciences, the references of the mixture model were selected fastidiously and the mathematical, and logical dimensions of this model were explained comprehensively. In this study, a mixture model which means heterogeneous verdict is divided into homogeneous subpopulations (latent class) is used in an experimental study which is consisted of 643 individuals who are registered with an educational department. In this study, Akaike's Information criterion, Bayesian Information criterion and Log-likelihood terms were identified well. At the end of the study, the article concludes that the mixture model seems to be more efficient in analysing the similar data and verdict analysed in this study for experimental studies.

**Key Words:** Mixture model, latent class, M-Plus, information criterion

## Giriş

Latent class analizler benzer özellikleri taşıyan bireylerin kategorize edilip, kategorize edilen bu bireylerin ayrı sınıflar şeklinde tanımlanması şeklinde düşünülebilir (Nylund ve ark. 2006; Clogg 1995; Lazarfelds ve Hanry 1968). Yine benzer şekilde Latent class modellerin (mixture models) genel teması, dağılımın ilk etapta sayısı bilinmeyen sınıflara ya da alt-sınıflara (latent class) bölünmesi şeklindedir (Everitt ve Hand 1981; Titterington, Smith ve Markov 1985). Bilindiği üzere istatistiksel algoritmalara ait gelişmeler daha çok model kurmaya yönelik olup, söz konusu bu modellerin istatistik paket programlarında analiz edilebilirliği yine gelişmekte olan bir sektör konumuna gelmiştir. Latent class analizlerin, örneğin karışımli model (mixture modeling) gibi analizlerin uygulanabildiği önemli yazılımlardan biri M-Plus paket programıdır. Genel itibarıyla M-Plus yazılımının tercih edilme sebebi; kullanımı kolay bir ara yüz desteği ile istatistikçinin matris işlemlerine (matrix algebra) ve istatistik formüllerine ihtiyaç duymaması ve araştırmacıya çok güçlü bir model yapısı sunabilmesidir (Muthen ve ark. 2006). Ayrıca M-Plus, farklı analiz tekniklerini de bünyesinde barındırabilmektedir: Yapısal eşitlik modelleri

(structural equation model), latent class (finite mixture; sonlu karışımli modeller), çok seviyeli modeller (multilevel modeling) ve yaşam analizleri (survival analysis) M-Plus'ın bünyesinde barındırdığı ileri düzey istatistik analizlerdir (Muthen ve ark. 2006). 1998 yılında Muthen tarafından geliştirilen M-Plus yazılımı her yıl yapısına yeni modüller eklemektedir. Esnek bir yapıya sahip olan M-Plus gelişen istatistik algoritmalarına karşı kendisini en hızlı şekliyle yenileyebilmektedir. Özellikle sürekli ve kategorik latent değişkenleri aynı anda modele dahil edebildiğinden araştırmacıya genel bir model yapısı sunabilmektedir (Muthen 2001; Muthen ve Muthen 1998; Muthen ve Muthen 2002).

İlk etapta genetik çalışmalar için geliştirilen latent class analizler, daha sonradan sosyal alanlar içinde kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle heterojen olan büyük veri setleri için homojen olan alt popülasyonların elde edilmesinde latent class (mixture model) analizlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Yine aynı şekilde elde edilen her alt sınıf için bir takım algoritmalar (Expectation Maximization gibi) vasıtası ile sağlam ve sapmasız



(unbiased) parametre tahminlemesi yapılabilmektedir (Duncan ve ark. 2002; Yeşilova 2003). Bu yönüyle latent class analizler; kitenin değişim sürecinin anlaşılması kadar, değişimdeki bireysel farklılıkların da tanımlanmasını içermektedir (Baltes ve Nesselroade 1979; Collins ve Horn 1991). Çünkü, popülasyon alt sınıflara bölünüp, uç bireyler de ayrı bir alt sınıfta değerlendirilmektedir. Geleneksel metotlarda bu durumu gözlemek mümkün olamamaktadır. Kategorik (kesikli) ve sürekli verileri bir arada modelde yürütebilen latent class modeller (karışımli model); aynı zamanda lojistik regresyon modelini de, indikatör ( $u_i$ ) desteği ile yürütebilmektedir. Bağımlı değişkenin 1 ya da 0 gibi (binary trait) Bernoulli model içermesi durumunda da karışımli model  $U_i$  şeklinde bir indikatör tanımlamasıyla sağlam (robust) parametre tahminlemeleri yapabilmektedir (Zhang ve Merikangas 2000). Bilindiği üzere, lojistik regresyon modeli, "bir veya daha fazla kesikli veya sürekli bağımsız değişken ile kesikli bir bağımlı değişken arasındaki ilişkiyi incelemektedir" (Topuz ve Çakır 2002). Karışımli model ise, bu analizlerin özelliklerini kapsamaktadır ve "bu modelin üstünlüğü hususunda: şansa bağlı (random) fenomenler ışığında geniş varyasyonlu, Gaussian iterasyon tabanlı ve matematik merkezli yaklaşımı ile vazgeçilmez bir yöntemdir" yaklaşımı hâkimdir (Peel ve McLachan 2000). Lindsay (1995), özellikle biyoloji, psikoloji ve genetik çalışmalarda karışımli modelin yaygın olarak parametre tahminlemelerinde kullanıldığı vurgulanmaktadır.

Duncan ve arkadaşları (2002), genel itibarıyla latent class analizlerin aşamalarını; popülasyona ait alt sınıfların sayısının belirlenmesi (number of class), gözlenen değişkenlerin ilgili sınıflara düşme olasılıkları, gözlenen değişken ya da bireylerin hangi alt sınıflara yerleştirildiği ve son olarak model uyumunun yapılması (fit of model) şeklinde belirlemişlerdir.

Literatürde bilinen maksimum olabilirlik tahminleyicinin bünyesinde yürütmüş olduğu expectation maximization (EM) algoritması ile modelde düşünülen parametreler tahminlenebilmektedir. M-Plus karışımli modeller için kullanılan bu tür algoritmaları basit bir komut satırı ile yürütebilmektedir. Benzer şekilde, latent class analizlerinde kullanılan diğer algoritmalar da (parametre tahminlemesi için) M-Plus'ta işlenebilmektedir.

Bu çalışmada, latent class analizlerin (örneğin, karışımli modeller) M-Plus'ta uygulanabilirliğini göstermek üzere, genel itibarıyla M-Plus'ın kod yazılımı (syntax) ve bu kodların ne anlam ifade ettiği açıklanmaya çalışılmıştır. Ayrıca, popülasyona ait bilinmeyen alt sınıf sayısının tespiti için kullanılan bir takım kriterlerin (Akaike's Information Criterion ve Bayesian Information Criterion) hem matematiksel modeli, hem de analiz sonucu elde edilen bu değerlerin nasıl yorumlanabileceği ele alınmıştır. Bununla birlikte EM algoritması da matematiksel boyutuyla açıklanmaya çalışılmıştır.

## Materyal ve Yöntem

Çeşitli değişkenlerden oluşan ve homojen olmayan bir veri seti (643 birey) materyal olarak kullanılmıştır. Bu veri setinin EM algoritması ile sonlu karışımli modelde nasıl homojen sınıflandığı da yöntem olarak belirlenmiştir. Deneme deseninde kullanılan değişkenler kesikli ve sürekli formda olup; bireylere ait olan Öss puanı bağımlı değişken, lise başarı puanı, anne ve baba mesleği,

yaşadıkları bölge, mezun oldukları lise kolu ise bağımsız değişken konumundadır. Ayrıca optimal sınıf sayısının belirlenmesinde kullanılan Akaike ve Bayesçi bilgi kriterleri de M-Plus yazılımı tarafından belirlenmiştir.

**Karışımli modelin (mixture models) özellikleri :** Latent class analiz çeşidi olan karışımli modellerde bireylerin alt sınıflarda olma olasılıklarını belirlemeye çalışılmaktadır. Veri setinin dağılışı formuna bakılmaksızın multinomial logit dağılışı kullanılarak, c. alt sınıf ile x arasındaki bağlantı kurulur (Wang ve ark. 1998; Chan ve Kou 2001; Yeşilova 2003). N (örnek büyüklüğü) verildiğinde multinomial logit dağılışında  $c_i$ 'nin olasılık dağılışı,

$$P\{C_{i1}=c_{i1}, C_{i2}=c_{i2}, \dots, C_{iK}=c_{iK}\} = \binom{N}{c_{i1}, \dots, c_{iK}} \pi_{i1}^{c_{i1}} \dots \pi_{iK}^{c_{iK}} \quad (1)$$

elde edilir (Duncan ve ark. 2002). Multinomial logit için model,

$$\pi_k = \frac{\exp\{\nabla_{ik}\}}{\sum_{k=1}^K \exp\{\nabla_{ik}\}} \quad (2)$$

yazılır (Duncan ve ark..2002). Burada,

$$\nabla_{ik} = \log \frac{\pi_{ik}}{\pi_{iK}} \quad \text{olmaktadır (Duncan ve ark. 2002).}$$

Parametre tahminleri için kullanılan EM algoritmasında log-olabilirlik tabanlı maksimum olabilirlik kullanılmaktadır. Bütün veriler için log-olabilirlik fonksiyonu,

$$L(Y, X, \beta, \pi) = \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^K C_{ik} \log \pi_k + \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^K C_{ik} \log P(y_i / \lambda_i) \quad (3)$$

gibi ele alınır ve bu olabilirlik parametre tahmininde kullanılır (Yeşilova 2003). 3 numaralı eşitlikte,  $C_{ik}$  gözlenemeyen (unobserved) gözlemler olup,  $C = \{c_{ik}, i = 1, 2, \dots, n; k = 1, 2, \dots, K\}$  olarak ele alınmalıdır.

Yine aynı şekilde c ile x arasındaki logit bağıntısı ise aşağıdaki gibi elde edilir:

$$P(c_{ik} = 1 | x_i) = \frac{\exp(a_{ck} + \gamma_{ck} x_i)}{\sum_{k=1}^K \exp(a_{ck} + \gamma_{ck} x_i)} \quad (4)$$

olarak elde edilir (Duncan ve ark. 2002). Bu denklemdeki  $C_{ik}$  aşağıdaki gibi düşünülebilir:

$$C_{ik} = 1 \quad C_{ik} \in K \\ C_{ik} = 0 \quad \text{diğer hallerde}$$

Karışımli modellerde parametreler tahmindikten sonra

$Y_{(ij)} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \dots + \beta_n X_n$  gibi bir regresyon modeli tanımlanabilmektedir. M-Plus yazılımının tamamlanıp, programın çalıştırılmasından sonra model için ortalama değer (intercept;  $\beta_0$ ) ve diğer değişkenler için parametre katsayıları ( $\beta_1, \beta_2, \beta_3$  gibi) tespit edilmektedir. Sadece veri kümesi ortalaması esas alınıp alt popülasyonlar oluşturulabilirdiği gibi, hem ortalama hem de varyans birlikte esas alınıp alt popülasyonlar oluşturulabilir. Sadece ortalamaya göre oluşturulan

uygulama çok değişkenli istatistikte kullanılan kümeleme (cluster) veya profil analizinden çok farklı bir durum göstermemektedir. Bu nedenle verilerin hem ortalaması hem de varyansı dikkate alınarak multinomial logit prensipler uygulanıp, sınıflandırma (alt populasyonlara ayırma) yapmak daha karışık olmasına karşın homojen alt populasyonlar oluşturmada en uygun yol olmaktadır (Yeşilova 2003).

**EM (Expectation Maximization):** Modele ait log-olabilirlik fonksiyonunun maksimizasyonu EM algoritması ile tespit edilebilmektedir. Log-olabilirlik temeli doğrultusunda AIC ve BIC değerleri de tespit edilebilmektedir. Yine aynı şekilde modele ait parametre tahminleri de EM ile yapılmaktadır. EM algoritması E (Expectation) ve M (Maximization) aşamalarından oluşup; E aşaması heterojen olan veri setinin ideal olan homojen alt-sınıf sayısını belirlemede kullanılmaktadır. M aşaması ise bu tahminlemeyi maksimize etmektedir. Yani, gözlemlerin gözlenemeyen bireylerini eksik gözlem olarak kabul ederek ve model için tüm veri seti oluşturularak işlem yapılmaktadır (Dhanavanthan 2000).

EM algoritması E ve M aşamalarında oluşan bir iteratif işlemi kullanarak parametrelerin en çok olabilirlik tahminlerini elde etmektedir. E aşamasında, gözlenmiş veriler üzerinde koşullu beklenen değerleri ile eksik gözlemler türetilir. M aşamasında ise tüm veriler için beklenen log olabilirliği maksimize eden parametreler elde edilir (Dempster ve ark. 1977; Jansen 1993; Jamshidian ve Jennrich 1997; Yeşilova 2003).

Karışıklı modellerde kullanılan EM algoritmasının aşamaları aşağıdaki gibi verilebilir.

Birinci aşama için (Expectation aşaması),  $\beta^{(0)}$  ve  $\pi^{(0)}$  başlangıç değerleri belirlenir. E aşamasında,  $\beta^{(0)}$  ve  $\pi^{(0)}$  başlangıç değerleri verildiğinde (X,Y) gözlenmiş verileri ve parametrelerin başlangıç değerleri üzerinden, C eksik gözlemleri elde edilir.  $\hat{C}_{ijk}(\beta^{(0)}, \pi^{(0)})$  kullanılarak Ci'nin k'inci unsurunun koşullu olasılığı,

$$P(\text{kategori } k \mid y_i) = \frac{f(y_i | \text{kategori } k) P(\text{kategori } k)}{\sum_{k=1}^K f(y_i | \text{kategori } k) P(\text{kategori } k)} \quad (5)$$

$$\hat{C}_{i,k}(\beta^0, \pi^0) = \frac{\pi_k f_k(y_i | x_i, \beta_k^{(0)})}{\sum_{k=1}^K \pi_k f_k(y_i | x_i, \beta_k^{(0)})}, k=1,2,\dots,K \quad (6)$$

biçiminde verilebilir (Yeşilova 2003). Maksimizasyon (M) aşamasında ise,

$$\left\{ C_i(\beta^{(0)}, \pi^{(0)}) = (C_{i,1}, \dots, C_{i,K})'; i = 1, 2, \dots, n \right\}$$

koşullu olasılıklar verilmişken, parametre tahminleri log olabilirlik fonksiyonunun  $\beta$  ve  $\pi$ 'ya göre maksimize edilmesiyle,

$$Q(\beta, \pi | \beta^{(0)}, \pi^{(0)}) = E\{L(Y, C, \beta, \pi, X) | Y, X, \beta^{(0)}, \pi^{(0)}\} \quad (7)$$

$$Q = Q_1 + Q_2 \quad \text{ve} \quad \text{buradan,}$$

$$Q_1 = \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^K \hat{C}_{i,k}(\beta^{(0)}, \pi^{(0)}) \log(\pi_k) \quad (8)$$

$$Q_2 = \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^K \hat{C}_{i,k}(\beta^{(0)}, \pi^{(0)}) \log(y_i / \lambda_k) \quad (9)$$

biçiminde elde edilir (Yeşilova 2003). Aynı şekilde Yeşilova (2003),  $\hat{\beta}$  ve  $\hat{\pi}$  tahmin edicileri için denklemin aşağıdaki gibi sürdürülmesini vurgulamaktadır:  $Q_1$  ve  $Q_2$  eşitliklerinin  $\pi$  ve  $\beta$ 'ya göre türevlerinin alınması ile,

$$\frac{\partial Q_1}{\partial \pi_k} = \sum_{i=1}^n \left( \frac{\hat{C}_{i,k}}{\pi_k} - \frac{\hat{C}_{i,K}}{\pi_K} \right) = 0, k=1, \dots, K-1 \quad (10)$$

$$\frac{\partial Q_2}{\partial \beta} = \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^K \hat{C}_{i,k} \frac{\partial}{\partial c} P(y_i | \lambda_k) = 0 \quad (11)$$

şeklinde elde edilir. 6 numaralı eşitlik kullanılarak  $\pi_k$ ,

$$\pi_k = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \hat{C}_{i,k}, k=1, \dots, K-1 \quad (12)$$

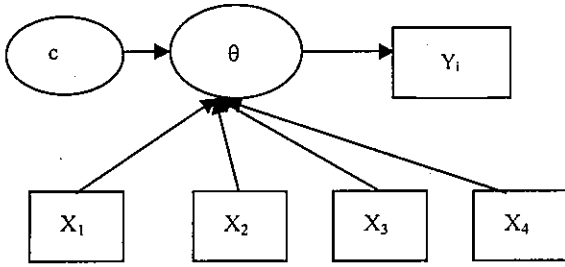
biçiminde elde edilmektedir (Wang ve Putterman 1998; Yeşilova 2003). EM algoritmalarının çözümü için yukarıdaki eşitliklerin dışında da bazı formüller geliştirilmiş olup, diğer formüller, yukarıdaki formun kapalılığını basitleştirmek üzere geliştirilmiştir. Diğer formüller de, yukarıda olduğu gibi E ve M aşamalarını ayrı ayrı ele almaktadır.

Karışıklı modellerde kullanılan diğer algoritmalarından biri de Quasi olabilirlik (Quasi likelihood). Quasi olabilirlik de, EM'de olduğu gibi tahminleme yapan algoritmalarıdır. Karışıklı modellerde, mevcut veri setinin kaç alt sınıfa ayrılacağı bilinmez; eğer K bilinmiyorsa, o zaman EM ya da Quasi olabilirlik (Quasi Likelihood) analizi yapılır. Model farklı alt populasyon sayıları için çalıştırılır ve bir takım uyum iyiliği ölçütlerine göre populasyonun, kaç alt-populasyona bölünebileceğine karar verilir. Bu uyum kriterlerine daha sonra değinilecektir.

**M-Plus'ta yazılımın (syntax) hazırlanması:** M-Plus'ta yürütülecek olan veri seti programcı tarafından \*.txt formatında hazırlanmalıdır. Bu yazılımda bağımlı, bağımsız değişkenler ve kovaryans ilişkilerinin (Xi) bağımlı değişken (dependent variable) üzerindeki etkiler M-Plus diliyle kodlanır. Karışıklı analiz tekniği ile yürütülecek çalışma iki şekilde yürütülebilmektedir. Alt sınıf sayısını belirlemede her bağımsız değişkenin homojen alt sınıflardaki sadece ortalama ( $\theta$ ) üzerindeki etkileri (koşulsuz; unconditional); modeldeki bağımsız kovaryetlerin hem alt sınıf, hem de ortalama üzerindeki etkileri (koşullu; conditional) şeklinde karışıklı modeller dizayn edilebilir. Bu iki farklı model türü (koşulsuz ve

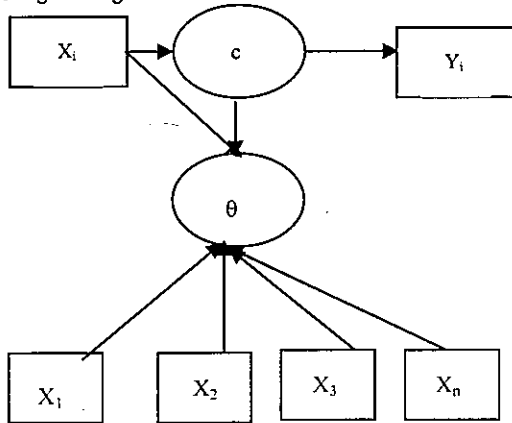


koşullu) Nylund ve arkadaşlarının da (2006) benzer tarzda belirttiği gibi ele alınmaktadır (Şekil 1, şekil 2):



Şekil 1. Bağımsız değişkenlerin Karışımı Model üzerindeki etkisi (koşulsuz).

Şekil 1, karışım modellerde bağımsız değişkenlerin ortalama (intercept) üzerindeki etkisi gösterilmektedir. Bu model koşulsuz sonlu karışım olup;  $X_1, X_2, \dots, X_N$  bağımsız değişkenleri,  $\theta$  alt sınıflara ait ortalama değerini,  $c$  değişkeni de alt sınıfları ve  $Y_i$  değişkeni de modele ait bağımlı değişkeni belirtmektedir. M-Plus'ta modeller hem koşulsuz, hem de koşullu olarak dizayn edilebilmektedir. Deneme desenine ait kurulacak olan modelin koşullu olma durumunda ise bağımsız kovaryetlerin hem sınıf, hem de ortalama üzerine olan etkileri yansıtılır. Bu model şekil 2'deki gibi de gösterilebilir:



Şekil 2. Kovaryet değişkeninin sınıf ve ortalama üzerindeki etkisi (koşullu).

Şekil 2, koşullu karışım modelleri göstermektedir. M-Plus programında yazılım hazırlanırken, modelin koşullu ya da koşulsuz olduğunu belirlemek gerekmektedir. Gözlenen bireylerin uzun bir zaman diliminde (longitudinal data) gözlenmesi söz konusu ise, bu durumda modele eğim parametresi (slope) de eklenebilmektedir. Bu tür modellere de "büyüyen karışım modeller (growth mixture model)" adı verilmektedir. Muthen (2001), büyüyen karışım modeli, yapısal eşitlik modelinin (SEM) ikinci bir üretimi olarak ele alıp, bu modeli SEM'e benzetmektedir. Zaman parametresinin (slope) modele dahil edilmesi durumunda, büyüyen karışım modelin kullanımı sağlıklı parametreler üretecektir (Duncan ve Duncan 1996).

M-Plus'ta karışım model için kullanılacak kodların işlevine değinmek üzere örnek bir veri seti oluşturulmuştur. Bu veri setinde kullanılan bir takım sosyo-demografik değişkenler (nitel) ve yine bu veri setine ait bir takım nicel değişkenler seçilmiştir. Modele dahil edilen

değişkenler hem sürekli hem de kesikli verileri içermektedir. Bu yönüyle latent class analiz hem sürekli hem de kesikli değişkenleri bir anda işleyebilmektedir. M-Plus'ta modelin koşulsuz ya da koşullu olma durumuna göre kodlama yapısı değişmektedir. Bu homojen olmayan veri setine ait alt-popülasyon oluşturma kodlamaları ele alınacak ve aynı zamanda M-Plus'ın çıktısından (output) parametre tahminleme yorumlarına değinilecektir.

M-Plus editöründe örnekleme üzerine uygulanan modele ait kodlar (syntax) aşağıdaki gibidir:

```
Data: File is tum.txt; [Popülasyonun homojen olması durumu]
```

```
Variable: Names are birey kimlik OSS
          OOBP alan milli derece
          cins mekiksay tmek kan
          boy kilo babames anames bolge liscik;
Missing = All (-9);
Usevariables OSS OOBP cins babames anames
bolge liscik;
```

```
Classes = c(1);
Analysis: Type = mixture;
Estimator=MLR;
          miteration = 55000;
```

```
Model: %overall%
       ! [OSS];
       OSS;
```

```
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c1# on OOBP cins babames anames bolge liscik;
```

```
%c#1%
[OSS*195];
! [pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge
liscik;
```

```
! savedata: file='tum-mur2.dat';
! save=cprob;
```

```
Output: tech1 tech7 ;
```

Yukarıdaki program bir sınıf (c1#) için oluşturulan kodlardan oluşmaktadır. Popülasyonun tek bir homojen alt popülasyondan geldiği ihtimali de söz konusu olduğu için, ilk etapta program bir sınıf için ele alınır. Daha sonra birkaç sınıf için ayrı yazılımlar hazırlanır ve bir takım uyum kriterlerine göre popülasyon ideal sınıf sayısına bölünür. Veri setinde gözlenemeyen değerler (missing values), -9 olarak kodlanmıştır. Yani veri setinde bireye ait bir takım gözlenemeyen değişkenler, -9 olarak kodlanmıştır. Bu herhangi bir karakter olabilirdi, hangi karakter olacağı programcıya bağlıdır.

```
Analysis: Type = mixture;
Estimator=MLR;
          miteration = 55000; komutlarıyla da M-Plus'ta yürütülecek analiz türünün "mixture model" olduğu, tahminleyicinin maksimum olabilirlik (MLR), iterasyon sayısının da (converge) 55000 olarak belirlendiği ifade edilmektedir. Muthen ve Muthen (1998), EM algoritmasının kullanımı için, Maksimum Olabilirlik (Maximum Likelihood) tahmin prensiplerinin uygunluğunu vurgulamaktadır.
```

```
c1# on OOBP cins babames anames bolge liscik;
komut satırı da kovaryet (covariate) dahilindeki (conditional) bir süreci anlatmaktadır. Yani bağımsız değişkenler birlikte değişimin etkisiyle, bağımlı değişkeni (Öss puanı) etkilemektedir. Kovaryetin söz konusu olmadığı bir durumda komut satırı, " ! c1# on OOBP cins
```

babames anames bolge liscik;" şeklinde değişecekti. Yani "!" işareti başa gelecekti.

Data: File is tum.txt; komut satırında da, tum.txt isimli veri setimiz çağrılmaktadır.

Yukarıdaki program çalıştırıldıktan sonra elde edilen çıktıdaki bir takım uyum kriterlerine bakılır. Karışımli modellemede kullanılan uyum kriterleri : a) Akaike'nin bilgi kriteri (AIC ; Akaike's Information Criterion), b) Bayesian bilgi kriteri (BIC ; Bayesian Information Criterion) ve c) Log-olabilirlik (Log-likelihood) değerleridir. Daha sonra iki ve daha fazla sınıf için program kodlanır ve eldeki tüm çıktılardaki bilgi kriterleri karşılaştırılır. Entropi'si en yüksek, AIC ya da BIC değeri en düşük programdaki sınıf sayısı, alt grup (latent class) sayısı olarak kabul edilir ki, kabul edilen sınıf sayısındaki parametre tahmin değerleri (ortalama, varyans gibi) ve etki unsurlarının kovaryans değerleri gibi istatistik değerler kabul edilip, yorumlanır. Yang'a (1998) göre, ideal sınıf sayısını belirleyen uygun ölçütün BIC olduğu şeklindedir. Buna karşın, AIC, BIC ölçütlerinin bir arada kullanılması da savunulmaktadır (Muthen ve Muthen 2002; Roeder ve ark. 1999). Bundan dolayı bu çalışmada, iki kriterin birlikte ele alınması uygun görülmüştür. Latent class modellerde iterasyon tamamlandıktan sonra elde edilen log-olabilirlik değerine bağlı olarak;  $AIC = -\text{LogL} + 2p$ ,  $BIC = -\text{LogL} + p \ln(n)$  eşitlikleri ile uyum kriterleri (AIC, BIC) elde edilir. AIC ve BIC eşitliklerindeki p, tahmin edilecek parametre sayısını göstermektedir. AIC ve BIC için belirtilen eşitlikte log-olabilirlik (LogL) değeri negatif (-LogL) ele alındığı için, optimal sınıf sayısı en küçük AIC ya da BIC değerine göre değerlendirilmektedir. Eşitlikte  $-\text{LogL}$ , pozitif ele alınmış olsaydı bu durumda en büyük AIC ya da BIC değeri optimal sınıf sayısını belirleyecekti. Ancak M-Plus yazılımının arka planında log-olabilirlik değeri negatif formülüne edildiği için en küçük AIC, BIC değeri dikkate alınmaktadır.

## Bulgular

Çalışmada oluşturulan yazılım toplam 6 ayrı sınıf için değerlendirilmiştir. Diğer sınıflar için oluşturulan kodlamalar ise yukarıda belirtildiği gibi "ekler" kısmında gösterilmiştir. M-Plus'ta belli bir sınıf sayısından sonra AIC, BIC ve entropy değerleri bozulmaya doğru bir eğilim göstermektedir; bu durumda programlamaya son verilip, mevcut sınıf sayılarında ideal ölçüt değerlerine sahip programdaki sınıf sayısı, popülasyon için ideal alt sınıf sayısı olarak kabul edilmektedir. Çalışmada sınıf sayısının 2, 3, 4, 5, 6 olduğu durumlar için ayrı ayrı yazılım programları hazırlanmış ve bu yazılım programlarının uyum ölçütleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1 incelendiğinde, popülasyon sayısı arttıkça BIC değerinin düşmekte ve buna karşın Entropy değerinin artmakta olduğu görülmektedir. Burada Entropi, alt sınıflara üye edilen bireylerin söz konusu alt sınıflarda olma olasılıkları şeklinde tanımlanabilir. Çizelge incelendiğinde, en ideal modelin, alt popülasyon sayısının beş olarak belirlendiği sınıf olduğu görülmektedir ( $BIC = 5237.147$ ). İncelenmesi gereken parametreler ve kovaryans ilişkileri, bu programın elde ettiği çıktıları bakılarak yorumlanmalıdır. Alt popülasyon 6'daki uyum ölçüt kriterlerinin (AIC, Entropy) bozulmaya doğru bir eğilim gösterdiği gözlemlenmektedir. Bunun için alt popülasyon 5'le model sonlandırılmalıdır.

Çizelge 1. Farklı alt sınıflar için uyum ölçütleri

Alt Sınıflar	Uyum Ölçütleri		
	AIC (Akaike's Information Criterion)	BIC (Schwarz's Bayesian Criterion)	Entropy
1	5196.246	5552.876	0.542
2	5190.140	5287.200	0.615
3	5176.126	5334.951	0.558
4	5177.051	5397.642	0.560
5	<b>5158.790</b>	<b>5237.147</b>	<b>0.700</b>
6	5173.871	5517.992	0.682

Bu bilgilere göre popülasyonun kendi içinde 5 homojen popülasyon gibi düşünülüp, her alt popülasyon için farklı parametre tahmini yapılmalıdır.

Çizelge 2. Her alt popülasyona düşen birey sayısı

Alt Sınıflar	Birey sayısı
Alt Sınıf 1	139
Alt Sınıf 2	51
Alt Sınıf 3	174
Alt Sınıf 4	160
Alt Sınıf 5	85

Her sınıftaki birey sayısının diğer sınıflarda olma olasılığı ise program tarafından aşağıdaki gibi tespit edilmiştir:

	1	2	3	4	5
Sınıf 1	<b>0.872</b>	0.041	0.055	0.020	0.011
Sınıf 2	0.068	<b>0.794</b>	0.065	0.012	0.061
Sınıf 3	0.066	0.032	<b>0.770</b>	0.065	0.067
Sınıf 4	0.015	0.010	0.081	<b>0.814</b>	0.080
Sınıf 5	0.010	0.037	0.077	0.085	<b>0.791</b>

Yukarıdaki veriler incelendiğinde, birinci sınıfta olan bireylerin alt popülasyon 1'de olma olasılığı 0.872; birinci sınıf bireylerinin alt popülasyon 2'de olma olasılığı 0.068, alt popülasyon 3'de olma olasılığı 0.066, alt popülasyon 4'de olma olasılığı ise 0.015, alt popülasyon 5'de olma olasılığı ise 0.010 düzeyindedir. Benzer yorumlamalar diğer alt popülasyonlar için de yapılır.

M-Plus'ın ideal tespit ettiği alt-sınıflara ait parametre tahmin çıktıları ekler kısmında gösterilmiş olup, karışımli modelin çok kapsamlı olmasından dolayı çıktılarıdaki ayrıntılar ve parametre tahminlerinin yorumu ayrı bir çalışmada ele alınacaktır.

## Sonuçlar ve Tartışma

Bu araştırmada latent class gibi ileri düzey istatistik tekniklerinin analiz edilebildiği M-Plus yazılımı tanıtılmaya çalışılmıştır. M-Plus'ı tanıtımı aşamasında latent class ailesinden karışımli model örneği uygulanmaya çalışılmıştır. 643 bireyden oluşan heterojen bir veri seti örneği üzerinde, M-Plus'ın karışımli model tekniği ile

homojen alt popülasyon oluştururken kullanmış olduğu kodların nasıl hazırlandığına da değinilmiştir. Optimal homojen alt sınıf sayısının tespitinde kullanılan uyum kriterlerinin (AIC, BIC) M-Plus çıktılarından nasıl yorumlanacağı ve aynı zamanda bu kriterlerin literatürdeki konumuna göz atılmıştır. Çok değişkenli analiz ailesinden kümeleme (clustering) analiz tekniğinin de homojen alt popülasyon oluşturabildiği bilinmekle birlikte (AIC ve BIC ile), alt popülasyonlara ait parametre tahminlemesini yeterli düzeyde yapamadığı bildirilmektedir (Otlu ve Alpar 2006). Bu anlamda Latent class analizlerin (mixture gibi) çok güçlü bir alternatif ve kullanmış olduğu güçlü algoritmalarla sağlam ve sapmasız parametre tahminleme yapabildiği kabul edilmektedir (Nylund ve ark. 2006; Lazarfelds ve Hanry 1968). Tüm bu güçlü yönleri ile Latent class analizlerin kolay bir ara yüz desteği ile M-Plus'ta modellenilebildiği bildirilmektedir (Muthen ve ark. 2006).

Bu çalışmada kısmen M-Plus tanıtılırken, aynı zamanda karışımli modellerde kullanılan bir takım algoritmaların (EM gibi) matematik alt yapısına da değinildi. Ayrıca uyum kriterlerinin log-olabilirlik tabanında nasıl bir matematik alt yapıya sahip olduğu tartışıldı.

Sonuç olarak, bu çalışmada gözlem sayısı çok olan heterojen veri setlerine ait modellemeler söz konusu olduğunda ve gözlenen değişkenlerin hem sürekli hem de kategorik (semi-parametric) olmaları durumunda M-Plus ortamında latent class analizlerin uygulama kolaylığı gösterilmiş olup, örnek bir veri seti M-Plus ortamında kodlanmıştır.

## Kaynaklar

- Baltes, P. B., Nesselroade, J.R., 1979. History and Rationale of Longitudinal Research. In J.R. Nesselroade, & P.B. Baltes (Eds.), *Longitudinal Research in the Study of Behavior and Development*. Academic press. 40 p. New York, USA.
- Chan, Z., Kou, L., 2001. A note on the estimation of the multinomial logit model with random effects. *The American Statistician*, 55(2) : 89-95.
- Clogg, C.C., 1995. Latent Class Models. In G. Arminger, C.C. Clogg & M.E. Sobel (Eds.), *Handbook of Statistical Modeling for the Social and Behavioral Sciences*. Plenum Press. 311 p. New York, USA.
- Collins, L., Horn, J.L., 1991. *Best Methods for the Analyses of Change*. APA Press. 365 p. Washington, USA.
- Dempster, A.P., Laird, N.M., Rubin, D.B., 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the em algorithm. *Journal of Royal Statistical Society*, 39 : 1-18.
- Dhanavanthan, P., 2000. Estimation of the parameters of compound intervened poisson distribution. *Biometrical Journal*, 42(3) : 315-320.
- Duncan, S. C., Duncan, T.E., 1996. A multivariate latent growth curve analysis of adolescent substance use. *Structural Equation Modeling*, 4: 323-347.
- Duncan, T. E., Susan, S. C., Strycker, L. A., Okut, H., 2002. Growth Mixture Modeling of Adolescent Alcohol Use Data: Chapter Addendum to an Introduction to Latent Variable Growth Curve Modeling: Concepts, Issues, and Applications. Oregon Research Institute, Oregon. 36.
- Everitt, B.S., Hand, D.J., 1981. *Finite Mixture Distributions*. Chapman and Hall. 159 p. London, England.
- Jansen, R. C., 1993. Maximum likelihood in an generalized linear finite mixture model by using the em algorithm. *Biometrics*, 49 (1) : 227-231.
- Jamshidian, M., Jennrich, R. I., 1997. Acceleration of the em algorithm by quasi-newton methods. *J.R. Statist. Soc. B.*, 59 (3) : 569- 587.
- Nylund, K.L., Asparouhov, T., Muthen, B., 2006. Deciding on the number of classes in latent class analysis and growth mixture modeling: A Monte Carlo simulation study. *Structural Equation Modeling*, 35 (3) : 439-460.
- Lazarfelds, P., Hanry, N., 1968. *Latent Structure Analysis*. Houghton Mifflin. 79 p. New York, USA.
- Lindsay, B. G., 1995. *Mixture Models : Theory , Geometry and Applications*. Institute of Mathematical Statistics. 365 p. Hayward.
- Muthen, B., Asparouhov, T., Rebollo, I., 2006. Advances in behavioral genetics modeling using mPlus: Applications of factor mixture modeling to twin data. *Twin Research and Human Genetics*, 9 (3): 313-324.
- Muthen, B. O., 2001. Second-generation structural equation modeling with combination of categorical and continuous latent variables: New opportunities for latent class/latent growth modeling. In A. Collins L. & Sayer A. (Eds.), *New methods for the analyses for change* (pp. 291-322). New York, USA.
- Muthen, L. K., & Muthen, B., 1998. *Mplus: User's guide*. Muthen & Muthen CA. 389 p. Los Angeles, USA.
- Muthen, L. K., Muthen, B., 2002. *Mplus: User's guide*. Muthen & Muthen CA. 256 p. Los Angeles, USA..
- Otlu, H., Alpar, R., 2006. İki aşamalı küme analizi ve bir uygulama. 5-9 Eylül 2006 IX. Ulusal Biyoistatistik Kongresi, Zonguldak.
- Peel, D. ve McLachlan, G., 2000. *Finite Mixture Models*. Wiley – Interscience Publisher. 126 p. New York, USA.
- Roeder, K., Lynch, G. K., Nagin, S. D., 1999. Modeling uncertainty in latent class membership: A case study in criminology. *Journal of American Stat. Association*, 447: 766-776.
- Topuz, D. ve Çakır, M., 2002. Lojistik regresyon analiz tekniğinin eğitim bilimleri araştırmalarında uygulanabilirliği ile ilgili bir araştırma. *ALBÜ Eğitim Fakültesi Dergisi*, 3 (6): 56-81.
- Wang, P., Putterman, M.I., 1998. Mixed logistic regression models. *Journal of Agriculture, Biological and Environmental Statistics*, 3(2): 175-200.
- Wang, P., Cockburn, I.M., Putterman, M.L., 1998. Analyses of latent data-mixed poisson regression model approach. *Journal of Business and Economic Statistics*, 16(1) : 27-41.
- Titterton, D.M., Smith, A.F.M., Markov, U.E., 1985. *Statistical Analyses of Finite Mixture Distributions*. John Willey & Sons. 221 p. Chichester, U.K.
- Yang, C.C., 1998. *Finite mixture model selection with psychometric applications*. Unpublished doctoral dissertation. University of California, Los Angeles.
- Yeşilova, A., 2003. *Biyolojik Çalışmalardan Elde Edilen Kategorik Verilere Karışık Poisson Regresyon Analizinin Uygulanması*. (Doktora tezi). Yayınlanmamış Doktora Tezi, YYÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Zhang, H. P. ve Merikangas, K., 2000. A frailty model of segregation analysis: understanding the familial transmission of alcoholism. *Biometrics*, 56: 815-823.

**Ekler**

Ek 1: M-Plus'ın karışımli modele ait çıktısı.

THE MODEL ESTIMATION TERMINATED NORMALLY

TESTS OF MODEL FIT

Loglikelihood

H0 Value -2515.395

Information Criteria

Number of Free Parameters 64

Akaike (AIC) 5158.790

Bayesian (BIC) 5441.147

Sample-Size Adjusted BIC 5237.961

(n\* = (n + 2) / 24)

Entropy 0.700

FINAL CLASS COUNTS AND PROPORTIONS OF TOTAL SAMPLE SIZE BASED ON ESTIMATED POSTERIOR PROBABILITIES

Class 1	139.38696	0.22888
Class 2	56.49506	0.09277
Class 3	164.31510	0.26981
Class 4	152.24504	0.24999
Class 5	96.55785	0.15855

CLASSIFICATION OF INDIVIDUALS BASED ON THEIR MOST LIKELY CLASS MEMBERSHIP

Class Counts and Proportions

Class 1	139	0.22824
Class 2	51	0.08374
Class 3	174	0.28571
Class 4	160	0.26273
Class 5	85	0.13957

Average Class Probabilities by Class

	1	2	3	4	5
Class 1	0.872	0.041	0.055	0.020	0.011
Class 2	0.068	0.794	0.065	0.012	0.061
Class 3	0.066	0.032	0.770	0.065	0.067
Class 4	0.015	0.010	0.081	0.814	0.080
Class 5	0.010	0.037	0.077	0.085	0.791

MODEL RESULTS

Estimates S.E. Est./S.E.

CLASS 1

OSS	ON			
OOBP		-0.094	0.246	-0.380
CINS		0.201	2.539	0.079
BABAMES		0.202	0.663	0.305
ANAMES		-1.273	0.866	-1.471
BOLGE		-0.153	1.311	-0.116
LISCIK		-0.560	1.816	-0.308

Intercepts				
OSS		204.753	24.711	8.286

Residual Variances

OSS	54.685	6.499	8.415
-----	--------	-------	-------

CLASS 2

OSS	ON			
OOBP		0.281	0.438	0.640
CINS		7.269	3.373	2.155
BABAMES		-3.933	2.370	-1.660
ANAMES		-0.324	1.698	-0.191
BOLGE		-8.107	4.309	-1.881
LISCIK		5.873	4.334	1.355

Intercepts				
OSS		182.506	45.223	4.036

Residual Variances

OSS	54.685	6.499	8.415
-----	--------	-------	-------

CLASS 3

OSS	ON			
OOBP		-0.393	0.246	-1.600
CINS		-21.788	5.646	-3.859
BABAMES		-0.576	1.110	-0.519
ANAMES		12.276	3.096	3.965
BOLGE		0.593	1.732	0.342
LISCIK		-0.771	1.784	-0.432

Intercepts				
OSS		279.845	22.731	12.311

Residual Variances

OSS	54.685	6.499	8.415
-----	--------	-------	-------

CLASS 4

OSS	ON			
OOBP		-0.124	0.206	-0.599
CINS		15.970	4.277	3.734
BABAMES		1.422	0.554	2.569
ANAMES		-11.725	2.982	-3.931
BOLGE		2.803	1.244	2.253
LISCIK		0.130	1.499	0.087

Intercepts				
OSS		215.990	20.797	10.386

Residual Variances

OSS	54.685	6.499	8.415
-----	--------	-------	-------

CLASS 5

OSS	ON			
OOBP		1.871	0.318	5.880
CINS		-2.156	2.664	-0.809
BABAMES		-0.476	0.582	-0.817
ANAMES		3.309	0.823	4.020
BOLGE		-2.516	1.631	-1.543
LISCIK		6.536	1.269	5.150

Intercepts				
OSS		61.370	31.137	1.971

Residual Variances

OSS	54.685	6.499	8.415
-----	--------	-------	-------

LATENT CLASS REGRESSION MODEL PART

C#1	ON			
OOBP		-0.337	0.131	-2.576
CINS		-3.035	1.021	-2.971
BABAMES		-0.470	0.321	-1.465
ANAMES		-0.699	0.369	-1.897
BOLGE		0.524	0.636	0.825
LISCIK		1.434	0.521	2.755

C#2 ON

OOBP	0.051	0.080	0.641
CINS	1.421	0.893	1.591
BABAMES	-0.040	0.253	-0.158
ANAMES	0.044	0.218	0.203
BOLGE	-0.410	0.386	-1.062
LISCIK	-0.718	0.443	-1.620

C#3 ON

OOBP	-0.338	0.121	-2.800
CINS	-0.557	1.487	-0.374
BABAMES	-0.551	0.299	-1.842
ANAMES	-1.568	0.798	-1.964
BOLGE	0.712	0.529	1.347
LISCIK	1.281	0.606	2.115

C#4 ON

OOBP	-0.253	0.123	-2.059
CINS	-1.883	0.911	-2.066
BABAMES	-0.484	0.300	-1.616
ANAMES	-1.673	1.486	-1.125
BOLGE	0.463	0.528	0.877
LISCIK	1.163	0.571	2.036

Intercepts

C#1	31.442	11.760	2.674
C#2	-5.349	7.825	-0.684
C#3	28.572	10.998	2.598
C#4	24.927	10.260	2.430

Ek 2 : M-Plus editöründe hazırlanan yazılımlar (syntax)

Class 1 için hazırlanan yazılım kodları

```
Data: File is tum.txt;
Variable: Names are birey kimlik OSS
         OOBP alan milli derece
         cins mekiksay tmeK kan
         boy kilo babames anames bolge liscik;
Missing = All (-9);
Usevariables OSS OOBP cins babames anames bolge
liscik;
Classes = c(1);
Analysis: Type = mixture;
Estimator=MLR;
miteration = 55000;
Model: %overall%
! [OSS];
OSS;
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c1# on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#1%
[OSS*195];
! [pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
! savedata: file='tum-mur2.dat';
! save=cprob;
Output: tech1 tech7 ;
```

Class 2 için hazırlanan yazılım kodları:

```
Data: File is tum.txt;
Variable: Names are birey kimlik OSS
         OOBP alan milli derece
         cins mekiksay tmeK kan
         boy kilo babames anames bolge liscik;
Missing = All (-9);
Usevariables OSS OOBP cins babames anames bolge
liscik;
Classes = c(2);
Analysis: Type = mixture;
Estimator=MLR;
miteration = 55000;
Model: %overall%
! [OSS];
OSS;
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#1 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#1%
```

```
[OSS*195];
! [pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#2%
[OSS*212];
! [pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
savedata: file='tum-mur2.dat';
save=cprob;
Output: tech1 tech7 ;
```

Class 3 için hazırlanan yazılım kodları:

```
Data: File is tum.txt;
Variable: Names are birey kimlik OSS
         OOBP alan milli derece
         cins mekiksay tmeK kan
         boy kilo babames anames bolge liscik;
Missing = All (-9);
Usevariables OSS OOBP cins babames anames bolge
liscik;
Classes = c(3);
Analysis: Type = mixture;
Estimator=MLR;
miteration = 55000;
Model: %overall%
! [OSS];
OSS;
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#1 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#2 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#1%
[OSS*175];
! [pint*4.231 pslp*-.789];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#2%
[OSS*222];
! [pint*6.231 pslp*-.1989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#3%
[OSS*248];
! [pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
savedata: file='tum-mur3.dat';
save=cprob;
Output: tech1 tech7 ;
```

Class 4 için hazırlanan yazılım kodları:

```
Data: File is tum.txt;
Variable: Names are birey kimlik OSS
         OOBP alan milli derece
         cins mekiksay tmeK kan
         boy kilo babames anames bolge liscik;
Missing = All (-9);
Usevariables OSS OOBP cins babames anames bolge
liscik;
Classes = c(4);
Analysis: Type = mixture;
Estimator=MLR;
miteration = 55000;
Model: %overall%
! [OSS];
OSS;
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#1 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#2 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#3 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#1%
[OSS*195];
! [pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#2%
[OSS*212];
! [pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#3%
```

```
[OSS*218];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#4%
[OSS*222];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
savedata: file='tum-mur4.dat';
save=cprob;
Output: tech1 tech7 ;
```

Class 5 için hazırlanan yazılım kodları:

```
Data: File is tum.txt;
Variable: Names are birey kimlik OSS
         OOBP alan milli derece
         cins mekiksay tmeK kan
         boy kilo babames anames bolge liscik;
Missing = All (-9);
Usevariables OSS OOBP cins babames anames bolge
liscik;
Classes = c(5);
Analysis: Type = mixture;
         Estimator=MLR;
         miteration = 55000;
Model: %overall%
       ! [OSS];
       OSS;
       OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#1 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#2 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#3 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#4 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
```

```
%c#1%
[OSS*195];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#2%
[OSS*212];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#3%
[OSS*218];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#4%
[OSS*222];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#5%
[OSS*222];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
```

```
savedata: file='tum-mur5.dat';
save=cprob;
Output: tech1 tech7 ;
```

Class 6 için hazırlanan yazılım kodları:

```
Data: File is tum.txt;
Variable: Names are birey kimlik OSS
         OOBP alan milli derece
         cins mekiksay tmeK kan
         boy kilo babames anames bolge liscik;
Missing = All (-9);
Usevariables OSS OOBP cins babames anames bolge
liscik;
Classes = c(6);
Analysis: Type = mixture;
         Estimator=MLR;
         miteration = 55000;
Model: %overall%
       ! [OSS];
       OSS;
       OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
```

```
c#1 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#2 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#3 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#4 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
c#5 on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#1%
[OSS*165];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#2%
[OSS*172];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#3%
[OSS*218];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#4%
[OSS*212];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#5%
[OSS*242];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
%c#6%
[OSS*262];
![[pint*7.231 pslp*-.989];
OSS on OOBP cins babames anames bolge liscik;
savedata: file='tum-mur6.dat';
save=cprob; Output: tech1 tech7 ;
```

## İnsan Patojeni *Escherichia coli* İzolatlarının Fenotipik Özellikleri, Plazmit ve Protein Profillerine Göre Karakterizasyonu

İsmet BERBER<sup>1</sup>

Akın ÖTER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 65080 Van  
<sup>2</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 65080 Van

**Özet:** Bu çalışmada, 13 adet *E. coli* suşu fenotipik özellikleri, plazmit ve protein profillerine göre karakterize edildi. Agaroz jel elektroforez analiz sonuçlarına göre bütün suşların en az bir adet plazmit bulundurduğu belirlendi. Toplam hücre protein profil sonuçları esas alınarak yapılan nümerik analiz, benzerlik düzeyi % 71'in üzerinde 2 ayrı büyük grup ortaya koydu. Ayrıca, hücre dışı protein profil sonuçları esas alınarak yapılan nümerik analiz ise benzerlik düzeyi % 60'ın üzerinde 3 ayrı büyük grup ortaya koydu. Bu araştırma, SDS-PAGE yöntemiyle elde edilen toplam hücre ve hücre dışı protein profillerinin test edilen *E. coli* suşlarının taksonomik ilişkilerinin incelenmesinde etkili bir yaklaşım sağlamadığını gösterdi. Bununla birlikte, hücre dışı protein profillerinin toplam hücre protein profillerine göre daha iyi ayırım sağladığı da belirlendi.

**Anahtar kelimeler:** *E. coli*, Karakterizasyon, Plazmit, Protein profilleri, SDS-PAGE.

### Characterization of Human Pathogenic *Escherichia coli* Isolates According to Phenotypic Properties, Plasmid and Protein Profiles

**Abstract:** In the present study, 13 *E. coli* strains were characterized using phenotypic properties, plasmid and protein profiles. According to agarose gel electrophoresis analysis it was confirmed that all strains consisted of at least one plasmid. A numerical analysis based on whole-cell protein patterns revealed 2 distinct major groups with a similarity level of above 71 %. Afterwards, a numerical analysis based on extracellular protein patterns revealed 3 difference major groups with a similarity level of above 60 %. The research indicated that whole-cell and extracellular protein profiles obtained by SDS-PAGE did not provide an effective approach to the investigation of taxonomic relationship among the tested *E. coli* strains. However, it determined that extracellular protein patterns were more difference than whole-cell protein profiles.

**Key words:** *E. coli*, Characterization, Plasmid, Protein profiles, SDS-PAGE.

#### Giriş

Son yıllarda çoklu antibiyotik direncine sahip birçok Gram (+) ve Gram (-) mikroorganizma dünyada ve ülkemizde giderek tehlikeli boyutlara ulaşan hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Harbart ve ark. 2001; Mitscher 1999; Berber ve ark. 2003). ABD ve Avrupa'daki birçok klinik raporlarında özellikle metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomisin dirençli enterokoklar (VRE) ve diğer antibiyotik dirençli insan patojeni mikroorganizmaların yüksek oranda ölümle sonuçlanan enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmektedir (Viksveen 2003). Gerçekten, çoğu patojenik *E. coli* suşu hastane ortamında insanlara bulaşarak ağır seyreden enfeksiyonlara neden olmakta ve bu hastalıkların tedavisi oldukça yüksek bir maddi kaybı da beraberinde getirmektedir (Allison ve ark. 1998).

*E. coli* türüne ait suşların çoğu kapsül veya mikrokapsül oluşturabilme yeteneğine sahip, peritrik flagellalı, hareketli veya hareketsiz, Gram (-), sporsuz ve fakültatif anaerobiktir (Farmer ve ark. 1985). Bu türe giren suşların tanımlanmasında öncelikli olarak biyokimyasal testlere dayalı metotlar kullanılmaktadır (Bettalheim 1992). Biyokimyasal testleri esas alan yöntemler tür düzeyinde *E. coli* tanısı için yeterli bilgi sağlamasına karşın, tür altı seviyede ayırım için yeterli değildir. Ayrıca, *E. coli* türüne ait suşların karakterizasyonunda; serolojik (Bettalheim ve Thompson 1987), bakteriyofaj tiplendirimi (Khakhria ve ark. 1990; Bachmann 1990), antibiyogram analizleri gibi diğer klasik yöntemlere ilave olarak plazmit tiplendirimi (Coutrier ve ark. 1988; Singer ve ark. 1989), ribozomal RNA tiplendirimi (Fournier ve Ozeki 1985), DNA/DNA hibridizasyonu (Ikemura 1981) ve farklı PCR teknikleri (Ko ve Lee 2006) gibi yöntemler de kullanılmıştır.

Günümüzde sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) tekniği kullanılarak birçok cins ait mikroorganizmaların toplam ve hücre dışı protein profilleri belirlenerek gerek tür gerekse tür altı seviyede ayırım yoluna gidilmiştir. Kullanılan bu yöntemin bazı cinslere ait türlerin ayırımında oldukça yararlı olduğu belirlenmiştir (Clink ve Pennington 1987; Elliott ve Facklam 1993; Berber ve Berber 2006). Ancak, bazı bakteri türlerinin tür altı düzeyde ayırımında hücre dışı protein profillerinin daha faydalı olduğu bildirilmektedir (Berber ve ark. 2003).

Bu çalışmada Van ilinde bulunan bazı hastane ve kliniklere gelen hastalardan alınan idrar ve gaita kültürlerinden izole edilmiş izolatların biyotiplendirilmesi, antibiyotik dirençlilikleri ve plazmit içeriklerinin belirlenmesi, toplam hücre proteinleri ve hücre dışı protein profillerinin belirlenmesi esas alınarak karakterizasyonu amaçlandı.

#### Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada, Van ilindeki Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Bakterioloji laboratuvarı, Van Kızılay Tıp Merkezi, Van Doğu Tıp Merkezi ve Van Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarlarından temin edilen idrar ve dışkı örneklerinden izole edilen 10 adet izolat ve *E. coli* ATCC 11239, *E. coli* ATCC 4230 ve *E. coli* ATCC 25922 numaralı referans suşlar kullanıldı. Bütün suşların fenotipik özelliklerini belirlemek için Gram boyama, hareket, oksidaz, şekerlerin fermantasyonu (laktöz, maltoz, glukoz, sükröz, arabinoz, ksiloz, mannitol ve rafinoz), H<sub>2</sub>S oluşumu, laktözdan gaz oluşumu, lizin dekarboksilasyonu,



sitrat kullanımı, indol oluşumu, üreaz, Voges-Proskauer, metil kırmızısı, DNaz, fenilalanin deaminasyonu gibi biyokimyasal testler yapıldı. Ayrıca, antibiyotik duyarlılıkları NCCLS önerileri doğrultusunda disk difüzyon tekniği kullanılarak belirlendi. Bu test için seftazidim, amoksisilin-klavulonik asit, ampisilin, sefazolin, amikazin, siprofloksasin ve gentamisin olmak üzere 7 farklı standart antibiyotik diski (Difco) kullanıldı.

*E. coli* suşlarından plazmit DNA izolasyonu için alkali lizis plazmit DNA izolasyon metodu kullanıldı (Zhou ve ark. 1990). İzole edilen plazmitler hazırlanan %0.6'lık agaroz jelde (Midicell® Primo Submarine Gel System, USA) 100 voltluk sabit akımda yaklaşık 1.5-2 saat süre ile yürütüldü. Yürütme işleminin bitiminde jelin fotoğrafı UV transillüminatör (Cedex, France) atında çekildi. Her bakteri suşu 100 ml BHI broth (Difco) besiyeri 250 mililitrelik erlenmayer içerisinde 150 rpm ve 37°C'lik çalkalamalı etüvde 24 saat süreyle geliştirildi. Hücre dışı proteinlerin ekstraksiyonunda Wessel ve Flugge (1984)'nin yöntemi, toplam hücre proteinlerin ekstraksiyonunda Berber ve ark. (2003)'nin modifiye yöntemi kullanıldı. Bakteri kültürlerinden ekstrakte edilen toplam hücre ve hücre dışı proteinler dikey elektroforez tankı (UVP Vertical Electrophoresis Unit, Cambridge, UK) ve 1 mm kalınlığında (%4'lük stacking ve %10'lük resolving) jelde yürütülerek Comassie Brilliant Blue (R-250) ile boyandı (Laemmli 1970). Daha sonra boyası giderilerek protein bantları görünür hale getirilen jellerin fotoğrafları (FinePix S9500, Fuji, Japan) çekildi.

Her bakteri suşuna ait toplam ve hücre dışı protein profillerini içeren jellerin fotoğrafları çıplak gözle incelendi ve protein bantları (1 ya da 0) ikili veriler biçiminde bilgisayara kaydedildi. Bilgisayar ortamına aktarılan veriler MINITAB versiyon 13.3 programında değerlendirildi ve protein profilleri esas alınarak bakteri suşları arasındaki benzerlik, unweighted pair group method with an arithmetic averages algorithm (UPGMA) yöntemi kullanılarak dendrogramlar oluşturuldu.

### **Bulgular ve Tartışma**

İzolatlarının biyokimyasal test sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre izolatların tümünün Gram (-), hareketli, sporsuz, çomak şeklinde ve fakültatif aerobik oldukları belirlendi. Yapılan karbonhidrat fermentasyon testleri bütün suşların laktoz, maltoz, glukoz, sükröz, arabinöz, ksiloz ve mannitolü kullanabildiği halde 4 suşun (DT5, DT4, DH8 ve ATCC 25922) rafinozu kullanamadıkları bulundu. Diğer taraftan, izolatların tümünün H<sub>2</sub>S negatif ve laktozdan gaz oluşturdukları da tespit edildi.

Diğer yandan, test edilen suşların tümünün lizis dekarboksilaz, fenilalanin deaminaz negatif, sitrat ve üreaz negatif olmalarına karşın indol ve metil kırmızısı pozitif oldukları saptandı. Bununla birlikte, tüm suşların glukozdan aseton oluşturamadıkları ve K<sub>2</sub>, DH5 ve DH3 numaralı suşlar hariç diğer suşların DNaz negatif oldukları bulundu. Antibiyogram test sonuçlarına göre, bir sefalosporin türevi olan seftazidim antibiyotiğine karşı DH1 ve ATCC 11239 numaralı iki suş orta derecede duyarlı

iken, diğer suşların tamamının bu antibiyotiğe karşı dirençli olduğu saptandı. Diğer bir sefalosporin türevi olan sefazolin antibiyotiğine karşı ise DH3, DH4, DH7, DT5 ve DT6 suşları hariç diğer bütün suşların duyarlı oldukları tespit edildi. Bir penisilin türevi olan ampisilin antibiyotiğine karşı bütün bakteri suşları dirençli iken, diğer penisilin türevi olan amoksisilin-klavulanik asite karşı DH1, DH3, DH4, DH7, DH8, DT5 ve DT6 olmak üzere toplam 7 adet suşun dirençli oldukları ve diğer 6 suşun bu antibiyotiğe duyarlı olduğu bulundu. Diğer taraftan, aminoglukozit türevi olan amikasin antibiyotiğine karşı test edilen suşların tamamının duyarlı olduğu halde, diğer aminoglukozit türevi gentamisin antibiyotiğine karşı DH3 ve DH4 numaralı suşların dirençli diğer suşların duyarlı oldukları belirlendi. Ayrıca, kinolon türevi olan siprofloksasin antibiyotiğine karşı DH3 ve DH4 numaralı izolatların dirençli, diğer izolatların ise duyarlı olduğu tespit edildi.

Yapılan DNA plazmit analiz sonuçlarına göre, test edilen suşların hepsinde en az bir adet plazmit içerdiği görüldü (Şekil 1). a ile işaretlenmiş plazmitin bütün suşlarda ortak olduğu, buna karşın b ile işaretlenmiş olan plazmitin ise yalnızca DH5 ve DT6 suşlarında bulunduğu belirlendi. Bakteri suşlarından en çok plazmiti 6 ve 11 numaralı hatlarda yürütülen DH8 (4 tane) ve ATCC 25922 (5 tane) suşlarının içerdiği tespit edildi. Diğer taraftan, c ile işaretlenen plazmitin yalnızca DH8 ve d ile işaretlenen plazmitin de yine sadece DH1 suşunda bulunduğu görüldü. Ayrıca, en çok plazmit içeren iki suşun (DH8 ve ATCC 25922) e ile işaretlenmiş üçlü plazmit bantlarını içerdiği de bulundu. Çalışmada, bakteri suşlarının plazmit içerip içermediği hedeflendiği için molekül ağırlıklarının belirlenmesi için molekül standart kullanılmadı.

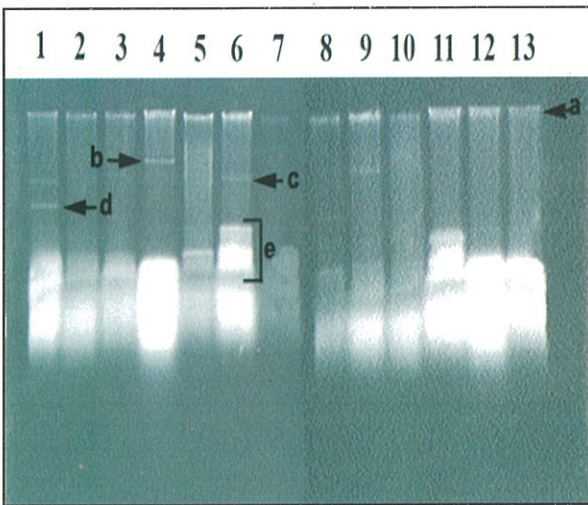
Araştırmamızda incelenen bakterilerin toplam hücre protein profilleri Şekil 2'de verilmektedir. Toplam hücre proteinlerinin SDS-PAGE analiz sonuçlarına göre, suşların hepsinin yüksek düzeyde benzer bant profillerine sahip oldukları belirlendi. Bütün suşların yüksek (60-150 kDa) ve düşük (30-50 kDa) molekül ağırlığına sahip bant desenleri arasında benzerlik seviyesinin yüksek olduğu bulundu. Özellikle; yüksek molekül ağırlıklı (2, 3 ve 4 numaralı bantlar) ve düşük molekül ağırlıklı (6, 7, 8, 9 ve 10 numaralı bantlar) dominant protein bantlarının bütün suşlarda ortak olduğu tespit edildi. Bununla birlikte, incelenen suşlar arasında az da olsa bazı farklılıkların olduğu da görüldü. DT5 ve ATCC 25922 numaralı suşların 5 olarak işaretlenen üçlü protein bandını içermeleriyle diğer suşlardan farklılık gösterdikleri tespit edildi. Ayrıca, 200 kDa'dan daha yüksek molekül ağırlığına sahip olan ve 1 ile işaretlenen protein bandının DH1, DH3 ve DH4 numaralı suşlar hariç diğer bütün suşlarda bulunduğu da belirlendi.

Diğer taraftan, incelenen suşlara ait toplam hücre dışı protein profilleri Şekil 3'de görülmektedir.

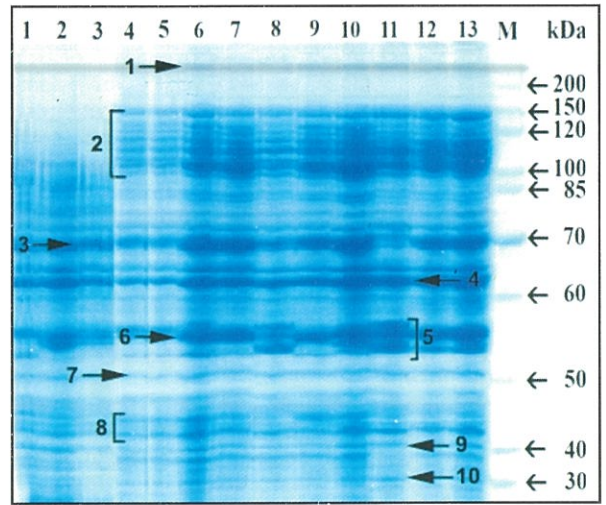
Çizelge 1. *E. coli* izolatlarının biyokimyasal özellikleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları.

Test	DT6	DT5	DT4	K2	DH1	DH8	DH5	DH4	DH7	DH3	<i>E. coli</i> ATCC 4320	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. coli</i> ATCC 11239
Gram Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Şekerlerin Fermantasyonu													
Laktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sükroz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ksiloz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rafinoz	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
H <sub>2</sub> S Oluşumu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktozdan Gaz Oluşumu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lizin Dekarboksilasyonu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sitrat Kullanımı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol Oluşumu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Üreaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Voges-Proskauer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metil Kırmızısı	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DNaz	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Fenilalanin Deaminasyonu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antibiyotikler													
Seftazidim	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	I
Amoksisilin-klavulanik asit	R	R	S	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S
Ampisilin	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Sefazolin	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S
Amikasin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Siprofloksasin	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S
Gentamisin	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S

(+): olumlu, (-): olumsuz, R: dirençli, I: orta derecede dirençli, S: duyarlı.

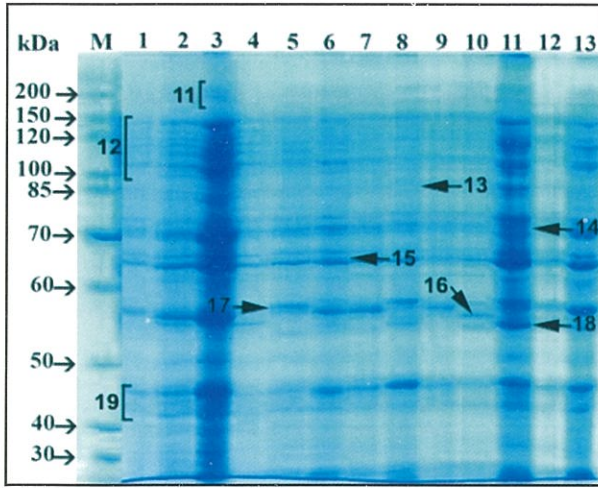


Şekil 1. 13 adet *E. coli* suşunun plazmit profilleri. Hatlar: 1: DH1, 2: DH3, 3: DH4, 4: DH5, 5: DH7, 6: DH8, 7: DT4, 8: DT5, 9: DT6, 10: K2, 11: *E. coli* ATCC 25922, 12: *E. coli* ATCC 4230, 13: *E. coli* ATCC 11239.



Şekil 2. 13 adet *E. coli* suşunun SDS-PAGE ile elde edilen hücre içi protein profilleri. Hatlar, Şekil 1'de verdiği gibidir.

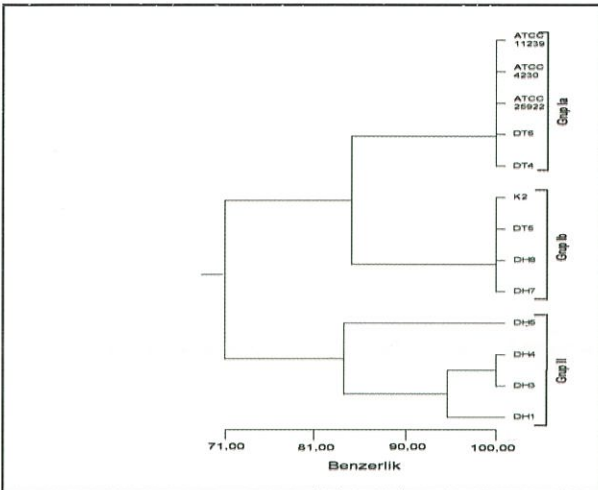




Şekil 3. 13 adet *E. coli* suşunun SDS-PAGE ile elde edilen hücre dışı protein profilleri. Hatlar, Şekil 1'de verildiği gibidir.

Toplam hücre dışı proteinlerinin SDS-PAGE analiz sonuçları incelendiğinde, toplam hücre protein profillerinde olduğu gibi bütün suşların oldukça benzer bant profillerine sahip oldukları görüldü. Şekil 3'de de görüleceği gibi; 12, 13, 14 ve 15 numaralı protein bantlarının tüm suşunda ortak dominant bantlar olduğu görülmektedir. Ancak, 11 ile işaretlenen ikili protein bantının yalnızca DT4 ve ATCC 25922 numaralı suşlarda bulunduğu belirlendi. Diğer taraftan, DH7, DT5 ve ATCC 25922 suşları için 17 ile işaretlenen farklı bir protein bantının var olduğu da tespit edildi. Ayrıca; DH3, DH4 ve K2 suşlarının 16 ile işaretlenmiş farklı bir protein bantını içerdiği ve 18 numara ile gösterilen protein bantının ise yalnızca DH3, DH5, DT5, *E. coli* ATCC 25922 numaralı suşlarda bulunduğu görüldü.

Toplam hücre protein profilleri esas alınarak yapılan nümerik analiz sonuçlarına göre, suşların benzerlik oranı % 71 ve üzerinde 2 farklı ana gruba ayrıldığı belirlendi (Şekil 4). Birinci grup toplam 9 suş içermekte olup kendi içerisinde benzerlik düzeyi % 83 ve üzerinde iki alt gruba ayrıldı. Bu alt gruplardan Grup Ia, benzerlik seviyesi % 100 olan ATCC 11239, ATCC 25922, ATCC 4230, DT6 ve DT4 numaralı 5 suşu içermektedir. Diğer bir alt grup olan Grup Ib ise yine %100 benzerlik seviyesinde toplam 4 suşu (K2, DT5, DH7 ve DH8) bulundurduğu tespit edildi. Grup II benzerlik oranı % 83 ile % 100 arasında değişiklik gösteren toplam 4 suşu (DH1, DH3, DH4 ve DH5) içermektedir.

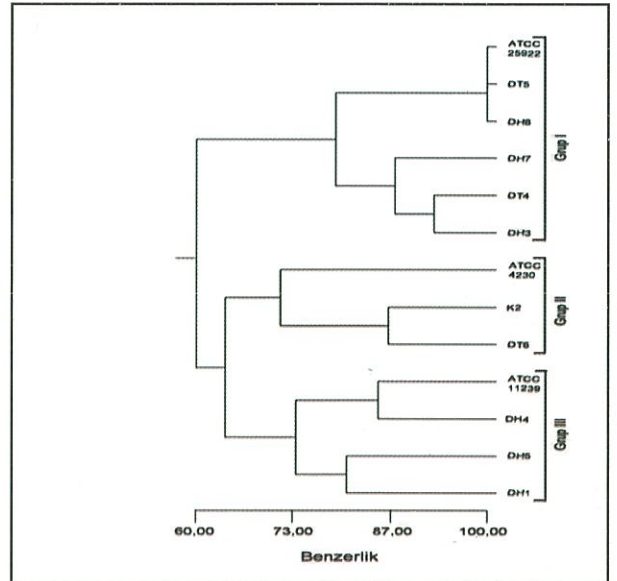


Şekil 4. 13 adet *E. coli* suşunun SDS-PAGE ile elde edilen toplam hücre protein profilleri esas alınarak (UPGMA) oluşturulan dendrogram.

Hücre dışı protein profilleri esas alınarak yapılan nümerik analiz sonuçlarına göre suşların benzerlik oranı % 60 ve üzerinde 3 farklı grubu içerdiği belirlendi (Şekil 5). Birinci grup, 1'i referans (ATCC 25922) ve 5'i yeni izole edilen (DH3, DH7, DH8, DT4 ve DT5) toplam 6 adet test suşunu içermekte ve bu suşların benzerlik düzeyi % 81 ve üzerinde değişmektedir. İkinci grubun benzerlik seviyesi % 70 ve üzerinde toplam 3 suşu (K2, DT6 ve ATCC 4230) içerdiği belirlendi. Diğer taraftan, Grup III ise % 73 ve üzerinde benzerlik oranına sahip toplam 4 (DH1, DH4, DH5 ve ATCC 11239) suşu içermektedir.

Bu çalışmada, incelenen toplam 13 adet izolatın biyokimyasal testler sonuçlarına göre *E. coli* türüne ait oldukları belirlendi. Ancak, test sonuçları izolatların kendi aralarında ayrımı için yeterli olmadığı da görüldü. Diğer taraftan, antibiyogram sonuçları, bütün suşların penisilin türevi antibiyotiklere karşı direnç kazandıklarını ortaya koydu. Elde edilen sonuçlar ülkemiz ve dünya literatüründe bildirilen diğer sonuçlarla benzerlik göstermektedir (Köksal ve Samastı 2002; Weinstein ve Hayden 1998; Eisestein ve Zaleznik 2000).

Bütün *E. coli* suşların en az bir plazmit içerdiği belirlendi (Şekil 1). Bazı araştırmacılar, mastitis tanısı konmuş hayvanlardan izole edilen *E. coli* izolatlarının ve hayvan kesimhanelerinden izole edilen *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus* ve *Campylobacter* suşlarının ayrımında plazmit profillerine göre yapılan ayrımı faydalı olmadığı, ancak diğer moleküler ve epidemiyolojik tekniklerle beraber uygulandığında faydalı olabileceğini rapor etmektedirler (Uçan ve ark. 2003; Açık ve ark. 2005). Her iki çalışmadan elde edilen bulgular bu araştırmadan elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir.



Şekil 5. 13 adet *E. coli* suşunun SDS-PAGE ile elde edilen toplam ekstraselüler protein profilleri esas alınarak (UPGMA) oluşturulan dendrogram.

Bu araştırmada incelenen 13 adet *E. coli* suşunun toplam hücre ve toplam hücre dışı proteinlerinin elektroforetik desenlerine göre karşılaştırılması yapıldı. Toplam hücre proteinlerinin SDS-PAGE analiz sonuçlarına göre, suşların hepsinin yüksek düzeyde benzer bant profillerine sahip oldukları görüldü. Bu sonuçlara göre toplam hücre protein profillerine göre suşlar arasında bir ayrım yapmanın oldukça güç olduğu belirlendi. Bizim bu

çalışmadan elde ettiğimiz sonuçların daha önce yapılmış bazı çalışmalarla uyumlu olduğu tespit edildi (Berber ve ark. 2003; Uçan ve ark. 2003; Açık ve ark. 2005). Diğer taraftan, toplam hücre dışı proteinlerinin SDS-PAGE sonuçları incelendiğinde, toplam hücre protein profillerinde olduğu gibi bütün suşların oldukça benzer bant profillerine sahip oldukları belirlenmiştir. Bazı bakteri türlerinin tür altı düzeyde ayırımında toplam hücre dışı protein profillerinin daha faydalı olduğu bildirilmektedir (Berber ve ark. 2003). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar bu durumu desteklemektedir.

Toplam hücre protein profilleri esas alınarak yapılan nümerik analiz, benzerlik oranı % 71 ve üzerinde 2 farklı grubun varlığını ortaya koydu. Bütün suşlar arasındaki benzerlik yüzdesinin % 71 ve üzerinde olması incelenen suşların identik olduğunu gösterdi. Gerçekten, toplam hücre protein profilleri esas alınarak yapılan nümerik analiz sonuçlarının suşlar arasında çok önemli farklılıklar ortaya koyamadığını ve tür altı düzeyde suşlar arasında bir ayırım yapmanın güç olduğunu ortaya koydu. Ayrıca, toplam hücre dışı protein profilleri esas alınarak yapılan nümerik analiz, benzerlik oranı % 60 ve üzerinde 3 farklı grup ortaya koydu. Bununla birlikte, toplam hücre dışı protein profilleri esas alınarak yapılan nümerik analizin toplam hücre protein profilleri esas alınarak yapılan nümerik analize kıyasla daha ayırıcı olduğunu gösterdi.

## Sonuç

Birçok araştırmacı poliakrilamid jel elektroforeziyle (PAGE) elde edilen yüksek ayırım gücüne sahip protein profillerinin bilgisayar kullanılarak yapılan nümerik analiz değerlendirmelerinin çoğu bakteri cinsine giren tür ve tür altı taksonların ayırımında ve taksonomik ilişkilerinin belirlenmesinde oldukça başarılı sonuçlar verdiğini bildirmektedirler (Berber ve Berber 2006; Costas ve ark. 1993; Zarnowski ve ark. 2001). Bu çalışmada, SDS-PAGE yöntemiyle elde edilen toplam hücre ve toplam hücre dışı protein profillerinin nümerik analiz sonuçlarının biyokimyasal testlerden elde edilen sonuçlara oranla tür altı seviyede daha faydalı olduğunu, bununla birlikte hücre dışı proteinlerini esas alarak yapılan nümerik analizin toplam hücre proteinlerini esas alan nümerik analize göre daha etkili ve kullanışlı olduğunu da gösterdi. Gerçekten, hastanelerde enfeksiyona neden olan patojenik *E. coli* suşlarının hızlı ve doğru tanısı enfeksiyon ve buna bağlı olarak ortaya çıkacak olan salgınların kontrol altına alınması için çok önemlidir. Sonuç olarak bu çalışma, insan patojeni *E. coli* izolatlarının ayırımında rutin biyokimyasal testlerin yetersiz kaldığı durumlarda bir veya birden fazla moleküler tekniğin birlikte kullanılmasının faydalı olacağını ortaya koydu. Diğer yandan, bu çalışmada yalnızca Van ilinden toplanan az sayıda *E. coli* izolatı incelendiği için genel bir değerlendirme yapmak zordur. Bu yüzden bölgedeki farklı illerden toplanarak yapılacak olan daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## Kaynaklar

Açık, L., A. Temiz, A. Çelebi, S. Arslan, R. Yılmaz, 2005. Protein Patterns and Plasmid Profiles of the Bacterial Strains Isolated from a Poultry Slaughterhouse in Ankara, Turkey. Food Technology and Biotechnology. 43: 255–262.

Allison, L., A. Stirrat, F.M. Thomson-Carter, 1998. Genetic Heterogeneity of *Escherichia coli* O157:H7 in Scotland and

its Utility in strain Subtyping. Eur J Microbiol Infect Dis. 17: 844-848.

Bachmann, B.J., 1990. Linkage map of *Escherichia coli* K–12, edition 8. Microbiol Rev. 54: 130-197.

Berber, I., C. Cokmus, E. Atalan, 2003. Characterization of *Staphylococcus* species by SDS-PAGE of whole-cell and extracellular proteins. Microbiol. 72: 42-47.

Berber, I., S. Berber, 2006. Numerical Analysis of SDS-PAGE Protein Patterns of Facultative Alkaliphilic *Bacillus* Species Isolated from Lake Van, Turkey. Fresenius Environmental Bulletin. 15: 409-416.

Bettalheim, K.A., 1992. The Genus *Escherichia*. In: Balows A, Trüper HG, Drowkin M, Tno, WH, Schleifer KH, eds. The Prokaryotes. Springer-Verlag. 2697–2711s., London.

Bettalheim, K.A., Thompson, C.J. 1987. New Method of Serotyping *Escherichia coli*: implementation and verification. J Clin Microbiol. 25: 781-786.

Clink, J., T.H. Pennington, 1987. Staphylococcal Whole Cell Polypeptide Analysis: Evaluation as a Taxonomic and Typing Tool. J Med Microbiol. 23: 41-44.

Costas, M., B. Holmes, K.A. Frith, C. Riddle, P.M. Hawkey, 1993. Identification and typing of *Proteus penneri* and *Proteus vulgaris* biogroups 2 and 3, from clinical sources, by computerized analysis of electrophoretic protein patterns. J Appl Bacteriol. 75: 489-498.

Coutrier, M., F. Bex, P.L. Berguist, W.K. Maas, 1988. Identification and classification of bacterial plasmids. Microbiol Rev. 52: 375–395.

Eisestein, B.I., D.F. Zaleznik, 2000. *Enterobacteriaceae*. In: Mandell, GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Mandell Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infections Diseases. Churchill Livingstone. 2294s., Philadelphia.

Elliott, J.A., R.R. Facklam, 1993. Identification of *Leuconostoc* spp. by Analysis of Soluble Whole-Cell Protein Patterns. J Clin Microbiol. 31: 1030–1033.

Farmer, J.J., Davis, B.R., Hickman-Brenner, F.W., McWorter, A., Huntley-Carter, G.P., Asbur, M.A., Riddle, C., Wathe-Grady, H.G., Elias, C., Fanning, G.R., Steigerwalt, A.G., O'Hara, C.M., Morris, G.K., Smith, P.B., Brenner, D.J., 1985. Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. J Clin Microbiol. 21: 46-76.

Fournier, M.J., H. Ozeki, 1985. Structure and organization of the transfer ribonucleic acid genes of *Escherichia coli*. Bacteriol Rev. 49: 379-397.

Harbart, S., W. Albrich, D.A. Goldmann, J. Huebner, 2001. Control of multiply resistant cocci: do international comparisons help? The Lancet Infectious Diseases. 1: 251-261.

Ikemura, T., 1981. Correlation between the abundance of *Escherichia coli* transfer RNAs and the occurrence of the respective codons in its protein genes. J Mol Biol. 146: 1-21.

Khakhria, R., D. Duck, H. Lior, 1990. Extended phage-typing scheme for *Escherichia coli* O157:H7. Epidemiol Infect. 105: 511-520.

Ko, J., Y. Lee, 2006. RNA-conjugated template-switching RT-PCR method for generating an *Escherichia coli* cDNA library for small RNAs. J Microbiol Met. 64: 297-304.

Köksal, F., M., Samastı, 2002. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Enterik Bakterilerin Antibiyotiklere Direnç Durumu. Klinik Derg. 15: 25-28.

- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (London)*. 227: 680-685.
- Mitscher, L.A., 1999. Multiple Drug Resistance. *Med Res Rev.* 19: 477-496.
- Singer, M., Baker, T.A., Schnitzler, G., Deischel, S.M., Goel, M., Dove, W., Jaaks, K.J., Grossman, A.D., Erickson, J.W., Grossman, C.A., 1989. A collection of strains containing genetically linked alternating antibiotic resistance element for genetic mapping of *Escherichia coli*. *Microbiol Rev.* 53: 1-24.
- Uçan, S.U., L. Açık, A. Çelebi, O. Erganiş, E. Arslan, 2003. Plasmids and Protein Patterns of *Escherichia coli* Isolated from Bovine Mastitis in Konya, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci.* 29: 475-480.
- Viksvveen, P., 2003. Antibiotics and the development of resistant microorganisms. Can homeopathy be an alternative? *Homeopathy.* 92: 99-107.
- Weinstein, R.A., M.K. Hayden, 1998. Multiply drug-resistant pathogens: epidemiology and control. In: Bennet, J.V., Brachman, P.S., eds. *Hospital Infections*. Lippincott-Raven. 215s., Philadelphia.
- Wessel, D., U.I. Flugge, 1984. A Method for the Quantitative Recovery of Protein in Dilute Solution in the Presence of Detergents and Lipids. *Analytical Biochemistry.* 138: 141-143.
- Zarnowski, R., J. Eichel, T. Lewicka, H. Rozycki, S.J. Pietr, 2001. Protein fingerprinting as a complementary tool for the classification of *Pseudomonas* bacteria. *Cellular and Molecular Biology Letters.* 6: 913-923.
- Zhou, C., Y. Yang, A.Y. Jong, 1990. Miniprep in ten minutes. *Biotechnology.* 8: 172-173.

## Nematik Sıvı Kristal Bir Filmin Elektro-Optik Özelliklerinin İncelenmesi

Nilay ÖZÇANKAYA , Rıdvan KARAPINAR  
Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Van

**Özet:** Nematik sıvı kristal ince filmler bilgi gösterimi amacıyla çeşitli gösterge amaçlı elektro-optik devrelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Nematik sıvı kristal bir ortamda moleküllerin ortalama yönelim doğrultusundaki bir değişim, maddenin özelliklerini ortam içinde aydınlık ve karanlık alanlar oluşturacak biçimde değiştirir. Bu durum çeşitli elektro-optik olayların ortaya çıkmasına neden olur. Bu çalışmada nematik sıvı kristal ince bir filmin bazı elektro-optik özellikleri araştırılmıştır. Nematik sıvı kristal bir filme bir elektrik alan uygulanarak filmde geçen ışık şiddetindeki değişimler optiksel olarak incelenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Elektro-optik tepki, ışık geçişi, nematik faz.

### Investigation of Electro-Optical Properties of a Nematic Liquid Crystal Film

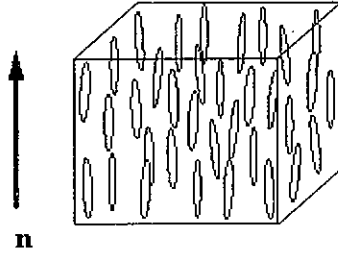
**Abstract:** Nematic liquid crystal thin films are used widely in many information display devices. Any variation of the molecular orientation gives rise to bright and dark regions in the nematic liquid crystal phase. This effect leads to several electro-optical effects in the medium. In this work, some of the electro-optical properties of a nematic liquid crystal thin film have been investigated. By applying an electric field to the nematic liquid crystal film, light transmission characteristics have been optically analyzed.

**Key words:** Electro-optic response, light transmission, nematic phase.

#### Giriş

Nematik sıvı kristal (NSK) bir fazda moleküller konumsal bir düzene sahip değildir. Ancak moleküllerin uzun eksenleri ortaklaşa olarak belirli bir doğrultu boyunca dizildiklerinden, ortam içinde yönelimsel bir düzen ortaya çıkar (Şekil 1). Bu yönelimsel düzenlenmeden dolayı, ortamın fiziksel özelliklerinde bir anizotropi gözlenir. Nematik fazdaki moleküllerin yönelim doğrultusu tercih edilen bir doğrultu

olduğundan, bu yönelim direktör adı verilen  $\mathbf{n}$  gibi bir yön vektörü ile temsil edilir ve bu vektör nematik fazın özellikleri için bir simetri eksenini olarak değerlendirilir. Eğer moleküller bir dipol momente sahiptirler, moleküllerin  $\mathbf{n}$  ve  $-\mathbf{n}$  boyunca yönelimleri eşit olasılıkla gerçekleşir. Bu sonuç direktörün  $180^\circ$  dönmesi durumunda ortamın fiziksel özelliklerinin korunumlu olacağını belirtir.



Şekil 1. Nematik fazda moleküler düzenlenme.

Nematik fazdaki moleküllerin düzenlenme derecesini tanımlamak üzere bir düzen parametresi tanımlanabilir.

Bu moleküler düzen parametresinin alabileceği değerler ise,

$$S = \int f(\theta) \frac{1}{2} (3 \cos^2 \theta - 1) d\Omega = \frac{1}{2} \langle 3 \cos^2 \theta - 1 \rangle \quad (1)$$

bağıntısı ile verilir. Burada  $\theta$  bir molekülün uzun eksenini ile direktör arasındaki açıdır. Tam mükemmel bir düzen için (yani moleküllerin tümünün  $\mathbf{n}$  doğrultusunda yönelmiş durumda)  $\theta = 0$  ve  $S = 1$ 'dir. Düzenin olmadığı rasgele bir yönelim için  $\theta$ 'nın tüm değerleri eşit olasılıkla olması olası olduğundan  $S = 0$ 'dır. Kısmi düzenlenmeler için  $S$  parametresi 0 ile 1 arasında değerler alır. Yani,  $\theta = 0$  ve  $\theta$

$= \pi$  için,  $\cos \theta = \pm 1$  ve  $S = 1$ 'dir.  $\theta = \pi/2$  için  $S = -1/2$  olup bu durum  $\mathbf{n}$  vektörüne dik yönelimleri ifade ettiğinden fiziksel bakımdan anlamsızdır. İzotropik fazda ortaya çıkan rasgele yönelme hareketleri için  $\langle \cos \theta \rangle = 1/3$  ve  $S = 0$  değerleri geçerlidir. Ortamdaki düzen arttıkça  $S$ 'nin değeri 1'e yaklaşmaktadır.  $S$  düzen parametresi ortamdaki sıcaklığın bir fonksiyonudur.  $T_c$  kritik sıcaklığı nematik fazdan izotropik

faza geçiş sıcaklığı olmak üzere,  $T < T_c$  için  $S$  düzen parametresi sıcaklığa bağlı olarak monoton olarak azalır.  $S$  düzen parametresinin maksimum değeri 0.7-0.8 arasında değişmektedir. NSK maddelerin çift kırıcılık ve optikçe aktiflik gibi bir çok optiksel özelliği, oldukça zayıf dış uyarımlara karşı duyarlıdır. Dışarıdan uygulanan elektrik alanı NSK bir maddenin optik özelliklerini etkiler. Nematik bir ortamdaki moleküller yönelimin bir elektrik alan tarafından değişebilmesi ve bu tür ortamların anizotropik optik özelliklere sahip olması, çeşitli elektro-optik olayların ortaya çıkmasına neden olur. NSK maddelerin bir elektrik alanı ile

uyarılması hakkındaki öngöründe, madde sürekli ve esnek anizotropik bir ortam olarak ele alınır. Bir elektrik alan uygulanması ile ortamda şekil değişikliği meydana gelir. Nematik bir maddeye elektrik alan uygulanırsa, elektrik alanın zayıf şiddetlerinde herhangi bir etki gözlenmez. Ancak belirli bir eşik değerinin üzerinde, direktör uygulanan alana paralel yönelir. Bu durum, direktörün konumunda değişiklik yapmak için gerekli mekaniksel şekil değişikliğine karşı gelen enerji terimi ile açıklanabilir. Böylece serbest enerji yoğunluğu

$$F_c = -\Delta\epsilon E^2 / 8\pi \quad (2)$$

ifadesi ile verilir. Burada  $\Delta\epsilon$  dielektrik sabitindeki anizotropi,  $E$  ise elektrik alan şiddetidir. Elektrik alanı uygulamasında, nematik maddenin pozitif veya negatif anizotropiye sahip olması durumuna bağlı olarak uygulanan alana paralel veya

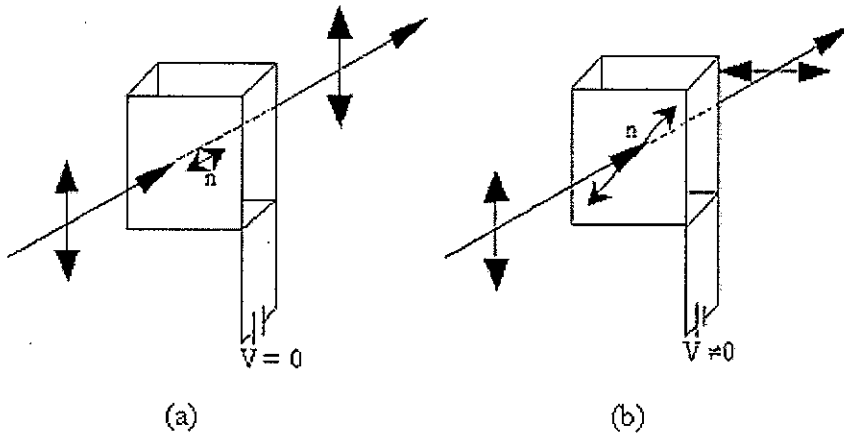
dik yönelimler gerçekleşir. Uygulanan elektrik alanın kritik değeri, ortamın esneklik sabitlerine ve dielektrik sabitine bağlı olarak aşağıdaki bağıntıyla verilir:

$$E_c = (\pi / d) [K_{ii} / \Delta\epsilon]^{1/2} \quad (3)$$

Burada  $K_{ii}$  ( $i= 1,2,3$ ) Frank esneklik sabitleri,  $\Delta\epsilon$  dielektrik anizotropi ve  $d$  ise film kalınlığıdır.

Nematik moleküller bir dipole sahiptir. Yani, molekülün bir ucu pozitif yüke diğer ucu negatif yüke sahiptir. Bir elektrik alanı uygulandığında, dipolün pozitif ucu alan boyunca olacak biçimde yönelim gösterir. Bu durum ortamdaki elektro-optik olayın oluşum mekanizmasında önemli bir etkidir. Katı bir madde de dipoller kristal örgüye çok sıkı bağlıdır. Normal bir sıvıda ise moleküllerin termal hareketi moleküllerin dipol yönelimlerini etkiler. Oysa nematik bir ortamda kısmen düzenli ve esnek bir durumun varlığı, dipollerin uygulanan alan ile etkileşmelerini sağlar. Dipoller direktör yönelimine göre belli bir konumda

olmalarına rağmen, uygulanan alan optik eksenini değiştirir. Genellikle dielektrik sabiti optik eksen boyunca daha büyük olduğundan, uygulanan elektrik alanı direktörü dielektrik sabitinin maksimum olduğu elektrik alan doğrultusunda yöneltir. NSK maddelerin sahip olduğu anizotropik davranış nedeniyle, elektrik alan uygulanması durumunda nematik maddeden geçen ışığın kutuplanma özellikleri değişime uğrar. Bu durum basitçe Şekil 2'de gösterilmektedir. Alan uygulanmadığı durumda (Şekil 2-a) direktöre dik olacak biçimde ortam üzerine düşen ışığın titreşim doğrultusunda herhangi bir değişim meydana gelmez. Ancak nematik ortama elektrik alanı uygulandığında (Şekil 2-b), çizgisel kutuplanmış ışık demetinin kutuplanma doğrultusu değişime uğrar.



Şekil 2. Nematik bir ortamdan ışık geçişinin elektrik alan ile değişimi.



Son yıllarda, NSK maddelerin elektro-optik özelliklerinin incelenmesine yönelik çalışmalara gittikçe artan bir ilginin olduğu gözlenmektedir. Bu amaca yönelik olarak yapılan araştırmalar sonucunda elde edilen deneysel veriler, çeşitli elektro-optik cihazların yapımında teknolojik açıdan büyük önem taşımaktadır. NSK göstergeler üzerine genel bir çalışma Schadt tarafından verilmektedir (Schadt, 1989). Bu tür gösterge devrelerinde çeşitli arafazlar arasında en yaygın olarak kullanılanı nematik maddelerdir. Bu nedenle, nematik maddelerin çeşitli elektro-optik özelliklerinin incelenmesi geniş bir araştırma alanını oluşturmaktadır (Fünfschilling, 1991; Karapınar ve Gündüz, 1994; Karapınar ve Gündüz, 1992; MacGregor, 1988).

Nematik bir ortamdaki moleküllerin yönelmelerini sağlamak üzere uygulanan yüzey etkinlik işlemleri hakkında literatürde geniş bir bilgi edinmek mümkündür (Sato ve ark., 1972; Uchida ve ark., 1972). Ancak uygulanan işlemlerin moleküllerin yönelme konumlarını nasıl etkilediği tam olarak belirlenmiş değildir. Genel olarak levha yüzeyleri ile moleküller arasında Van der Waals, hidrojen bağları, dipol-dipol etkileri gibi fiziko-kimyasal kuvvetlerin etkili olduğu belirtilmektedir (Kahn, 1972).

NSK maddelerin çeşitli gösterge devrelerindeki kullanımı yoğun bir araştırma alanıdır. Bu konuda yapılan çalışmalar özellikle bükümlü nematik bir göstergenin çalışması ve yanıt süresi gibi parametreler üzerinedir. Yine nematik bir maddenin uygulanan voltaja bağlı bükülme etkisi, bir yüzeyi sürtme işlemi ile elde edilen planar yönelimli, diğer yüzü ise ışık etkisiyle elde edilen bir yönelim tabakasından oluşmuş film kullanılarak incelenmiştir (Bryan-Brown ve ark., 1998).

Yüksek performanslı bükümlü nematik göstergenin yapımı Guo ve Kwok (2000) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu tür bir cihaz diğer bükümlü nematik göstergelerden farklı olarak çapraz polarizöre gereksinim duymamaktadır.

Nematik bir ortamdaki dinamik akış ile direktör arasındaki etkileşmeye bağlı olarak filmin elektro-optik yanıtı çeşitli araştırmalarda incelenmiştir (Qian ve ark., 1997). Söz konusu çalışmada geniş bir video voltaj bölgesinde faza bağlı modülasyonun elde edilebileceği ve bükümlü nematik televizyonun polarizasyon halleri optik bir düzenele incelenmiştir. Uygulanan voltaja bağlı olarak parlaklık, kontrast değerleri ve ışık geçirgenliği araştırılmıştır.

Bükümlü nematik bir filmin kutuplanmaya bağlı elektro-optik davranışı deneysel olarak incelenmiş ve bu tür bir cihazın ışık geçirgenliği uygulanan voltaja ve dalga boyuna bağlı olarak araştırılmıştır (Wang ve ark., 2004). Yine Monte-Carlo simülasyon modeli kullanılarak bükümlü nematik bir filmin çapraz polarizörler arasındaki optik yapıları hesaplanmıştır (Berggen ve ark., 1995). Başka bir çalışmada ise yansıma modlu bükümlü nematik bir filmin yüksek voltaja bağlı davranışı teorik olarak incelenmiştir (Zhu ve ark., 2003). Bükümlü nematik bir filmin elektrik alanındaki elektro-optik davranışları Chen ve Lee (2005) tarafından incelenmiştir.

Nematik bir filmin optik modülasyonu ve bununla ilgili çalışma mekanizması Merlin ve ark. (2005) tarafından incelenmiştir. Yine Karapınar (2005) ve Karapınar ve Gülebağlan (2004) tarafından yapılan çalışmalarda bükümlü nematik filmlerin bazı optiksel özellikleri incelenmiştir.

Bu çalışmada, NSK bir filmin yapımı ve bu filmin bazı elektro-optik özellikleri, yukarıda sözü edilen araştırmalar göz önünde bulundurularak çalışma konusu edilmektedir.

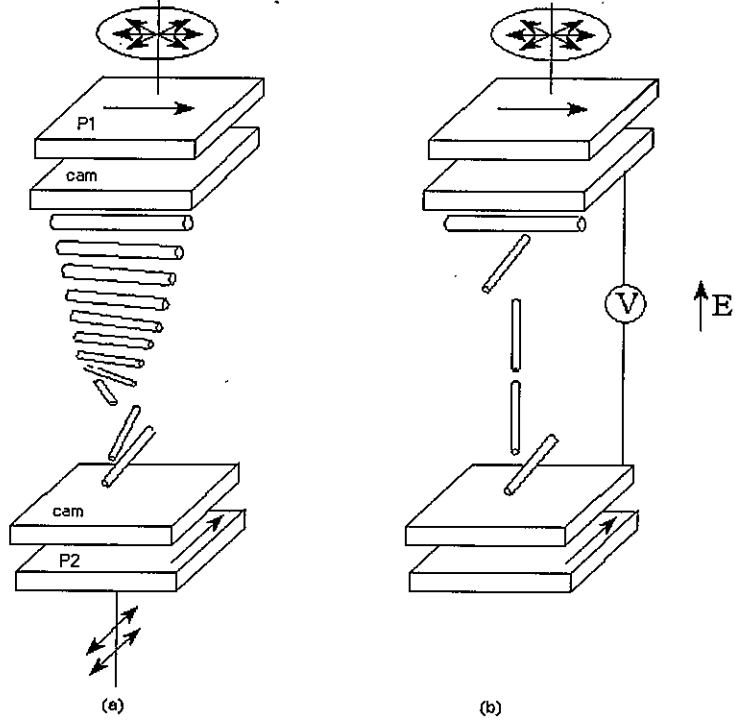
## Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada kullanılan nematik madde 4-pentil-4'-siyanobifenil ve terfenil karışımı olup, oda sıcaklığında nematik faz gösteren bir maddedir. Siyanobifenil ve siyanoterfenil bileşikler, kimyasal ve fotokimyasal kararlılık göstermeleri, hızlı yanıt sürelerine sahip olmaları ve oda sıcaklığında nematik faz göstermeleri nedeniyle çeşitli elektro-optik gösterge devrelerinde kullanılır. BL001 kod adı ile belirtilen bu bileşiğin nematik faz geçiş sıcaklığı 60°C dir. Bu madde pozitif dielektrik anizotropiye sahiptir. Maddenin olağan ve olağanüstü kırılma indisleri değerleri sırasıyla  $n_o = 1.52$  ve  $n_e = 1.74'$  dir.

Nematik bir ortamın elektro-optik özelliklerinin araştırılması için, bu tür ortamdaki moleküllerin durağan denge konumlarının önceden belirlenmiş olması gereklidir. Buna ek olarak, ortamın türbid bir görünüm sergilemesi nedeniyle, kullanılan nematik filmlerin saydam olması gereklidir. Bu nedenle deneysel incelemelerde ince filmlerin kullanılması zorunludur. Bu çalışmada cam levhalar arasına konulan nematik bir ortamdaki moleküllerin levha yüzeylerine paralel yönelimini sağlayabilmek için cam levha yüzeylerine bir yüzey etkinlik işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla film levhalarına aynı doğrultuda sürtme işlemi uygulanarak moleküllerin film yüzeylerine paralel olacak biçimde yöneldiği planar nematik bir film elde edilmiştir. Mylar şeritler cam levhalar arasına uygun biçimde yerleştirilerek kalınlığı  $d = 13 \mu\text{m}$  olan ince bir filmin oluşumu gerçekleştirilmiştir. Nematik madde mylar şeritlerle sınırlanan hücre içerisine bir ısıtıcı sistem kullanılarak doldurulmuştur. Elde edilen nematik filmdeki moleküllerin yönelim durumu polarizör sistemine sahip bir polarize mikroskop yardımıyla incelenmiştir.

NSK filmin elektro-optik davranışını incelemek için kullanılan optik yöntem, nematik filme bir elektrik alan uygulanması ve bu sırada filmde geçen tek-renkli çizgisel kutuplanmış ışığın analiz edilmesi ilkesine dayanmaktadır. Nematik filme 0-5 Volt AC gerilimleri uygulanarak filmde geçen tek-renkli ışık (632.8 nm) şiddeti bir fotodetektör ile ölçülmüştür. Yine nematik filmde geçen ışık şiddetinin dalgaboyuna bağlı değişimi görünür bölge için bir spektrofotometre ile incelenmiştir.

Bu çalışmada aralarına nematik maddenin konulduğu yüzeylerin birbirlerine göre 90° bükülmesi ile oluşan, ancak her bir film yüzeyinde planar bir yönelimin bulunduğu bükümlü nematik filmler elde edilmiştir. Bu tür yönelimli bir yapıya bir dış elektrik alanı uygulandığında, ortamdaki bükümlü yapının bozulması sonucu, ortamdaki geçen ışığın optik özelliklerinde bir değişim ortaya çıkmaktadır (Şekil.3).



Şekil 3. Bükümlü nematik bir filmin çalışma ilkesi. (a)  $V = 0$ , (b)  $V \neq 0$ .

Şekil 3-a'da görüldüğü gibi üst ve alt levhalar arasında  $90^\circ$ 'lik bir bükülme açısı sağlanarak moleküller her iki levha düzlemine paralel gelecek şekilde yöneltilirken, bu tür yapıya düşen ışık bükümlü yapıyı izleyecek biçimde ortamdaki ayrılır. Ancak bir elektrik alan uygulanması (Şekil 3-b) durumunda, bu moleküller yönelim değişir. Çarpaz polarizör sistemi arasındaki bu tür bir yapıdan ışık geçişi

gerçekleşmez. Böylece bükümlü nematik film üzerine elektrik alanı uygulanarak içinden geçen ışık geçişi kontrol edilebilir.

Filmin aralarına konulduğu polarizör ve analizör sisteminin titreşim düzlemleri birbirlerine göre  $90^\circ$ 'lik açı ile konumlandırıldığında, filminden geçen ışık şiddeti

$$I(\theta) = \frac{1}{2} \sin^2(2\theta) \sin^2(\pi \Delta n d / \lambda) \quad (4)$$

bağıntısı ile verilir. Burada  $d$  filmin kalınlığı,  $\lambda$  ışığın dalga boyu,  $\Delta n$  ise ortamın çift kırıcılığıdır. NSK bir filmde voltaja bağlı ışık geçişinin incelenmesi görünür bölgede nematik maddenin çift kırıcılığının belirlenmesine olanak sağlar.

NSK filme bir  $V$  potansiyel farkı uygulandığında ortamın dielektrik anizotropisinden dolayı moleküller artık levhalara paralel olmayacak ve elektrostatik enerjinin minimum olacağı biçimde levha yüzeylerine dik olarak yöneleceklerdir.

Bükümlü NSK bir filme uygulanan voltajın eşik değeri teorik olarak aşağıdaki bağıntı ile verilmektedir. Bu bağıntıdan, nematik filme uygulanması gereken potansiyel farkının, ortamın esnek şekil değişimini ifade eden Frank esneklik sabitlerine ve ortamın dielektrik sabitlerine bağlı olduğu görülmektedir.

$$V = \pi \left( \frac{K_{11} + (K_{33} - 2K_{22}) / 4}{\epsilon_0 \Delta \epsilon} \right)^{1/2} \quad (5)$$

### Bulgular ve Tartışma

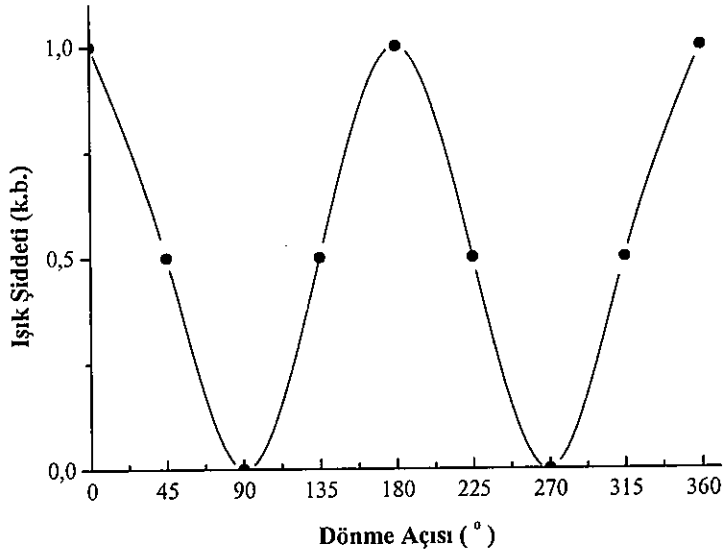
Yapılan deneylerde sürtme yöntemi ile elde edilen nematik filmlerdeki moleküllerin yönelim durumu polarize bir mikroskop altında incelenmiştir. Bu tür filmlerin bir dış

elektrik alandaki davranışı ve buna ek olarak filme uygulanan elektrik alan etkisiyle ortamdaki ışık geçirgenliği bir optik sistem yardımıyla araştırılmıştır. Bu amaca uygun olarak geliştirilen deneysel yöntem, bükümlü bir nematik filme elektrik alan uygulanması ve bu sırada filminden geçen

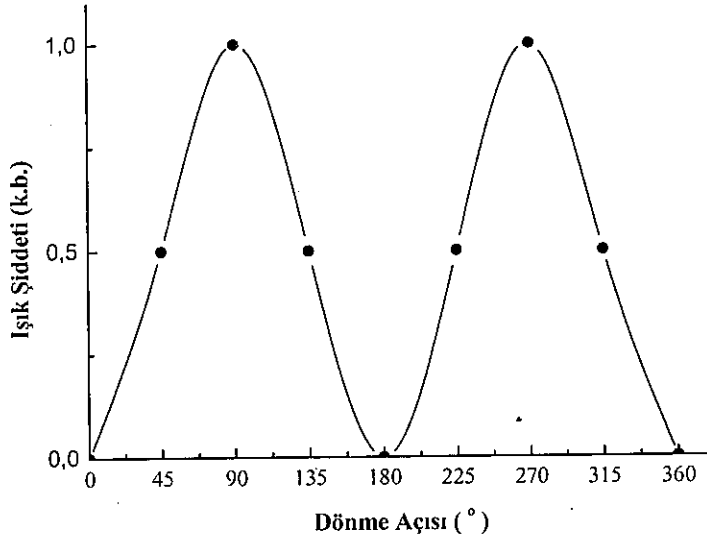
tek-renkli çizgisel kutuplanmış ışığın analiz edilmesi esasına dayanmaktadır.

Bükümlü nematik filmdeki ışık geçirgenliğinin incelenmesi amacıyla çapraz polarizörler arasına konulan film belirli açılarda döndürülerek ortamdaki ışık geçişi incelenmiştir. Çapraz polarizörler arasındaki filmde geçen ışık şiddetinde her 90°'lik döndürme ile maksimum ve minimum değerler gözlenmiştir. Çapraz polarizörler arasındaki bükümlü nematik filmde geçen ışık şiddetinin dönme açısına bağlılığı Şekil 4'de gösterilmektedir. Filmin polarizörler arasında 0°-360° döndürülmesiyle  $\theta = 90^\circ$  ve

270° değerlerinde film karanlık görünmektedir. Döndürme açısının  $\theta = 0^\circ, 180^\circ$  ve  $360^\circ$  değerlerinde ise aydınlık konular ortaya çıkmaktadır. Yine filmin geçirgenlik eksenleri birbirine paralel olan polarizörler arasında benzer biçimde incelenmesi ile elde edilen sonuçlar Şekil 5'de verilmektedir. Burada, nematik filmin polarizörler arasında 0°-360° döndürülmesiyle  $\theta = 0^\circ, 180^\circ$  ve  $360^\circ$  değerlerinde film karanlık görünmekte, ancak döndürme açısının  $\theta = 90^\circ$  ve  $270^\circ$  değerlerinde ise parlak konular ortaya çıkmaktadır.



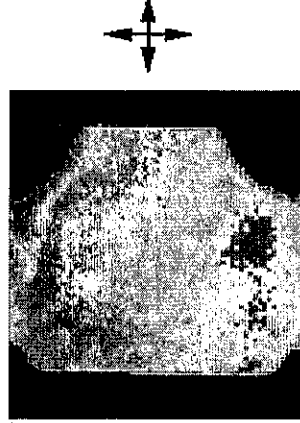
Şekil 4. Çapraz polarizörler arasındaki nematik filmde geçen ışık şiddeti.



Şekil 5. Paralel polarizörler arasındaki nematik filmde geçen ışık şiddeti.

Yapılan incelemeler filmde bükümlü yönelimin gerçekleştiğini göstermektedir. Filme uygulanan sürtme işlemi doğrultusu polarizörlerden birisinin geçirgenlik eksenini boyunca olacak biçimde seçildiğinde, ortamdaki ışık geçişi maksimum olmaktadır. Bu durum, filmdeki optik eksen doğrultusunun yani moleküllerin ortalama yönelim

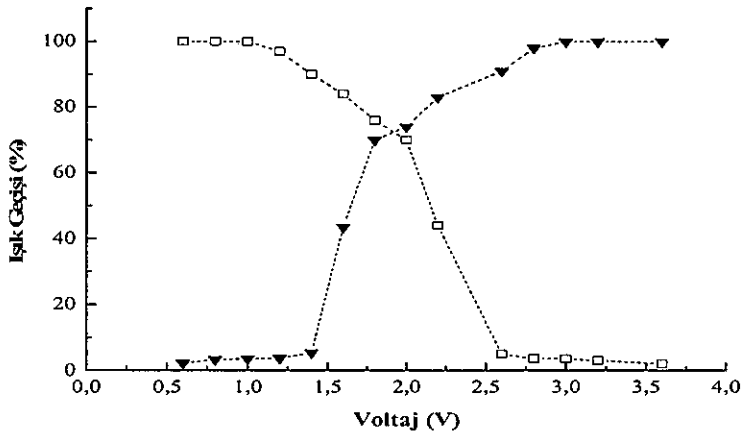
doğrultusunun sürtme doğrultusu boyunca ortaya çıktığını belirtmektedir. Şekil 6'da çapraz polarizörler arasındaki bükümlü nematik filmin fotoğrafı gösterilmektedir. Şekilde koyu oklar, polarizörlerin birbirlerine göre yönelimini belirtmektedir.



Şekil 6. Çapraz polarizör sistemi arasında bükümlü nematik bir filmin makroskopik fotoğrafı.

Nematik bir madde oda sıcaklığında soğutulduğunda sahip olduğu bölgelerin kırılma indislerindeki farklılık nedeniyle bulutsu bir görünüm sergilemektedir. Film levhaları arasına konulan nematik maddede çok sayıda bölgelik her biri kendine ait bir düzene sahiptir. Ancak, yönelmiş numuneler polarize mikroskop altında incelendiğinde, yönelmiş numunedeki düzenin kuvvetli bir çift kırıcılık etkisine neden olduğu gözlenir. Yönelmiş filmin yönelim doğrultusu polarizörlerden birisine paralel olacak biçimde döndürülürse film karanlık görünür. Ancak film polarizörlere göre 45°'lik bir açı yapacak şekilde döndürülürse numune parlak görünür.

Bükümlü nematik bir filmde ışığın kutuplanması Mauguin şartı gerçekleştiği durumda ortamdaki nematik moleküllerin 90°'lik bükümlerini izleyecek biçimde ortamda ilerler. Bu durumun oluşması için filmin kalınlığı ( $d$ ) ve nematik ortamın çift kırıcılığı ( $\Delta n$ )'nin çarpımının ortam üzerine gelen ışığın dalga boyundan ( $\lambda$ )'dan daha büyük olması gerekir. Yapılan deneyde filmin kalınlığı  $d = 13 \mu\text{m}$  ve optik anizotropi için  $\Delta n = 0.22$  alındığında  $2.86 \times 10^{-6} \text{ m} \gg 6.33 \times 10^{-7} \text{ m}$  olduğu görülür. Bu Mauguin koşulunu sağlamaktadır. Nematik filminden geçen ışık şiddetinin uygulanan voltaja bağlılığı Şekil 7'de gösterilmektedir.



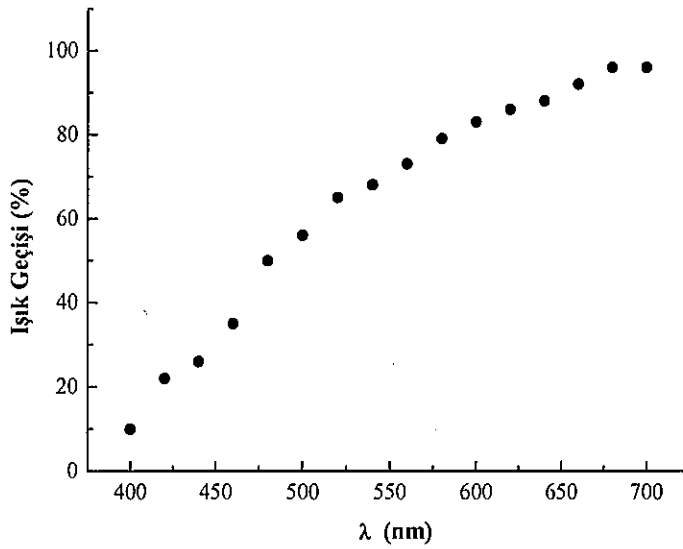
Şekil 7. Çapraz (□) ve paralel (▼) polarizörler arasındaki nematik filminden geçen ışık şiddeti.

NSK filmin elektro-optik özelliklerini incelemeye iki önemli nicelik kullanılmaktadır.  $V_{10}$  filmde geçen ışık şiddetinin yüzde onuna ulaşması için gerekli voltaj olarak tanımlanır.  $V_{90}$  ise ışık şiddetinin yüzde doksan geçişini sağlamak için uygulanması gereken voltaj değeridir.  $V_{TH}$  eşik voltajı ise nematik filmin çalışmaya başladığı yani ışık geçişinin oluştuğu voltaj değeridir. Ancak bu değer için  $V_{TH} = V_{10}$  alınabilir.  $\Delta V = V_{90} - V_{10}$  nematik bir filmin görüntü kalitesini belirler ve uygulamalarda bu değer büyük olması tercih edilir.

Bu çalışmada kullanılan madde için eşik voltajı 0.97 V olarak hesaplandı. Ancak deneysel sonuç olarak bu voltajın 1.41 V olduğu gözlemlendi. Yine  $V_{90}$  değeri 2.54 V olarak

bulundu. Nematik film için görüntü kalite faktörü  $\Delta V = 1.13$  V olarak hesaplandı. Elde edilen sonuçlardan görüldüğü gibi, nematik bir filmler çok küçük çalışma voltajlarında bir elektro-optik tepki göstermektedirler. Bu düşük çalışma voltajı çok az güç harcamasına neden olduğundan ( $\sim 1\mu W/cm^2$ ), bu tür maddelerin gösterge devrelerinde kullanımı oldukça önemlidir.

Bu çalışmada nematik filmin ışık geçirgenliği film üzerine düşen ışığın dalga boyuna bağlı olarak incelenmiştir (Şekil 8). Bu incelemede görünür bölge için uzun dalga boylarında filmde geçen ışık şiddetinin arttığı görülmektedir.



Şekil 8. Nematik filmde geçen ışık şiddetinin dalga boyuna bağlı değişimi.

## Kaynaklar

- Berggren, E., Zannoni, C., Chiccoli, Cesare., Pasini, P., Semeria, F., 1995. A Monte Carlo simulation of a twisted nematic liquid crystal display. *International Journal of Modern Physics*, 6:135-141.
- Bryan-Brown, G.P., Brown, C.V., Sage, I.C., Hui, V.C., 1998. Voltage-dependent anchoring of a nematic liquid crystal on a grating surface. *Nature.*, 392:365-367.
- Chen, H., Y., Lee, W., 2005. Electro-optical characteristics of a twisted nematic liquid-crystals cell doped with carbon nanotubes in a dc electric field. *Optical Review*, 12 (3):223-225.
- Fünfschilling, J., 1991. Liquid crystals and liquid crystal displays. *Condensed Matter News*, 1:12-16.
- Guo, L.X., Kwok, H.S., 2000. High performance transmittive bistable twisted nematic liquid display. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 39:1210-1216.
- Kahn, F.J., 1972. Orientation of liquid crystals by surface coupling agents. *Appl. Phys. Lett.*, 22:386-388.
- Karapınar, R., Gündüz, E., 1992. Sıvı kristal Displayler. *YYU, Fen-Ed.Fak.Fen.B.Derg.*, 3:93-105.
- Karapınar, R., Gündüz, E., 1994. An acousto-optic modulator with a liquid crystal. *Optics Communications*, 105:29-32.
- Karapınar, R., 2005. Bükümlü nematik sıvı kristaller. (Çağrılı Konuşma), *Geleneksel Erzurum Fizik Günleri-II*, 25-28 Mayıs 2005. Erzurum.

- Karapınar, R., Gülebağlan, S.E., 2004. Bükümlü nematik sıvı kristal bir filmin incelenmesi. 22. *Türk Fizik Kongresi*, 14-17 Eylül 2004. Bodrum.
- MacGregor, A.R., 1988. Modeling of the optical properties of twisted nematic guest-host liquid crystals. *J. Phys.D: Appl. Phys.*, 21:1438-1446.
- Merlin, J., Chao, E., Winkler, M., Singer, K.D., 2005. All-optical switching in a nematic liquid crystal twist cell. *Optics Express*, 13 (13):5024-5029.
- Qian, T. Z., Xie, Z. L., Kwok, H. S., Sheng, P., 1997. Dynamic flow and switching bistability in twisted nematic liquid crystal cells. *Appl. Phys.*, 71:596-598.
- Sato, S., Wada, M., 1972. Molecular orientation effects in compensated liquid crystals. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 11:1566-1570.
- Schadt, M., 1989. The history of the liquid crystal display and liquid crystal material technology. *Liq. Cryst.*, 5:57-71.
- Uchida, T., Watanabe, H., Wada, M., 1972. Molecular arrangement of nematic liquid crystals. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 11:1559-1565.
- Wang, Q.H., Wu, T.X., Zhu, X., Wu, S.T., 2004. Achromatic polarization switch using a film-compensated twisted nematic liquid crystal cell. *Liq. Cryst.*, 31:535-539.

# Perovskit Yapıdaki Kristallerde İzotop Yerleştirmenin Etkisi

Bahattin ERDİNÇ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, 65080 Van

**Özet:** Perovskit yapıdaki ferroelektrikte yumuşak optik fonona karşılık gelen kuvvet sabiti üzerine izotop etkisi teorik olarak incelenmiştir. Sonlu sıcaklıkta Matsubara green fonksiyonu formalizminde daha yüksek dereceli köşe (vertex) terimli kuantum mekaniksel elektron-fonon etkileşme modeli kullanılarak: yumuşak optik fonon frekansının teorisi, ferroelektrik faz geçişiyle ilişkili olan enine optik fonona karşılık gelen kuvvet sabitinin hem sıcaklığa hem de enine optik kipi indirgenmiş kütlelerine bağlılığı incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** İndirgenmiş kütle, Frekans, Geçiş sıcaklığı, Yumuşak fonon

## Effect of Isotope Investigation in Perovskite Type Crystals

**Abstract:** The isotope effect on the force constant corresponding to soft optic phonon in perovskite -type ferroelectrics is discussed theoretically. Using quantum-mechanical electron-phonon interaction model with a higher order vertex term in matsubara green function formalism at finite temperature; the theory of the frequency of soft optic phonon, both temperature and reduced mass of the soft optic phonon dependency of the force constant corresponding to soft optic phonon related to the ferroelectric phase transition are discussed.

**Key Words:** Reduced mass, Frequency, Transition temperature, Soft phonon

### Giriş

Ferroelektrik kristallere izotop yerleştirmenin bu kristallerin özelliklerinde önemli değişimler meydana getirdiği ve bu kristallerin fiziğinin daha iyi anlaşılmasına yol açtığı bilinmektedir. Bu, özellikle hidrojen bağlı ferroelektriklerde gözükmektedir. Hidrojen bağlı ferroelektriklerde iki izotop arasındaki (hidrojen ve döteryum) büyük kütle farkından dolayı döteryum yerleşimi çok büyük etkilere yol açmaktadır.

Perovskit yapıdaki ferroelektriklerin fiziksel özellikleri, izotop yerleştirme sonucunda etkilenirler. Fakat bu etkilenmenin derecesi küçüktür. Ancak, Itoh ve ark. tarafında elde edilen buluş önemli bir gelişme sağlamıştır (Itoh ve ark., 1999). SrTaO<sub>3</sub>'ün kuantum paraelektrikliği birçok araştırmacının çok ilgisini çekmiştir, çünkü paraelektrik fazın kuantum mekaniksel kararlılığı, dielektrik malzemelerde kuantum etkinin ilk örneği olarak ifade edilmiştir. Son zamanlarda, düşük sıcaklıklarda SrTaO<sub>3</sub> kristalinde doğal <sup>16</sup>O atomlarının yerine izotopu <sup>18</sup>O'le değişmesi ferroelektrikliği indüklediği gösterilmiştir (Bussmann ve ark., 2000; Ruiping ve Itoh, 2001; Kvyatkovskii, 2000; Konsin ve Sorkin, 2003).

Slater, perovskit yapıdaki ferroelektriklerinin Curie noktasında meydana gelen dielektrik bozulmayı bu yapıdaki atomlarının bir çifti arasında büyük Lorenz faktörünün bir sonucu olduğunu söylemiştir (Slater, 1950). Değişik yazarlar, perovskit yapıdaki ferroelektriklerin nedenini açıklamak için sıcaklığa bağlı yumuşak enine optik kipi ileriye sürmüşler. Daha sonra, sıcaklığa bağlı yumuşak enine optik kip kızılötesi yansıma ölçümleriyle ve elastik olmayan nötron saçılma deneyleriyle gözlenmiştir (Scott, 1974). Ferroelektrikliğinin daha detaylı ve daha nicel incelenmesi için bu temel düşünceler önemli basamaklar teşkil etmiştir.

Bu çalışmada perovskit kimyasal formülü perovskit yapıdaki ferroelektriklerdeki faz geçişlerinde yumuşak optik fonona karşılık gelen kuvvet sabitinin  $\tilde{k}_f$ , üzerine

izotop etkisi teorik olarak incelenmiştir. Sonlu sıcaklıkta yüksek dereceli köşe terimli kuantum-mekaniksel elektron-fonon etkileşme yöntemiyle yumuşak optik fononun frekansının teorisi açıklanmıştır. Yine bu model yardımıyla ferroelektrik faz geçişiyle ilişkili olan enine optik fonona (yumuşak optik fonon) karşılık gelen kuvvet sabitinin hem sıcaklığa hem de atomik kütleyle bağlılığı hesaplanmıştır. Ayrıca, bu kuvvet sabitinin yapısı ve mikroskobik doğası incelenmiştir.

### Materyal ve Yöntem

Dielektrik malzemelerde yapısal faz geçişleri üzerine hidrojen olmayan izotop etkilerinin incelenmesi fonon dinamikleriyle ilişkili olan geçişlerin mekanizmalarını açıklamak için çok önemli olmuştur. Dielektrik malzemelerde faz geçişlerinin değişik tipleri üzerine hidrojen olmayan izotop etkileri rapor edilmiştir. BaTiO<sub>3</sub> (ferroelektrik) ve PbZrO<sub>3</sub> (antiferroelektrik) için ferroelektrik veya antiferroelektrik faz geçişi üzerine izotop etkileri gösterilmiştir (Hidaka ve Oka, 1990 ; Shigemetsu ve ark., 2000).

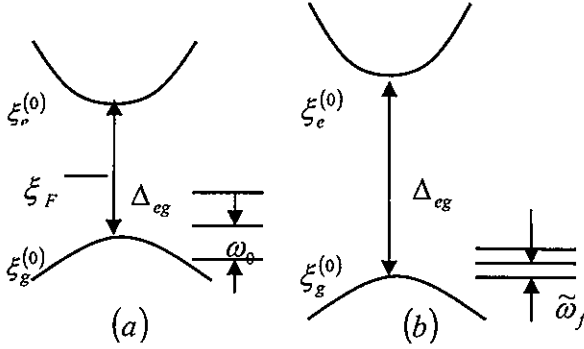
Fröhlich Hamiltoniyen'inden yararlanılarak elektron-fonon etkileşmesi durumunda sistemin Hamiltoniyeni;

$$H = \sum_k \left( \xi_{e,k}^{(0)} c_{e,k}^+ c_{e,k} + \xi_{g,k}^{(0)} c_{g,k}^+ c_{g,k} \right) + \hbar \omega_0 \left( a^+ a + 1/2 \right) + \sum_k \lambda_k \left( a^+ + a \right) \left( c_{e,k}^+ c_{g,k} + c_{g,k}^+ c_{e,k} \right). \quad (1)$$

şeklinde tanımlanır. Burada  $\xi_{e,k}^{(0)}$  ve  $\xi_{g,k}^{(0)}$  sırasıyla  $k$  dalga vektörüyle perturbe olmamış uyarılan durumun elektronik band enerjisi ve temel durumun band enerjisidir.  $c_{e,k}^+$  ve  $c_{e,k}$ ;  $c_{g,k}^+$  ve  $c_{g,k}$ ;  $a^+$  ve  $a$  sırasıyla uyarılmış durumun, taban durumun ve fononun yaratma ve yok etme operatörleridirler. Denklem 1'deki Hamiltoniyen'in parametreleri ve terimlerin anlamları literatürde verilmiş ve incelenmiştir (Hidaka, 1993). Bundan dolayı, bu çalışmada bu terimler detaylı bir şekilde incelenmemiştir.



Elektron-fonon teorisine göre, perovskit oksitlerde ferroelektriklik, oksijen  $2p$  (valans bandı) durumları ile titanyum (Ti) veya niyobyum (Nb)  $3d$  (iletim bandı) durumlarının dinamik hibridasyonu tarafından oluşmaktadır. Bu nedenle, geniş aralıklı dielektriklerde elektron-fonon etkileşme modeli Şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1. Elektron-fonon etkileşme modeli.

Elektron ve fononun perturbe olmamış Green fonksiyonu sırasıyla  $G^{(0)}$  ve  $D^{(0)}$  şeklinde tanımlanmıştır (Mahan, 1986). Matsubara formalizminde elektron ve fononun Green fonksiyonları;

Şekil 1a etkileşimsiz durumu gösterirken, Şekil 1b etkileşmeli durumu göstermektedir. Elektron-fonon etkileşmesi esnasında Şekil 1b'deki iletim ve valans band aralığı genişlerken, fononun frekansı azalmaktadır.  $\xi_F$  Fermi seviyesidir ve taban durumu elektronik seviyesi  $\xi_g^{(0)}$  ile uyarılmış durum elektronik seviyesi  $\xi_e^{(0)}$ 'nin tam ortasındadır. Burada taban durumun elektronik seviyesi  $\xi_g^{(0)}$ , Fermi seviyesinden  $\xi_F$  çok çok düşük olduğu ve uyarılmış durumun elektronik seviyesi ise  $\xi_e^{(0)}$  Fermi seviyesinden çok daha büyük olduğu kabul edilmektedir. Burada Fermi seviyesi sıfır olarak ( $\xi_F = 0$ ) ele alınmaktadır.

Tüm hallerde yüksek sıcaklık fazı daha yüksek simetriye sahip olmaktadır. Sıcaklık kritik sıcaklığa doğru azaldıkça yumuşak kipe eşlik eden yerdeğiştirme büyümeye başlamaktadır. Dolayısıyla, iyonik katılardaki pozitif ve negatif iyonların enine optik yumuşak kipe eşlik eden, zıt yönlerdeki yerdeğiştirmeleri düşük sıcaklık fazının kalıcı bir elektrikselsel kutuplanmasına sebep olmaktadır (Şekil 1).

$$G_{g,e}^{(0)} = \frac{1}{i\omega - \xi_{g,e}} \quad (2)$$

$$D^{(0)}(\omega) = \frac{1}{\omega - \omega_0 + i\delta} - \frac{1}{\omega + \omega_0 - i\delta}$$

şeklinde verilir. Burada  $g$  ve  $e$  sırasıyla temel durumu ve uyarılmış durumu işaret etmektedir.  $\omega = \pi(2n+1)/\beta$

elektronların Matsubara frekansı,  $\omega_0 = 2\pi n/\beta$  fononların Matsubara frekanslarıdır ve  $n$  bir tamsayıdır.

Etkileşen fononlar için Dyson denklemi;

$$D(\omega) = \frac{2\omega_0}{\omega^2 - \omega_0^2 - 2\omega_0 P(\omega)} \quad (3)$$

şeklinde tanımlanır (Mahan, 1986). Burada  $P$  fononun öz enerjisidir.

### Bulgular ve Tartışma

**Yumuşak optik fononun indirgenmiş kuvvet sabitinin kuantum mekaniksel teorisi:** Kuantum mekaniksel elektron-fonon etkileşmesinin genel ilkeleri doğrultusunda yumuşak fononun kuvvet sabiti iki kısma ayrılmıştır. Birincisi, sıfır sıcaklıkta yumuşak optik fononun kuvvet sabiti sıcaklıktan bağımsız ve atomik kütleyle bağlı olduğu gösterilmiştir. İkincisi, sonlu sıcaklıkta optik fononların anharmonikliğinden meydana gelen kuvvet sabitinin hem kütleyle hem de sıcaklığa bağlı olduğu ifade edilmiştir.

Ferroelektrik faz geçişiyle ilişkili olan enine optik fonona karşılık gelen genelleştirilmiş kuvvet sabitinin,  $k_f(T)$ , mikroskobik doğası ve yapısı incelenmiştir.

Düşük sıcaklık aralığında farklı pertürbasyonların varlığı, kuvantum etkinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Örgü dinamiği teorisinin genel ilkeleri doğrultusunda genelleştirilmiş kuvvet sabiti,  $k_f(T)$ , harmonik kuvvet

sabitleri  $k_h$  ve sıcaklık bağımlı anharmonik terimlerin

$k_{ah}(T)$  toplamı olarak yazılmaktadır. Keyfi bir polar enine optik fonon kipinin harmonik kuvvet sabiti,  $k_h$ , kısa erimli etkileşmeler  $k^{sr}$  ve hücreler arası dipol-dipol etkileşmelerin  $k^{dd}$  katkısından oluşmaktadır.

Ferroelektrik faz geçişi ile ilişkili enine optik fonona karşılık gelen genelleştirilmiş kuvvet sabiti;

$$k_f(T) = \mu_{TO} \omega_f^2(T) = k_h + k_{ah}(T) = k^{sr} + k^{dd} + k_{ah}(T) \quad (4)$$

şeklinde yazılabilir. Burada,  $\mu_{TO}$  yumuşak optik fononun veya enine optik fononun ( $TO$ ) indirgenmiş kütleisidir,  $\omega_f$  yumuşak optik fononun frekansdır ve sıcaklıktan bağımsız harmonik kuvvet sabiti  $k_h = k^{sr} + k^{dd}$  şeklinde yazılmıştır.

Ferroelektrik faz geçişinin, yumuşak optik fonon kavramıyla ilişkili olmasından dolayı, örgüdeki bazı optik fononların normal titreşimleri kristali kararsız duruma soktuğu söylenebilir. O zaman, bu optik fononlar belirli kararsız fononları (yumuşak optik fonon) oluştururlar. Bu yumuşak optik fononun frekansı ferroelektrik faz geçiş sıcaklığında neredeyse sıfır olmaktadır. Bunun anlamı, bu yumuşak optik fonona karşılık gelen titreşimin faz geçiş sıcaklığında donmuş olması ve sonlu bir dipol moment değerine sahip, simetrisi farklı olan yeni bir yapı

üretmesidir. Yumuşak fononun frekansı üzerine hem sıcaklığın hem de izotop yerleştirmenin etkisinin varlığı, sonlu sıcaklıkta yüksek dereceli köşe terimli kuvantum mekaniksel elektron-fonon etkileşme yöntemiyle bulunabilir.

Ferroelektrik faz geçişine sebep olan yumuşak optik fononun kuvvet sabitinin hem sıcaklığa hem de atomik kütleyle bağıllığı hesaplanırken, sıcaklığa bağlı Matsubara Green fonksiyonundan faydalanılmıştır. (Mahan, 1986 ; Kadanoff ve Baym, 1962).

Etkileşme teriminde potansiyel ( $V$ ) yeterince küçük alınır, iterasyon sonucunda sonlu sıcaklıkta fononun öz enerjisi, harmonik ve harmonik olmayan terimlerin toplamı şeklinde yazılabilir;

$$P = P^{(0)} + P^{(1)} + P^{(2)} + \dots \quad (5)$$

Genellikle,  $P^{(1)} + P^{(2)} + \dots$  terimine köşe terimi denilmektedir. Aslında, denklem 5'in sağındaki ifadeler sırasıyla fonon öz enerjisinin sıfırinci, birinci ve ikinci köşe terimlerini temsil etmektedirler. Yumuşak optik fononun kuvvet sabitinin üzerine izotop yerleştirmenin etkisinin önemi, köşe terimlerinden anlaşılır.

Fononun öz enerjisine harmonik katkı  $P^{(0)}$ ;

$$P^{(0)}(i\omega) = \frac{2\lambda^2}{\beta} \sum_{\omega} G_g^{(0)}(\xi_g, i\omega) x G_e^{(0)}(\xi_e, i\omega + i\omega_0) \quad (6)$$

olarak yazılır. Burada  $\lambda$  etkileşme katsayısıdır ve atomik kütleyle bağıllıdır, ve değeri  $\lambda \approx 1/(\omega_0\mu)^{1/2}$  olarak değişmektedir (Konsin ve Sorkin, 2003).

Benzer şekilde fonon öz enerjisinin birinci köşe terimi,

$P^{(1)}$ , aşağıdaki gibi hesaplanır;

$$P^{(1)}(i\omega) = -\frac{2\lambda^2}{\beta} \sum_{\omega} G_x^{(0)}(\xi_x, i\omega) G_e^{(0)}(\xi_e, i\omega + i\omega_0) \times \frac{\lambda^2}{\beta} \sum_{\omega'} G_g^{(0)}(\xi_g, i\omega') G_e^{(0)}(\xi_e, i\omega' - i\omega_0) D^{(1)}(i\omega) \quad (7)$$

İndirgenmiş fonon frekansının  $\omega(T)$  sıcaklığa bağıllığının hesaplanması için denklem 3'deki payda sıfıra eşitlenip ve daha sonra denklem 6 ve 7 kullanılarak;

$$\omega^2 = \frac{\omega_0^2 |A|}{T_c} (T - T_c) \quad (8)$$

$$A = \left( \frac{4\lambda^2}{\omega_0 \Delta_{eg}} - \frac{8\lambda^4}{\omega_0 \Delta_{eg}^3} - 1 \right)$$

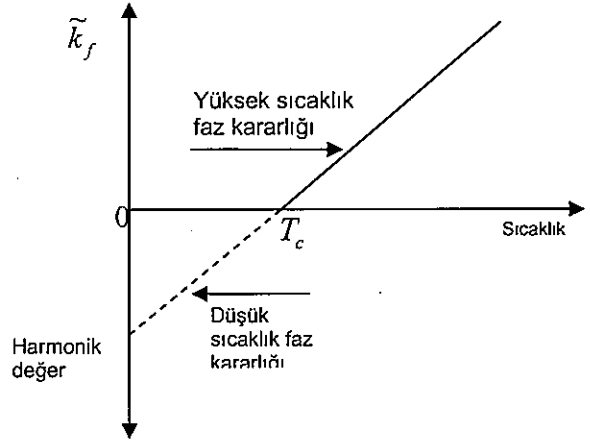
şeklinde elde edilir. Burada,  $\Delta_{eg} = \xi_e - \xi_g$  band aralığıdır.

Sonlu sıcaklıkta enine optik fonona karşılık gelen genelleştirilmiş kuvvet sabitinin,  $k_f$ , yumuşak optik fononun sıcaklığa bağıllı genelleştirilmiş frekansının karesi,  $\omega_f^2$ , ile indirgenmiş kütle,  $\mu$ , çarpımı şeklinde elde edilebilir. Bu durumda;

$$k_f = \mu \omega_f^2 = \frac{k_0 |A|}{T_c} (T - T_c) \quad (9)$$

ifadesi bulunur. Burada,  $k_f$ 'nin sıcaklıkla değişmesi örgünün ısıl genişmesi ve diğer anharmonik örgü etkileşmelerinden kaynaklandığı söylenir.

Denklem 9'e dayanılarak yumuşak kipin kuvvet sabitinin sıcaklığa bağıllığı Şekil 2'de verilmiştir. Şekil 2'de  $k_f$ 'nin sıcaklık bağıllığı verilmiştir. Sıcaklık arttıkça  $k_f$  değeri artmakta ve daha az negatif olmaktadır. En sonunda  $k_f$ 'nin değeri sıfıra ulaşmakta ve bu noktanın üzerindeki sıcaklarda yüksek simetri fazı kararlı kalmaktadır.  $k_f$ 'nin sıfır olduğu sıcaklık ikinci mertebeden faz geçişi olarak tanımlanmaktadır.



Şekil 2. Yumuşak kip frekansının sıcaklığa bağlı gösterimi.

Şekil 2 tersine çevrilerek incelenirse, yüksek sıcaklık fazından sıcaklığı düşürerek, frekansı azalan bir fonona sahip olunur ve sonunda fononun frekansı sıfıra ulaşır. Bu noktada, düşük simetrik yapı yerdeğişimli faz geçişi sergilemektedir ve fonon frekansı yumuşamaktadır. Çünkü, fonon frekansının değeri sıcaklığı düşürmekle yumuşamaktadır. Bu fonon yumuşak fonon olarak adlandırılır.

## Sonuç

Bu çalışmada, sonlu sıcaklıkta yüksek dereceli köşe terimli kuvantum mekaniksel etkileşme modeli kullanılarak: Ferroelektrik faz geçişine neden olan yumuşak optik fonona karşılık gelen kuvvet sabitinin, sonlu sıcaklıkta sıcaklıktan bağımsız ve sıcaklığa bağıllı olan iki terimin toplamı şeklinde elde edilmiştir. Ferroelektriğe sebep olan yumuşak enine optik fononun kuvvet sabitinin hem sıcaklığa hem de atomik kütleyle bağıllı olduğu bulunmuştur. Faz geçişi ile ilişkili olan kuvvet sabitinin, yumuşak optik fononun indirgenmiş kütleyle doğru orantılı olduğu elde edilmiştir. Yani, hafif izotopla zenginleştirilmiş örgünün kuvvet sabiti, daha ağır izotopla zenginleştirilmiş örgünün kuvvet sabitinden daha küçük olduğu bulunmuştur. Çünkü hafif izotopla zenginleştirilmiş

örgü, ağır izotopla zenginleştirilmiş örgüden daha fazla sıfır nokta sapmaya sahip olmaktadır. Bundan dolayı, genelleştirilmiş kuvvet sabiti hem sıcaklıkla hem de indirgenmiş kütleyle doğru orantılı olarak değişmektedir.

#### **Kaynaklar**

- Bussmann, A. H., Buttner, H., and Bishop, A. R., 2000. Stabilization of Ferroelectricity in Quantum Paraelectrics by Isotopic Substitution. *J.Phys.Con.Mat.*, 12: L115-L120.
- Hidaka, T., Oka, K., 1990. Nonhydrogen Isotope Effects on Structural Phase Transitions in Dielectric Crystals. *Phys. Rev. B*, 42: 8295-8304.
- Hidaka, T., 1993. Theory of The Non-hydrogen-Isotope Effect on Displacive-Type Ferroelectricity. *Phys. Rev. B*, 48: 9313-9320.
- Itoh, M., Wang, R., Inaguma, Y., Yamaguchi, T., Shan, Y. J., and Nakamura, T., 1999. Ferroelectricity Induced by Oxygen Isotope Exchange in Strontium Titanate Perovskite. *Phys. Rev. Let.*, 82: 3540-3543.
- Konsin, P., Sorkin, B., 2003. Microscopic Electron-Phonon Theory of Ferroelectricity in Perovskite Oxides. *Ferroelectrics*, 270: 399-404.
- Kvyatkovskii, O. E., 2000. Quantum Effects in Incipient and Low-Temperature. *Ferroelectrics. Phys. Solid State*, 43: 1401-1419.
- Mahan, G. D., 1986. *Many Particle Physics*. Plenum Press, New York.
- Ruiping, W., Ve Itoh, M., 2001. Suppression of the quantum fluctuation in <sup>18</sup>O-enriched strontium titanate. *Phys. Rev. B*, 64: 174104.
- Shigematsu, H., Nakadaira, H., Futatsugi, T., and Matsui, T., 2000. Ti Isotope Effect on Ferroelectric Phase Transition of PbTiO<sub>3</sub> Studied by Heat Capacity Measurement. *Elsevier, Thermochimica Acta*, 352-353.
- Slater, J. C., 1950. The Lorentz Correction in Barium Titanate. *Phys. Rev.*, 78: 748-761.
- Scott, J. F., 1974. Soft Mode Spectroscopy: Experimental Studies of Structural Phase Transitions. *Rev. Mod. Phys.*, 46: 83-128.

## Enzimlerin Silaj Katkı Maddesi Olarak Kullanımı

Mehtap GÜNEY<sup>1</sup> Murat DEMİREL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Van

**Özet:** Son yıllarda silaj fermantasyonunu iyileştirmek amacıyla çeşitli özellikte katkı maddeleri geliştirilmiştir. Bunlardan enzimler, silajlarda katkı maddesi olarak kullanıldığında laktik asit bakteri faaliyeti için ilave bir substrat kaynağı açığa çıkararak silaj fermantasyonunu geliştirmekte, hemisellüloz ve sellüloz gibi bitki hücre duvarı elemanlarının içeriğini azaltmaktadır. Ayrıca söz konusu yemlerle beslenen hayvanlarda silajın kuru madde sindirilebilirliği ile organik madde, NDF ve ADF parçalanabilirliği dolayısıyla sindirilme derecesi artmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Enzim, katkı maddesi, silaj

### Enzymes Usage as Silage Additives

**Abstract:** Recently, some additives having various properties are developed for the better silage fermentation. Of those additives the enzymes, when are used as additives of silages, improve the silage fermentation and decrease the plant cell wall components like hemicellulose and cellulose releasing the additional substrate source for the lactic acid bacteria activity. In addition, because of increasing dry matter digestibility and organic matter, neutral detergent fiber and acid detergent fiber degradability of the silage in the animal fed with this silage enhance the digestibility of silage.

**Key Words:** Enzyme, additives, silage

#### Giriş

Sağlıklı ve karlı et ve süt üretimi için yeşil sulu kaba yemlerin yeri tartışılmaz bir öneme sahip olmakla birlikte iklim farklılığından dolayı, söz konusu yemler yılın her mevsiminde hayvanlara verilmemektedir. Bu durum çeşitli verim farklılıklarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Yazın bol bulunan yeşil sulu yemlerin en az besin madde kaybı ile fermantasyona uğratarak saklanması işlemi, bu farklılığın minimize edilmesinde önemli bir yere sahiptir (Filya 2001; Demirel ve ark. 2003).

Silaj yapımında kullanılan yemler farklı olgunluk dönemlerine göre hasat edilerek ya doğrudan veya çeşitli katkı maddeleri ile silolanmaktadır. Silaj üretiminde fermantasyon seyri için arzulanan yönde gerçekleşmesi ve yemlerin sindirilebilirliğinde artışlar sağlanması amacıyla daha çok inokulantlar ve enzimler yaygın olarak kullanılmaktadır (Filya 2000; Kung 2001b).

Enzimler, biyolojik sistemlerde kimyasal reaksiyonları katalize eden protein yapısındaki bileşiklerdir (Hoffman ve Muck 1999). İlk olarak, 19. yüzyılın son yarısında keşfedilmiş olup 1993 yılında Avrupa Birliği tarafından yem katkı maddeleri grubuna alınmasından sonra, yemlere enzim ilaveleri tüm dünyada çarpıcı bir şekilde gelişme göstermiştir (Kalkan ve Karabulut 2003).

Bu derlemede, enzimlerin silajlık yemlere katkı maddesi olarak kullanımı ve etki mekanizmaları incelenmektedir.

**Silaj Katkı Maddesi Olarak Enzimler ve Etki Mekanizmaları:** Silo yemlerine ilave edilen enzimler son 10 yılı aşkın süreden beri sıkça kullanılmakta ve birçok sayıda ticari enzim preparatları bu amaç için üretilmektedir. Sellülaz, hemisellülaz, ksilanaz, amilaz ve pektinaz gibi enzimler, silaj yapımı sırasında katkı maddesi olarak ilave edilmekte ve bu amaçla, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* ve *Bacillus subtilis* kültürleri ve onların fermantasyon ürünleri enzimatik aktivite kaynağı olarak kullanılmaktadır (Shaver 1992).

Enzimler, optimum laktik asit fermantasyonu için gerekli mikroorganizmalara enerji kaynağı sağlamada etkin rol oynamaktadırlar (Thomas ve ark. 2003). Laktik asit bakterileri, silo içerisinde laktik asit üretimi için enerji kaynağı olarak sellülozu kullanmayıp, kolay çözülebilir karbonhidrat kaynaklarından yararlanmaktadırlar. Dolayısıyla silo içerisinde bulunan sellülozu da içine alan hücre duvarı elemanlarının yıkımı gerçekleşmemektedir. Bu polisakaritlerin yıkımı ancak çeşitli enzim kompleksleri gibi silaj katkı maddeleri ile mümkün olmaktadır (Kung 2001a).

Enzimler, laktik asit bakterilerinin kolay çözülebilir karbonhidratları kullanması için bitki hücre duvarını parçalayarak iki önemli avantaj sağlamaktadırlar. Bunlardan ilki, fermente olabilir karbonhidrat içeriği düşük bitkilerin, yapısal karbonhidratlarını fermente ederek hazır bir substrat kaynağı oluşturmaktır. İkincisi ise, bitkilerdeki yapısal karbonhidratların hidrolizasyonu sonucu, kuru madde ve organik madde sindirimlerinin artmasına yardımcı olmaktadır (Henderson ve ark. 1991; McDonald ve ark. 1991; Davies ve ark. 1999; Filya 2000).

Silaj fermantasyonunda kullanılan enzimlerin, tek bir enzim, birden fazla enzim kompleksleri veya enzim kompleksi + LAB karışımından oluşması fermantasyon seyri üzerinde önemli etkilerde bulunmaktadır. Bunların yanında enzim-substrat ilişkisi ve kullanılan katkı maddesinin meydana getirdiği son ürün, maksimum enzim aktivitesi ve silaj fermantasyon kalitesi açısından önem taşımaktadır (Çizelge 1).

**Çizelge 1. Silaj katkı maddesi olarak kullanılan enzimler ve fermantasyon son ürünleri (Kung 1997).**

Enzim Kompleksi	Substrat	Son ürünler
Sellüloz	Sellüloz	Glukoz, maltoz, sınırlı olarak dekstrinler
Hemisellüloz	Hemisellüloz	Ksiloz, ksilan, arabinoz
Amilaz	Niştasta	Glikoz, maltoz

### Enzim İlavesinin Hayvan Performansı, Silaj Fermantasyon Kalitesi ve Hücre Duvarı Kapsamı Üzerine Etkileri

Silaj kalitesi üzerine birçok faktör etkilidir. Bunlardan en belirleyici olanı silajda kullanılacak bitki materyalinin kimyasal kompozisyonudur. Bitkilerin biçim dönemleri, silaj kalitesi üzerine önemli derecede etkilidir (Açıköz 1995). Yüksek kalitede silaj elde edebilmek için uygun hasat dönemi yanında, bitki türü, silo tipi ve katkı maddesi de önem taşımaktadır (Filya 2000).

Silajlara katılan enzim, özellikle yüksek düzeyde ham sellüloz içeren bitkilerin hücre duvarı kapsamını azaltarak, silajların kuru madde sindirilme derecesini artırmaktadır. Hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin silaj kuru maddesinin sindirimi üzerine sağladığı bu artış, aynı zamanda ruminant hayvanların yem tüketimi, süt verimi, canlı ağırlık kazancı ve yemden yararlanma düzeyi gibi hayvan performans kriterleri üzerinde zaman zaman artışlara sebep olabilmektedir (Filya 2000).

Sellüloz/ksilanaz enzimi katılarak silolanmış mısır silajı+yonca kuru otu tüketen sığırların süt verimi 39.5kg iken, enzim katkısız mısır silajı+yonca kuru otu tüketen sığırlarda 37kg olarak bulunmuştur (Kung 1997).

Sellüloz düzeyi yüksek yemlerin silolanmasında silajlara, sellüloz ve hemisellüloz enzim ilavesinin yemlerdeki nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF) düzeylerini azaltarak, silajların sindirilebilirliği ile yem tüketimini artırdığı bildirilmektedir (Shaver 1992). Başka bir çalışmada ise, enzim ilavesinin yem tüketiminde % 21, süt üretiminde ise % 33'lük bir artış sağladığı bildirilmektedir (Kung ve Muck 1997).

Çayır hasılı ile hamur olum döneminde biçilen mısır hasılı laktik asit+enzim katılarak silolanmıştır. Fermantasyon sonrası açılan silajların pH, NDF ve ADF düzeyleri enzim katkısı ile azalırken, LA ve organik madde sindirilebilirliğinin arttığı bildirilmiştir (P<0.05) (Çizelge 2).

**Çizelge 2. Enzim+inokulant ilave edilerek silolanmış çayır otu ve mısır silajlarının fermantasyon özellikleri ile hücre duvarı unsurları**

		pH	LA g/Kg KM	AA g/Kg KM	NDF g/Kg KM	ADF g/Kg KM	OMS g/Kg KM	
Çayır Silajı	K	4.87	10	9.9	724	-	520	(Meeske ve ark. 1999)
	LA+E	3.90	31	6.4	716	-	534	
		pH	LA %KM	AA %KM	NDF %KM	ADF %KM	OMS %KM	
Mısır Silajı	K	3.7	3.8	-	52.0	27.2	-	(Filya 2002)
	LA+E	3.6	13.6	-	46.2	22.4	-	

K: Kontrol; LA+E: Laktik asit+enzim; LA: laktik asit; AA: asetik asit; OMS: organik madde sindirilebilirliği; ADF: asit deterjan da çözünmeyen lif, NDF: nötr deterjanda çözünmeyen lif

Farklı bir çalışmada ise, süt olum döneminde hasat edilen sorgum hasılı laktik asit bakterisi inokulantı+enzim karışımı ilave edilerek silolanmıştır. Silolamanın 31. gününde açılan silajların bütirik asit düzeyleri kontrolde % 0.2, inokulant+enzim silajında ise 0 olarak bulunmuştur (Meeske ve ark. 1993).

Çayır hasılına enzim katılarak silolanması sonucu silajların hücre duvarı kapsamı ile in vitro KM ve NDF sindirilebilirliğinin enzim katkısından etkilenmediği bildirilmiştir (Mandebvu ve ark. 1999).

Enzim içeren laktik asit bakterisi inokulantı yulaf bitkisine ilave edilerek silolanmış ve Jersey ineklerindeki süt üretimi ve silaj tüketim kriterlerine bakılmıştır. Kontrolde 4.56 olan pH düzeyi inokulant+enzim ilaveli yulaf silajında 4.52 olarak bulunmuş (P<0.05), ineklerin süt

üretimi ve silaj tüketimi enzim ilavesi ile artmıştır (Meeske ve ark. 2002).

Enzim, inokulant, inokulant+enzim katılarak silolanmış buğday hasılı ile arpa hasılından elde edilen silajların hücre duvarı kapsamı ile fermantasyon kalite kriterlerinin incelendiği çalışmada, buğday hasılı silajına katkı maddesi ilave edilen tüm gruplarda genel olarak silajların hücre duvarı kapsamı ile asetik asit düzeyleri kontrol silajına göre azalırken, enzim ve inokulant+enzim ilaveli gruplarda LA düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir (P<0.05). Arpa silajında ise enzim katkısı silajların LA düzeylerini artırmakla birlikte, hücre duvarı kapsamı ile AA düzeylerine olumlu yönde katkıda bulunmadığı bildirilmiştir (P<0.05) (Çizelge 3).

**Çizelge 3.** Buğday ve arpa hasılına ilave edilerek silolan silajların hücre duvarı kompozisyonları ile silaj fermantasyonu özellikleri

Silaj Grupları		Silajların Hücre Duvarı Kompozisyonu				Silaj Fermantasyonu		
		Hemi Selüloz %KM	ADF %KM	NDF %KM	Sellüloz %KM	LA %KM	AA %KM	
Buğday silajı	K	19.6	42.5	62.1	30.8	8.27	3.54	(Laytimi ve ark. 1988)
	E	19.4	40.1	59.6	29.0	10.25	3.47	
	I	20.0	40.8	60.8	29.6	8.25	2.59	
	I+E	19.8	39.7	58.9	27.9	10.26	2.57	
		Hemi Selüloz g/kg KM	ADF g/kg KM	NDF g/kg KM	Sellüloz g/kg KM	LA g/kg KM	AA g/kg KM	
Arpa silajı	K	-	290	456	-	83.7	27.7	(Zahiroddini ve ark. 2004)
	E	-	297	471	-	91.9	29.8	

KM: kuru madde; AA: asetik asit; LA: laktik asit; K: Kontrol; E: Enzim; I+E: İnokulant+Enzim

Yemlerin iyi bir şekilde silolanması için kuru maddede en az % 3-5 düzeyinde fermente olabilir karbonhidrat içermesi arzulanmaktadır. Baklagillerde bulunan karbonhidratların büyük bölümü, laktik asit bakterileri tarafından fermente edilemeyen lifsel yapıdaki polimerlerden oluştuğundan baklagillerin silolanmasında hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin kullanılması önerilmektedir. Yonca silajının fermantasyon özellikleri, hücre duvarı kapsamı ve aerobik stabiliteyi üzerindeki etkilerinin saptanması için yapılan bir çalışmada, silaj katkı maddesi olarak sellüloz, hemisellüloz ve pektinaz karışımlarından oluşan enzim kullanılmıştır (Çizelge 4). % 0.025, % 0.03, % 0.05 ve % 0.1 düzeyinde enzim ilave

edilerek silolan silajlarda, yonca silajlarının fermantasyon özelliklerinin geliştiği, hücre duvarı kapsamının azaldığını bildirmiştir. Enzim dozlarının artmasına paralel olarak silajların pH, asetik asit, ADF ve NDF düzeylerinin düştüğü, laktik asit düzeylerinin ise arttığı görülmüştür. Araştırmacılar enzim ilavesi ile hücre duvarı unsurlarının parçalandığını ve açığa çıkan karbonhidratın fermantasyon sırasında laktik asit bakterilerinin besin madde kaynağını oluşturduğunu ve fermantasyon kalite kriterleri ile hücre duvarı elemanları bakımından en iyi enzim dozunun % 0.1 olduğunu bunu % 0.05 ve % 0.025'lik enzim dozlarının izlediğini kaydetmişlerdir (p<0.05).

**Çizelge 4.** Farklı düzeylerde enzim ilave edilen yonca silajlarının fermantasyon kalite sonuçları ile ADF, NDF sonuçları (Filya ve ark. 2001).

Enzim dozları	pH	LA %KM	AA %KM	BA %KM	ADF %KM	NDF %KM
Kontrol	5.1	1.8	7.7	0	29	38.9
% 0.025	4.5	10	3.3	0	27	37.7
% 0.05	4.3	11	2.8	0	263	36.2
% 0.1	4.0	12.6	2.4	6	23.5	3.41

Jatkauskas ve Vrotniakiene (2004), % 18 gibi düşük kuru madde içeren baklagil yeşil yemlerine silaj katkı maddesi olarak enzim ilavesi ile daha yüksek laktik asit, daha düşük asetik asit, bütirik asit ve amonyak nitrojen konsantrasyonlu silajların elde edildiği ayrıca sellüloz enziminin silajların ham sellüloz düzeylerini azaltırken, organik madde sindirilebilirliğini artırdığını bildirmişlerdir.

Katkısız ve enzim katkılı mısır silajının pH ve NDF (g/kg) düzeyleri sırasıyla 3.90, 3.56 ve 424.4, 394.9 olarak bildirilmiştir (Colombatto ve ark. 2004). Baklagil ve mısır hasılına enzim+inokulant, çavdar hasılına ise sellüloz enzimi ilave edilerek silolan silajların pH, AA, NDF ve ADF düzeyleri kontrol silajlarına göre azalırken, mısır ve çavdar silajında LA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (Çizelge 5).

**Çizelge 5.** Enzim+inokulant ile sellüloz enzimi ilave edilerek silolan baklagil, mısır ve çavdar silajlarının fermantasyon özellikleri ile hücre duvarı unsurları

Silajlar		pH	LA	AA	NDF	ADF	
Baklagil silajı	Kontrol	4.16	3.83	6.47	45.29	32.54	(Chen ve ark. 1994) (%KM)
	Enzim+inokulant	4.03	3.61	4.14	44.70	31.03	
Mısır silajı	Kontrol	3.50	1.66	0.60	57.06	30.04	(Polat ve ark. 2005) (%KM)
	Enzim+inokulant	3.52	1.84	0.50	54.80	29.30	
Çavdar silajı	Kontrol	4.09	104	37.7	414	252	(Rodrigues ve ark. 2001) (g/Kg)
	Sellüloz	3.80	144	32.3	272	164	

Soldurulmuş yonca hasılının enzim ilave edilerek silolanması sonucu 4.7 olan pH düzeyi enzim katkısı ile 4.3'e, toplam laktat düzeyi (% KM) 6.0'dan 7.8'e, asetik asit düzeyi ise 3.5'tan 1.4'e düşmüştür. Silajların NDF düzeyleri kontrolde 43.8 iken, katkı maddesi ilave edilen grupta 38.9'e, ADF düzeyleri ise 40.0'tan 35.6'ya düşmüştür (P<0.05) (Sheperd ve ark. 1995).

Üç farklı hasat döneminde biçilen çayır otu ve yonca hasılı 5 farklı enzim+inokulant dozu ilave edilerek silolanmışlardır. Enzim+inokulant ilavesi silajların pH ve asetik asit düzeylerini istatistiksel olarak kontrol silajına göre azaltırken, LA düzeylerini artırmıştır (Nadeau ve ark. 2000).

## Sonuç

Silolama sırasında biyolojik ve teknik koşullar her zaman mükemmel bir şekilde yerine getirilemeyebilir. Silaj fermantasyon seyrini kontrol altına almak ve en az besin madde kaybı ile yemlerin maksimum düzeyde korunmasını sağlamak amacıyla, son yıllarda silaj yapımı sırasında çok sayıda katkı maddesi kullanılmaktadır.

Bu amaca yönelik olarak üretilen silaj katkı maddelerinden enzimler; bitki hücre duvarının parçalanmasına ve kolay çözünebilir karbonhidratların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Açığa çıkan söz konusu karbonhidratları laktik asit bakterileri enerji kaynağı olarak kullanmakta ve popülasyonlarının artmasına neden olmaktadır. Sonuçta fermantasyon kalitesinin artışı ile birlikte, hücre duvarı unsurları da azalmış olan silajları tüketen hayvanlarda yem tüketimi, yemlerin sindirilebilirliği ve neticede verim artışı sağlanabilmektedir.

## Kaynaklar

- Açıkgöz, E., 1995. Yem Bitkileri. U Ü Basımevi, II. Baskı, Bursa.
- Chen, J., Stokes, M.R., Wallace, C.R., 1994. Effects of enzyme-inoculant systems on preservation and nutritive value of haycrop and corn silages. *J. Dairy Sci.* 77: 501-512.
- Colombatto, D., Fergus, L.M., Mahalingeshwara, K.B., Richard, H.P., Emyr, O., 2004. In vitro evaluation of fibrolitic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage I. Effect of ensiling temperature, enzyme source and addition level. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 111: 111-128.
- Davies, Z.S., Brooks, A.E., Theodorou, M.K., Griffith, G.W., Merry, R.J., 1999. Effect of inoculant and enzyme additives on fermentation characteristics and gas production of grass silage. *Proc. Br. Soc. Anim. Sci.* 145s.
- Demirel, M., Yılmaz, I., Deniz, S., Kaplan, O., Akdeniz, H., 2003. Effect of addition of urea or urea plus molasses to different corn silages harvested at dough stage on silage quality and digestible dry matter yield. *J. Appl. Anim. Res.* 24: 7-16.
- Filya, I., 2000. Silaj fermantasyonunda katkı maddeleri kullanımı. *Ondokuz Mayıs Üniv. Zir. Fak. Derg.* 15(3): 118-125.
- Filya, I., 2001. Silaj fermantasyonu. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 32(1): 87-93.
- Filya, I., 2002. Laktik asit bakteri ve laktik asit bakteri+enzim karışımı silaj inokulantlarının mısır silajı üzerine etkileri. *Tr. J. of Vet. and Sci.* 26: 679-687.
- Filya, I., Ashbell, G., Weinberg, Z.G., Hen, Y., 2001. Hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin yonca silajlarının fermantasyon özellikleri, hücre duvarı kapsamı ve aerobik stabiliteyi üzerine etkileri. *A.Ü. Zir. Fak. Tarım Bilimleri Derg.* 7(3): 81-87.
- Henderson, A.R., McGinn, R., Stanway, A.P., Morgan, C.A., 1991. A technique designed to evaluate commercial polysaccharide degrading enzymes as additives for grass silage. *Proc. 5<sup>th</sup> Int. Stmp. Forage Preservation, Nitra, Czechoslovakia*, pp. 92-95.
- Hoffman, P., Muck, R., 1999. Adding enzymes to silage. *Agricultural&Life Sci.* 1: 1-2.
- Jatkauskas, J., Vrotniakiene, V., 2004. Improvement of grass silage quality by inoculant with lactic bacteria and enzymes. *ISSN 1392-2130. Veterinarija Ir Zootechnika. T. 28. (50).*
- Kalkan, H., Karabulut, A., 2003. Ruminantların beslenmesinde enzim kullanımı. II. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi. 411-413, 18-20 Eylül. Konya.

- Kung, L. 1997. Use of additives in silage fermentation. *Direct-fed microbial, enzyme and forage additive compendium.* The Miller Publishing Co. Minnesota.
- Kung, L., 2001a. *Direct-fed microbials and enzymes for dairy cows.* University of Delaware. New York, Delaware, 19717-1303.
- Kung, L., 2001b. *Silage Fermentation & Additives.* Department of Animal and Food Sci. University of Delaware Newark, Delaware, 19717-1303.
- Kung, L., Muck, R.E., 1997. Animal response to silage additives. *Proc. From the Silage: Field to Feedbunk North American Conference. NRAES-99.* Pp 200-210.
- Laytimi, A., Bolsen, K., Schurhammer, J., Kirch, B., 1988. Effect of enzyme and inoculant additives on preservation and feeding value of wheat and forage sorghum silages. *Cattlemen's Day'75. Report of Progress 539:* 199-207.
- Mandevu1, P., West, J.W., Froetschel, M.A., Hatfieldc, R.D., Gatesd, R.N., Hill, G.M., 1999. Effect of enzyme or microbial treatment of bermudagrass forages before ensiling on cell wall composition, end products of silage fermentation and in situ digestion kinetics. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 77: 317-329.
- McDonald, P., Henderson, A.R., Heron, S.J.E., 1991. *The Biochemistry of Silage (2nd ed).* Chalcombe publ. Church Lane, Kingston, Canterbury, Kent, UK.
- Meeske, R., Ashbell, G., Weinberg, Z.G., Kipnis, T., 1993. Ensiling forage sorghum at two stages of maturity with the addition of lactic acid bacterial inoculants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 43: 165-175.
- Meeske, R., Basson, H.M., Cruywagen, C.W., 1999. The effect of lactic acid bacterial inoculant with enzymes on the fermentation dynamics, intake and digestibility of digitaria eriantha silages. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 81: 237-248.
- Meeske, R., Merwe, G.D., Greyling, J.F., Cruywagen, C.W., 2002. The effect of adding an enzyme containing lactic acid bacterial inoculant to big round bale oat silage on intake, milk production and milk composition of Jersey cows. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 97: 159-167.
- Nadeau, E.M.G., Buxton, D.R., Russell, J.R., Allison, M.J., Young, J.W., 2000. Enzyme, bacterial inoculant, and formic acid effects on silage composition of orchardgrass and alfalfa. *Jour. Dairy Sci.* 83: 1487-1502.
- Polat, C., Koç, F., Özduven, M.L., 2005. Mısır silajında laktik asit bakteri ve laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulantların fermantasyon ve toklularda ham besin maddelerinin sindirilme dereceleri üzerine etkileri. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi/Journal of Tekirdağ Agricultural Faculty.* 13-22.
- Rodrigues, M.A.M., Cone, J.W., Sequeira, C.A., Mascarenhas-Ferreira, A., 2001. Effect of the addition of cell wall degrading enzymes on fermentation kinetics of perennial ryegrass silage. *Jour. of Agric. Sci.* 136: 443-449.
- Shaver, R., 1992. *Silage Preservation: The Role of Additives.* University of Wisconsin-Extension. A3544.
- Sheperd, A.C., Maslanka, M., Quinn, D., Kung, L., 1995. Nutrition, Feding and Calves. *Additives containing bacteria and enzymes for alfalfa silage.* *Jour. Dairy Sci.* 78: 565-572.
- Thomas, J.W., Moore, K.J., Huber, J.H., 2003. <http://www.agcom.purdue.edu/AgCom/Publ/NCH/NCH-59.html>. National com Handbook.
- Zahiroddini, H., Baah, J., Absalom, W., McAllister, T.A., 2004. Effect of an inoculant and hydrolitic enzymes on fermentation and nutritive value of whole crop barley silage. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 117: 317-330.



## Kanatlı Hayvan Beslemede Fitin Fosforu ve Fitaz Enziminin Önemi

Tülay ÇİMRİN<sup>1</sup> Murat DEMİREL<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniv. Müh. Mim. Fak. Çevre Müh. Bölümü

<sup>2</sup> Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Zootekni Bölümü

**Özet :** Kanatlıların fosfor ihtiyaçlarının karşılandığı bitkisel kaynaklı organik fosfor fitik asit ve fitat fosforu formundadır. Fosfor ile inositol'ün bitkilerdeki depo formuna fitatlar denilmektedir. Fitatlar, fitik asitin Ca, Mg, K ve Fe tuzlarıdır. Bitkisel materyaldeki besin maddelerinin yayılsılığı yapılarındaki kimi kompleks bileşiklerce etkilenmektedir. Fitatlar fosfor içerdikleri için bir yandan besin maddesi olarak kabul edilirken, diğer taraftan minerallerle birleşerek tripsin ve alfa amilazın aktivitesini düşürüp yemlerin protein ve nişastasının yayılsılığını azalttığından anti besleme faktörü olarak ta kabul edilmektedir. Bu olumsuzluğu gidermede kullanılan fitaz enzimi; bitkilerde fitik aside (InsP6) bağlı formda olan fosfor yayılsılığını ve fitine bağlı diğer besin maddelerinin (karbonhidrat, protein ve esansiyel elementlerin Ca, Mg, Fe, Cu, Co ve Zn) sindirilebilirliğini önemli ölçüde artırmanın yanında, toprak ve suda oluşan fosfor nitrojen kirliliğini büyük ölçüde azaltmakta ve rasyon maliyeti düşürülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Broyler, Fitaz Enzimi, Fitat Fosforu

### The Importance of Enzyme in Poultry Nutrition

**Abstract :** Organic phosphorus with plant origine that supplies requirement of poultry is in the forms of phytic acid and phytate. Phytate has been known as the storage form of phosphorus and inositol in the plants. Phytate are Ca, Mg, K and Fe salts of phytic acid. The availability of nutrition in the plants is affected by some complex materials. Since Phytate contains phosphorus it has been accepted as a nutrition, on the other hand because it decreases activity of tripsin and alpha amylase by combining with minerals, decreasing availability of proteins and starch of feed, it is also called as antinutrient agent. Phytase is used to improve these negative effects of phytate; in addition to increase extensively the digestibility of phosphorus that is bound phytic acid (InsP6) and the other nutrition (carbohydrate, protein and essential elements Ca, Mg, Fe, Cu, Co and Zn), it also significantly decreases water and soil pollution caused by phosphorus and nitrogen. At the same time phytase decreases the cost of diet.

**Key words:** Broiler, Phytase, Phytate Phosphorus

### Giriş

Kanatlıların normal fizyolojik gelişimlerini sürdürülebilmeleri, maksimum et, yumurta, döş verimleri ile kuluçkadan çıkış sağlayabilmeleri için enerji ve tüm besin maddelerince dengelenmiş rasyonları almaları ile mümkün olabilmektedir (Sarrafkioğulları ve Önel, 1998).

Kanatlıların sindirim sistemleri omnivor memeli hayvanlara oranla kısa oluşları, sindirim enzimlerinin sayısal azlığı ve bu enzimlerin aktivitelerindeki nitel ve nicel düşüklüğü bazı besin maddelerinin ya hiç veya sınırlı düzeyde yararlanılmasını doğurmaktadır (Ergün ve ark., 2004). Kanatlıların kendilerine özgü söz konusu özelliklerinden dolayı yem maddelerinin sindirilebilirliklerinin artırılması ve daha düşük maliyetli karma yem üretimi için çeşitli alternatifler üzerinde çalışmalara ağırlık verilmiştir (Toker ve ark., 2004). Bu alternatif arayışlar içinde önemli bir gelişmelerden biri de fitin fosforundan yararlanmayı arttıran fitaz enziminin karmalara ilavesi ile ürünlerin nicel ve nitel iyileşmeleri yanında (Ceylan ve ark., 1999; Ergün ve ark., 2004), rasyon maliyetlerinin aşağı çekilmesi ve suda oluşan fosfor nitrojen kirliliğinin büyük ölçüde azaltılması olmuştur (Şenköylü, 2002).

Yaşamsal faaliyetlerin devam ettirilmesinde enerji ve proteine göre daha az ihtiyaç duyulan mineral maddelerin, organizmada önemli fonksiyonların gerçekleştirilmesinde rolleri büyüktür. Kanatlı beslemede çok önemli yapısal ve fizyolojik fonksiyonları olan pek çok mineral maddeden biri de fosfordur. Yemlerde fosfat formunda bulunup, ince bağırsak ve çok az miktarda da mideden emilmekte, normal iştahın sağlanması, yem tüketimi, yemden yararlanma, kemik gelişimi ve kemiklerin kuvvetlenmesi, yumurta kabuk kalitesi ve genel hayvan sağlığı gibi bir çok

fonksiyonu yanında, başta enerji metabolizması olmak üzere birçok enzim sisteminin yapısına giren esansiyel bir element konumundadır.

Kanatlılar için inorganik ek yemler ve hayvansal kaynaklı yemlerin fosforu %100 yararlanabilir kabul edilirken, bitkisel kaynaklı fosforunun 1/3'ünün yararlanabilir kabul edilmektedir (Ergün, 2001). Kanatlı karma yemlerinin önemli bir kısmını oluşturan tahıl ve küspelerdeki fosforun 2/3'ü bitkisel orijinli fitatlardan oluşması ve kanatlı hayvanlarda endojen kaynaklı fitaz enziminin yetersiz olması ile var olan fosforun ancak 1/3'ünden daha azı değerlendirilmekte (Toker ve ark., 2004) ve gübre ile atılan fosfor rasyon maliyetini artırmasının yanında toprak ve su kirliliğine de neden olduğu bildirilmektedir (Şenköylü, 2002).

**Fitin fosforu ve fonksiyonu :** Bitkisel materyaldeki besin maddelerinin yayılsılığı yapılarındaki kimi kompleks bileşiklerce etkilenmektedir. Bu durum özellikle buğdaygil tahıllar, baklagil ve yağlı tohumlarda bulunan fitik asit için de geçerlidir. Kanatlıların fosfor ihtiyaçlarının karşılandığı bitkisel kaynaklı organik fosfor, fitik asit ve fitat fosforu formundadır. Fitik asit (C<sub>6</sub>H<sub>18</sub>O<sub>24</sub>P<sub>6</sub>); 6 karbonlu moleküle bağlı 6 fosfat grubundan oluşan ve molekül ağırlığı 660 olan bir bileşiktir. Kimyasal ismi myo-inositol-1, 2, 3, 4, 5, 6-hegzakis dihidrojen fosfat'dır (Şenköylü, 2002).

Fosfor ile inositol'ün bitkilerdeki depo formu fitat olarak adlandırılmaktadır. Fitatlar, fitik asitin Ca, Mg, K ve Fe tuzlarıdır. Fitik asit, nötral pH koşullarında 1 veya 2 negatif yüklü oksijen atomuna sahip olması ile pozitif yüklü metal katyonları iki fosfat grubuyla birleşerek güçlü nitelikte veya bir fosfat grubuyla birleşip zayıf jelat yapma potansiyeline sahiptir. Reaktif bir anyon olan fitat, yalnızca fosfor

sindirilebilirliğinde azalmaya neden olmayıp (Akyürek ve ark, 2005), aynı zamanda beslenme açısından hayati önem taşıyan Cu, Zn, Co, Mn, Fe ve Ca gibi kimi minerallerle inositolün 5- ve 6-fosforu efektif bağ ile birleşip tuzları meydana getirmekte ve çözünürlüklerinin azalmasına neden olmaktadır (Brenes ve ark, 2003).

Fitatlar benzer şekilde, direk veya multivalent katyonlar (Ca) aracılığıyla proteinler ile birleşip fitat-protein kompleksi oluşturarak proteinlerin çözünürlük ve yararlanma derecelerinin azalmasına yol açmaktadırlar (Cowieson ve ark., 2004). Alfa-amilazı aktive eden ve stabilitesini sağlayan Ca, fitatlar tarafından bağlanması sonucu alfa-amilaz ile tripsin enzimlerinin aktivitesi inhibe edilmekte ve alfa-amilazın inhibasyonu nişasta sindirimini azalacağı için yemdeki enerji yararıyla da düşeceği bildirilmektedir (Ravindran ve ark., 2000). Fitatlar, fosfor içerdikleri için bir yandan besin maddesi olarak kabul edilirken, diğer taraftan mineral ve proteinlerle birleşerek yararıyla düşürdükleri için anti besleme faktörü olarak da kabul edilmektedir (Sarrafakioğulları ve Önel, 1998; Şenköylü, 2002).

**Yem Maddelerinin Fitik Asit İçeriği :** Tahıl tanesi ve yağlı tohumlarda bulunan total fosforun yaklaşık %60-80'i fitat fosforu formundadır. Yağlı tohum küspeleri ile değirmencilik yan ürünleri fitat fosforu bakımından zengin iken tahıllar orta düzeydedir. Fitat fosforun yem maddelerindeki konsantrasyonu bitkiden elde edildiği kısma bağlı olarak değişmektedir. Özellikle buğday ve

çeltik endospermünde fitat fosforu bulunmadığı halde, tohumun aleuron ile kabuğunda önemli derecede fazla bulunurken, mısırdaki fitat fosforun %90'ı tohumun embriyo kısmında bulunmaktadır. Yağlı tohum çekirdeklerinde ise globoid adlı hücresel oluşumlarda çekirdeğin tümüne yayılmıştır (Şenköylü, 2002).

Fitik asit tüm buğdaygil ve baklagil danelerinde, spor ve polenlerin yapısında %1-3, yağlı tohumlarda %1.5 ve küspelerde % 5 oranında bulunmaktadır. Yem maddelerinin fosfor içeriklerinin ortalama 2/3' ü fitin fosforu formunda olduğu görülmektedir (Tablo 1). Tahıllar içerisinde en düşük fitin fosforu (2.0 g/kg) mısırdaki bulunurken, en yüksek ise (3.0 g/kg) tritikale'de bulunmuştur. Proteinli yemler içerisinde en düşük fitin fosforu 2.1 g/kg ile kolza küspesinde bulunmuştur. Tabloda belirtilen yemler içerisinde en fazla fitin fosforu (8.1-9.7 g/kg) değirmencilik artıklarından buğday kepeğinin içerdiği görülmektedir. Kanatlı yemlerinin önemli bir kısmı dane yem ve yağlı tohum küspelerinden oluştuğundan total fosforun %60-80'i fitik asitten oluşmakta ve tipik bir kanatlı yemde %0.25-0.40 fitat fosforunun bulunduğu (Şenköylü, 2002), söz konusu yemlerle düzenlenen bir kanatlı rasyonun yaklaşık olarak %0.20-0.25 oranında fitin fosforu içerdiği bildirilmektedir (Sarrafakioğulları ve Önel, 1998). İnorganik fosforun sindirilebilirliği bitkisel kaynaklı fosfora göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir görülmektedir (Şenköylü, 2002; Tablo 2).

Tablo 1. Çeşitli yem maddelerin toplam fosfor ve fitin fosfor içerikleri (KM de)

Yem Maddeleri	Toplam P (g/kg)	Fitin-P (g/kg)	Fitin-P (%)
<b>Tahıllar</b>			
Mısır	3.0	2.0	66-85
Buğday	3.9	2.5	60-77
Arpa	4.3	2.4	51-66
Yulaf	3.6	2.3	55-63
Çavdar	3.6	2.5	61-73
Sorgum	3.5	2.2	60-74
Tritikale	4.4	3.0	65-68
Buğday kepeği	10.7-11.5	8.1-9.7	70-90
<b>Baklagiller</b>			
Bezelye	4.3	2.1	40-50
Fasulye	5.8	1.5	20-30
<b>Proteinli yemler</b>			
Mısır gluten yemi	7.2	2.9	40
Soya küspesi	7.0	3.0	42
Tam yağlı soya	5.3	2.3	43
Ayçiçeği küspesi	9.4	3.0	31
Kolza küspesi	12.4	2.1	16

(Sarrafakioğulları ve Önel, 1998)

Tablo 2. Kimi yem maddelerinin total fosfor içeriği ile broyler piliçlerindeki fosfor sindirilebilirliği

Yem maddeleri	Total P (g/kg)	P sindirilebilirliği %
Monokalsiyumfosfat(MCP)	220	80
Dikalsiyumfosfat(DCP)	180	82
Et – kemik unu	70	61
Buğday	34	38-48
Arpa	36	30-39
Mısır	29	31
Soya küspesi	64	42
Kolza küspesi	109	33
Ayçiçeği küspesi	76	28

(Şenköylü,2002)

**Fitaz enzimi, fitat fosforunun kullanılabilirliği ve kanatlıların verim performansı ile fitaz enzimi arasındaki ilişki :** Bitkisel fosfor kaynaklarının uygulamada yarattığı problemler ve çevre kirliliği beslemecileri yeni fosfor kaynakları ya da yeni yöntemler geliştirme arayışına yönlendirmiştir. Son 10 yılda bu alanda geliştirilen en önemli uygulamaların başında fosfor kullanılabilirliğini ve sindirimini arttıran fitaz enziminin kullanımı gelmektedir (Şenköylü, 2002). Farklı fitaz enzimlerinin aktivitesi için optimum ısı aralığı 45-60 °C ve optimum pH aralığı ise 4.0-7.5 arasında değiştiği; bitkisel fitazların aktivitesi için optimum ısı aralığı 47-55 °C, optimum pH derecesinin ise 4.0-6.0 arasında değiştiği belirtilmiş olup, fitaz aktivitesinin şematik görünüşü Şekil 1'de verilmiştir (Baruah ve ark., 2004; Sarıfakioğulları ve Önel, 1998). Fitaz enziminin fungus, bakteri, küf ve rumen ile topraktaki mikroorganizmalar tarafından üretildiği ve en önemli kaynak *Aspergillus niger* (ficcum) adlı fungus olduğu bildirilmektedir (Simons ve Versteegh, 1992). Mikrobiyel fitazlar pH 2.5-5.5' da aktif olup, 70 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda aktivitesi %25'e kadar düşebilmektedir (Sarıfakioğulları ve Önel, 1998). Bitkisel fitazlar tüm buğdaygil ve baklagil taneleri ile küspelerde bulunmaktadır. İnsan, buzağı, tavşan ve civcivde belirlenen intestinal fitazlar, ince bağırsak mukozasında özellikle duodenumda lokalize olmuşlardır. İntestinal fitazların fitin-P 'un hidrolizinde önemli bir etkisi olmamaktadır. Bakteri, maya ve küf mantarları tarafından mikrobiyel fitazlar sentezlenmektedir. (Sarıfakioğulları ve Önel, 1998).

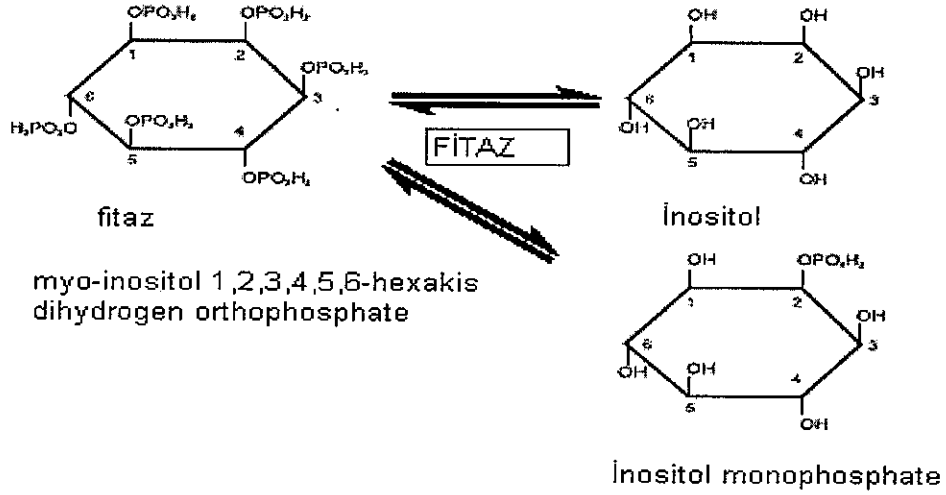
Fosforun kullanılabilirliği kanatlılarda %0-50 arasında değişmektedir. Kanatlılarda fitat fosfor kullanılabilirliği, endojen fitaz aktivitesi, diyetel Ca, P ve vitamin D<sub>3</sub> düzeylerinin yanında hayvanın yaşı ve genotipi ile yemin yapısına bağlı olarak değiştiği bildirilmektedir (Afsharmanesh ve ark., 2004a; Afsharmanesh ve ark., 2004b; Jubarah ve ark., 2004; Akyürek ve ark., 2005).

Fitazlar, fitik asit môlekülünü myo-inositol ve inorganik fosfata hidrolize eden myo-inositol heksakis fosfat fosfohidrolazlar olarak tanımlanmaktadır. Hidrolizin başladığı C atomuna göre fitazlar, 3-fitazlar (mikrobiyal) ve 6-fitazlar (bitkisel) olarak sınıflandırılmaktadır. Fitik asit fitaz ile hidrolizi sırasında, fosfat grupları basamaklar halinde ayrılmakta ve bağırsaklardan emilim için kullanılabilir hale gelmektedir.

Mısır ve soya ağırlıklı broyler rasyonlarına *Aspergillus niger* mantarından üretilen mikrobiyal fitaz ilavesi canlı ağırlık ve yem tüketimini artırdığı fakat yemden yararlanma oranını etkilemediği bildirilmektedir (Ahmad ve ark., 2000).

Mikrobiyal fitazın, Ca ve P yarayışlılığında önemli bir artış sağlayarak Ca ve P atılımında önemli bir azalmaya neden olduğunu saptanmıştır (Akyürek ve ark., 2005). Yemlere katılan fitaz enziminin broylerlerde tibia külünde kalsiyum, fosfor ve çinko miktarını yükselttiği (Midilli ve ark., 2003), plazma Ca'u %4, P'u %12, Mg'u %10, Zn'u %22 ve total proteini ise %7 oranında artırdığı bildirilmektedir (Brenes ve ark., 2003). Rasyonlara farklı dozlarda fitaz ilavesinin tibia kül içeriğinde Ca ve Zn miktarlarında linear, Mg ve Fe miktarlarında quadratik bir artışa neden olduğu, P miktarında ise önemli bir artışa neden olmadığı bildirilmektedir (Jubarah ve ark., 2004).

Broyler civciv rasyonlarına mikrobiyal fitaz ilavesinin Ca, P ve Zn alımını sırasıyla %9, %10 ve %16 oranında artırdığı, tibia külünde %4, artış sağlandığı saptanmıştır (Brenes ve ark., 2003). Düşük fosforlu rasyonlara fitaz ilavesinin kontrol yemine göre P ve Ca emilimini sırasıyla %20.1 ve %5.0 oranında arttırdığı ve kemik mineralizasyonunu iyileştirdiği bildirilmektedir (Ahmad ve ark., 2000).



Şekil 1. Fitaz aktivitesinin şematik olarak gösterilmesi

Fitaz enzimi, bitkilerde fitik aside (InsP6) bağlı formda olan fosfor yayınlılığını ve fitine bağlı diğer besin maddelerinin (karbonhidrat, protein ve esansiyel elementlerin Ca, Mg, Fe, Cu, Co ve Zn) sindirilebilirliğini önemli ölçüde artırmaktadır (Gebert ve ark., 1999; Ravindran ve ark., 2000). Düşük Ca seviyeli rasyona fitaz ilavesi vücut ağırlığını ve yemden yararlanma oranını iyileştirdiği, tibia külü ve protein ile fosfor sindirilebilirliğini artırdığı ve farklı düzeylerde Ca ile birlikte sitrik ve askorbik asit ilavesi negatif kontrole göre vücut ağırlığında (%21) ve yemden yararlanmada (%8) daha fazla bir iyileşmeye neden olduğu bildirilmektedir. Aynı şekilde düşük Ca'lu rasyona fitazla birlikte sitrik asit, askorbik asit ve vitamin D<sub>3</sub> ilavesi vücut ağırlığını %27, yemden yararlanma oranını ise %22 artırdığı ve sonuçta düşük Ca ve P'lu broyler rasyonlarına mikrobiyal fitaz, organik asitler ve vitamin D<sub>3</sub> ilave edildiğinde normal rasyonlardaki gibi yemden yararlanma ve vücut ağırlığı sağlanabildiği bildirilmektedir (Afsharmanesh ve ark., 2004b).

Yapılan bir çalışmada (Tablo 3), yeterli Ca (9.0 g/kg) içeren kontrol yemine fitaz ilavesi görünen ME değerini 3040'dan 3310 kcal/kg çıkararak % 8.9 oranında artırırken, düşük Ca (7.9 g/kg) içeren kontrol yemine fitaz ilavesi yemin görünen ME değerini 3110'dan 2710 kcal/kg'a düşürerek %12.8 oranında azalttığı bildirilmiştir. Yeterli Ca' lu kontrol yemine fitaz ilavesi ile yemdeki fosforu serbest hale getirerek açığa çıkan fosforun daha

dengeli Ca/P oranının oluşturulmasına neden olması, bu yemlerde görünen ME değerinin artmasına neden olduğu kanaatine varılmıştır.

Düşük Ca'lu yemlere fitaz ilavesinin yemlerin görünen ME değerini düşürmesi ise; açığa çıkan P'un yemlerde Ca/P oranını P lehine bozulmasına ve dengesizliğe neden olmasından kaynaklandığı düşünüldüğü bildirilmektedir. Organik asitlerin muhtemelen ince bağırsaktaki pH üzerine etkisinin olabileceği ve mikrobiyal fitaz etkinliğini iyileştirdiği ve minerallerin yararlanılabilirliğini artırdığı bildirilmektedir. Düşük Ca yemlere sitrik ve askorbik asitin birlikte ilave edilmesi ile yemin görünen ME sindirilebilirliği kontrol ve fitaz ilaveli yeme göre % 10 ve % 27 ile oranında artırmıştır (Afsharmanesh ve ark., 2004a).

Mısır soya temeline dayalı rasyonlara farklı düzeylerde mikrobiyal fitaz katılmasının broylerlerde canlı ağırlık ve yemden yararlanma oranlarını önemli ölçüde artırdığı, yem tüketimi, tibia külü kalsiyum, fosfor ve magnezyum miktarını yükselttiği, karkas randımanını yükselttiği ve serum fosfor konsantrasyonunda ise artışlar görüldüğü bildirilmektedir (Midilli ve ark., 2003). Mısır esasına dayalı karma yemlerine fitaz ilavesi, buğday esasına dayalı karma yemlerine göre besi performansını olumlu etkilediği, en iyi kesim sonucuna mısır+150.000 mg/kg fitaz ilavesinde ulaşıldığı bildirilmektedir (Toker ve Ergene, 2004).

Tablo 3. Farklı kalsiyum konsantrasyonları ve yem katkı maddeleri ile hazırlanan yemlerin horozlarda görünen metabolik enerji (Kcal/kg) değerleri

Temel yeme ilaveler	Yemdeki Ca konsantrasyonları		
	Toplam	Düşük Ca (7.9 g/kg)	Yeterli Ca (9.0 g/kg)
Toplam	3240	3200	3280
Kontrol	3070cd	3110cd	3040d
PHYT	3010d	2710e	3310abc
PHYT+SA	3200bc	3160bcd	3240abcd
PHYT+SA+AA	3340ab	3430a	3270abcd
PHYT+SA+AA+VITD <sub>3</sub>	3400a	3380ab	3430a
1.35 g/kg yararlanabilir fosfor	3380a	3400ab	3370ab

(Afsharmanesh ve ark., 2004a).

abcd: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden önemli olarak farklıdır

Bir fitaz ünitesi her dakikada (pH 5.5 ve 37 °C) de Sodyum fitatlardan 1  $\mu$ mol inorganik fosfor üretir.

Temel yem (Kontrol yem) 3.15g/kg yararlanılabilir fosfor içermektedir.

PHYT= 500 U /kg fitaz, SA= sitrik asit, 20g/kg, AA= askorbik asit, 200 mg /kg, VITD<sub>3</sub>, 200 g/kg

Mısır ağırlıklı broyler rasyonlarına (500U/kg) fitaz katılması canlı ağırlığı artırırken, yemden yararlanma üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı (Huff ve ark., 1998), broyler civcivlerin rasyonlarına mikrobiyal fitaz ilavesinin ise canlı ağırlığı %7 ve yem tüketimini %5 oranında artırırken, yemden yararlanma oranını etkilemediği bildirilmektedir (Brenes ve ark.,2003). Rasyona farklı dozlarda fitaz ilavesinin canlı ağırlıkta linear yem tüketiminde ise linear ve quadratik bir artışa neden olurken, yemden yararlanmayı etkilemediği bildirilmektedir (Jubarah ve ark., 2004). Buğday temelinde dayalı rasyonlarla beslenen broyler yemlerine fitaz ve fosfataz enzimi ilave edilmesi ile en iyi yem etkinliği, yüksek karkas kalitesi ve kemik küllü içeriğinde önemli artışlar sağlandığı bildirilmiştir (Zyla ve ark., 2001). Soya temelinde dayanan broyler rasyonuna 0.50g/kg fitaz ilavesinin canlı ağırlık ve yem tüketiminde artışa neden olmadığı, ancak 1.50g/kg fitaz ilavesiyle canlı ağırlıkta önemli bir artış sağlandığı ve yem tüketiminde ise pozitif etkisinin olduğu bildirilmektedir (Ahmed ve ark., 2004). Broyler yemlerindeki fitik asit canlı ağırlık artışını, yem tüketimini, yem dönüşüm oranını olumsuz etkilediği, fakat yeme mikrobiyal fitaz ilavesi (400 ve 800 FTU/kg) ile bu olumsuzlukların giderildiği, canlı ağırlık ve yem etkinliğinde artış sağlandığı bildirilmektedir (Cabahug ve ark., 1999).

Karma yemlere katılan fitaz enzimi, fitik asitin mineraller ile oluşturduğu şelat-kompleksini parçalayarak söz konusu minerallerden de yararlanmayı artırdığından, yumurta sayısı, yumurta ağırlığı, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta sarı ve beyaz ağırlıklarını önemli düzeyde artırdığı (Toker ve ark., 2004; Simons ve Versteegh, ark., 1992), yemden yararlanmayı önemli derecede iyileştirdiğini, yumurta kuru maddesinde fosfor ve kalsiyum oranlarında bir artış sağladığı (Simons ve Versteegh, 1992) bu artışın yaşlı yumurtacılar da gençlere oranla daha fazla olduğu (Boling ve ark., 2000) bildirilmektedir.

Fitaz ve sitrik asit kombinasyonunun yumurta ağırlığını artırdığı, fitazın kullanılmasıyla yumurta kabuğunda ve

sarisında Ca miktarının arttığı ve yumurta akında ise azaldığı bildirilmektedir (Rodriguez ve ark., 2002). Düşük fosforlu negatif kontrol yemi ile beslenen tavukların, fitaz ilave edilmiş yemlerle beslenen tavuklara göre günlük yumurta üretimi, yumurta ağırlığı ve günlük yumurta kazanımının önemli oranda düştüğü bildirilmiştir (Francesch ve ark., 2004).

Yemlere ek fitaz ilavesi fosforun ileumdaki sindirimini, kuru maddedeki azot ve amino asit alıkonmasını artırdığı (Kis ve ark., 2000; Ravindran ve ark., 2000), broyler civcivlerinde canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, protein etkinlik oranı ve performans indeksi üzerine olumlu etkilerinin olduğu (Abd El-Hakim ve Abd-Elsamee, 2004), yumurta üretimi, yumurta ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve sağlamlığı ile kabukta P ve Ca içeriğinin olumsuz etkilenmesini önleyerek dışkıının P içeriğinde az da olsa bir azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (Kis ve ark., 2000).

Broyler rasyonlarına fitaz ve fitaz+vitamin D<sub>3</sub> ilavesi ile preventrikulus protein konsantrasyonu 153.6 mg/g'dan sırasıyla.135.2 ve 132.7 mg/g'a ve gastrik enzim aktivitesi ise 0.73 CU/mg'dan 0.48CU/mg'a düştüğü bildirilmektedir (Kapica ve Puzio, 2004).

Rasyonlara katılan kazein+myo-inositol hexaphosphate (IP6) amino asitlerinin sindirilebilirlik katsayısını azalttığı, ancak fitaz ilavesi ile katsayının yükseldiği ve endojen minerallerin atılımı azaldığı bildirilmiştir (Cowieson ve ark., 2004).

**Fitaz enziminin kanatlılarda fosfor atılımı ve çevre kirliliği üzerine etkisi :** Gübre ile dışarı atılan fitaz fosforunun çevre sularına karışması sonucu, çevre sularındaki fosfor düzeyinin artışı yosun üretimini artırmaktadır. Artan yosun üretimi ise çok fazla miktarda ölmüş bitki materyalinin dibe çökmesine neden olmaktadır. Bu ortamda aerobik bakterilerin oksijeni kullanmaları sonucunda ortamın oksijen içeriği azalmakta ve böylece sulardaki canlı ölümlerinin artması ile birlikte ekolojik

dengenin bozulması ve çevre kirliliği sorunları ortaya çıkmaktadır (Sharpley, 1999). Fitaz ve sitrik asit kombinasyonu dışkıda fosfor atılımını %50'den daha fazla azalttığı bildirilmektedir (Rodriguez ve ark., 2002).

Yemlerdeki farklı fosfor ve farklı enzim düzeyleri ve yemlerin otoklavlanması ile dışkı ile atılan Ca-P oranları veya bunların vücutta alınması arasındaki ilişki incelenmiştir (Tablo 4). Yemlerdeki fosfor yetersizliği hayvanların gelişmesinde önemli bir düşüğe neden olduğu ve fitaz ilavesi ile bu olumsuzluğun giderildiği bildirilmektedir. Otoklav edilmiş düşük fosforlu buğdayı tüketen broylerlerin performansı otoklav edilmemiş buğdayı tüketenlere göre daha düşük olduğu; fosforca yetersiz yemlerde Ca ve P'un emiliminin kontrol yemine göre daha yüksek ve Ca ve P atılımının ise daha düşük olduğu bildirilmektedir. Yemlerin otoklav edilmesi endojen fitazı olumsuz etkilediğinden düşük fosforlu karmalarda olumsuzluklara neden olabileceği ve rasyonlardaki fosfor eksikliğinin hayvanın gelişimini önemli oranda düşürebileceği ve bu olumsuzluğun yeme fitaz ilavesi ile

önlenebileceği bildirilmiştir. Düşük fosforlu rasyonlarla beslenen hayvanlarda P ve Ca'un dışkıyla atılımı önemli ölçüde düşerken emilimin arttığı ve düşük fosforlu karma yemlere farklı miktarlarla fitaz ilavesinin emilim üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı (Tablo 4) bildirilmektedir (Perez ve ark., 2004).

300, 450 ve 10.000 U/kg fitaz katkılı mısır ve arpaya dayalı rasyonları tüketen tavuklarda fosfor atılımının sırasıyla %11, %19 ve %29 oranında düştüğü görülmüştür. Kontrol rasyonunu tüketen hayvanlarda fosfor atılımı %0.62 iken, 10000 U/kg fitaz ilavesi ile bu oranın %0.44'e kadar düştüğü, fosfor emiliminin ise %45.7'den 10000 U/kg fitaz ilavesi ile %64.5 kadar yükseldiği görülmüştür. Düşük fosforlu yeme ilave edilen fitaz enzimi yumurta tavuklarına 12 hafta boyunca maksimum dozdan 10 kat daha fazla verilmesine rağmen tavukların performansında ve sağlığında olumsuz bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (Francesch ve ark., 2004).

Tablo 4. Broyler dışkılarında mineral konsantrasyonları ve yemlerdeki Ca ve P'un emilimi

Uygulamalar	Yem Buğday	Inorganik Fosfor	Fitaz ilavesi* U/kg	Dışkıda Total P %/ KM	Total P Emilimi %	Dışkıda Ca (%/MS)	Ca Emilimi (%)
T-1	Otoklav edilmemiş	%0.45	-	0.99 a <sup>-</sup>	55.20 c	2.24 a	32.72 d
T-2	Otoklav edilmemiş	%0.27	-	0.48 b	66.15 b	1.02 c	56.78 a
T-3	Otoklav edilmemiş	%0.27	500	0.46 b	70.98 ab	1.02 c	51.55 b
T-4	Otoklav edilmemiş	%0.27	5000	0.41 b	75.48 a	1.01 c	52.49 ab
T-5	Otoklav edilmiş	%0.45	-	0.95 a	60.14 c	2.14 b	41.41 c
T-6	Otoklav edilmiş	%0.27	-	0.49 b	70.20 ab	1.05 c	52.81 ab
T-7	Otoklav edilmiş	%0.27	500	0.49 b	70.60 ab	1.03 c	49.10 b
T-8	Otoklav edilmiş	%0.27	5000	0.48 b	71.30 ab	0.97 c	49.24 b

(Perez ve ark., 2004).

a, b, c, d: farklı harflerle gösterilen ortalamalar p<0.05 düzeyinde önemlidir.

## Sonuç

Kanatlı rasyonlarını oluşturan bitkisel yem kaynaklarındaki fosfordan yararlanmayı artırmak amacıyla fitaz enzimi kullanımı son 10 yılda giderek artmıştır. Bu güne kadar yapılan çalışmalar fitaz enziminin kullanımı ile canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, yemden yararlanma, karkas verim ve kalitesi, yumurta verimi ve kalitesinde önemli iyileşmelerin sağlandığı bildirilmektedir. Bununla birlikte toplam fosfor içeriğinin %70'ini oluşturan fitin fosforu, kanatlılar tarafından yeterince değerlendirilmeyip fosforun önemli miktarı gübre ile atıldığından çevre kirliliğine neden olmuştur. Ayrıca protein, karbonhidrat ve mineral maddelerin fitik asit ile etkileşimi sonucunda sindirilmeme dereceleri azalmış ve gübre ile atılan fosfor açığını kapatmak için rasyonlara inorganik P kaynakları ilave edilmek zorunda kalmış ve bu durum yem maliyetinin artmasına neden olmuştur.

Kanatlı rasyonlarına fitaz enzimi ilavesi ile fitin şeklinde bağlı fosforun yaklaşık %40'ının değerlendirilebilmesi sonucu gübre ile atılan fosfor miktarı azaltılmıştır. Bunun yanında, fitik asitin enerji ve besin maddesi sindirimi üzerindeki olumsuz etkisini giderilerek verim artışına

olumlu yönde katkıda bulunmuştur. Yetiştiricilikte amaç; en ekonomik şekilde iyi kalitede ürün elde etmek ve bütün bunları yaparken de çevreye en az zararı vermek olduğuna göre, fitin fosforun sindirilmeme derecesinin arttırılabilmesi kanatlı rasyonlarında kullanılacak fitaz enziminin optimum sonuç verecek dozunun belirlenmesi, biyoteknolojik metotlar ile daha spesifik ve etkili enzim preparatları hazırlanması ve enzim ilavesine etki eden faktörlerin dikkate alınması önem arz etmektedir.

## Kaynaklar

Abd El-Hakim, A.S., Abd-Elsamee, M. O., 2004. Effect of feeding systems and phytase supplementation on the performance of broiler chicks during summer season. *XXII. World's Poultry Congress*. Jun. 8-13. Istanbul. Turkey.

Afsharmanesh, M., Edriss, M. A., Pourreza, J., Rahmani, H., 2004a. Influences of citric and ascorbic acids as mineral chelators, and vitamin D<sub>3</sub> with microbial phytase on amino digestibility. *XXII World's Poultry Congress*. Jun. 8-13, Istanbul- Turkey.

- Afsharmanesh, M., Pourreza, J., Samie, A. H., 2004b. Influences of citric and ascorbic acids as mineral chelators, and vitamin D<sub>3</sub> on efficacy of microbial phytase in broilers fed wheat-based diets. *XXII World's Poultry Congress*. Jun. 8-13, Istanbul- Turkey.
- Ahmad, T., Rasool, S., Sarwar, M., Haq, A-ul., Hasan, Z-ul., 2000. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 83 103- 114.
- Ahmed, F., Rahman, M. S., Ahmed, S. U., Miah, M. Y., 2004. Performance of broiler on phytase supplemented soybean meal based diet. *International Journal of Poultry Science* 3 (4): 266-271.
- Akyurek, H., Senkoylu, N., Ozduven, M. L., 2005. Effect of microbial phytase on growth performance and nutrients digestibility in broilers. *Pakistan Journal Of Nutrition* 4 (1) : 22-26.
- Baruah, K., Sahu, N. P., Pal, A. K., Debnath, D., 2004. Dietary Phytase: An ideal approach for a cost effective and low- polluting aquafeed. *NAGA, World Fish Center Quarterly* Vol, 27 No. 3 & 4 Jul-Dec.15-19.
- Boling, S. D., Douglas, M. W., Parsons, C. M., Zimmerman, R. A., 2000. The Effects of Dietary Available Phosphorus Levels and Phytase on Performance of Young and Older Laying Hens. *Poultry Science* 78.-224-230.
- Brenes, A., Viveros, A., Arija, I., Centeno, C., Pizarro, M., Bravo, C., 2003. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*. 110 201-219.
- Cabahug, S., Ravindran, V., Selle, P. H., Bryden, W. L., 1999. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus contents. I. Effects on bird performance and toe ash. *British Poultry Science* 40: 660-666.
- Ceylan, N., Sarıca, Ş., Gürsoy, Ü., 1999. Kanatlı Yemlerinde Fitin Fosfor Yarıyışlılığını Artırmaya Yönelik Uygulamalar.VIV. *Poultry Yutav 99 Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı* 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı, İstanbul. 321-329.
- Cowieson, J. A., Acamovic, T., and Bedford, R. M., 2004. Phytic Acid and Phytase for Protein Utilisation by Poultry. *XXII World's Poultry Congress*. Jun. 8-13, Istanbul- Turkey.
- Ergün, A., 2001. *Çiftlik hayvanlarının beslenmesinde temel prensipler ve karma yem üretiminde bazı bilimsel yaklaşımlar* (Editör: Melih Yavuz) Bölüm,1 s;11-96 .
- Ergün, A., Tuncer, Ş.D., Çolpan, İ., Yalçın, S., Yıldız, G., Küçükersan, N.K., Küçükersan, S., Şehu, A., 2004. Tavuk Besleme, (Bölüm 9), *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları*. Ankara, 397-437.
- Francesch, M., Broz, J., Brufau, J., 2004. Efficacy study with microbial phytase in laying hens fed a maize barley diet. *XXII World's Poultry Congress*. Jun. 8-13, Istanbul- Turkey.
- Gebert, S.,Bee, G., Pflirter, H: F., Wenk, C., 1999. Phytase and vitamin E in the feed of growing pigs. 1. Influence on growth mineral digestibility and fatty acids in digesta *J. Anim. Physiol. Anim. Nurt.*, 81: 9-19.
- Huff, W. E., Moore, P. A. Jr., Waldroup, P. W., Waldroup, A. L., Balog, J. M., Huff, G. R., Rath, N. C., Daniel, T.C., Raboy, V., 1998. Effect of dietary phytase and high available phosphorus corn on broiler chicken performance. *Poultry Science*. 77:12, 1899-1904;30.
- Jubarah, S. K., Davis, R. H., Dodds, P. F., Broklhurst, S., Holt, D. T., 2004. Effects of supplementary phytase on nutritional status of growing chicks fed plant-based diet. *XXII World's Poultry Congress*. Jun. 8-13, Istanbul- Turkey.
- Kapica, M., and Puzio, I., 2004. Influence of dietary phytase and 1.25-ihydroxycholecalciferol supplementation on the activity of digestive enzymes in chickens.*Bull Vet Inst Pulawy* 48, 519-522.
- Kis, L., Gerendal, D., Gippert, T., Kovari, L., 2000. Theeffect of phytase enzyme in the feeding of layers. *Allattenyesztes es Takamanyacas*, 49(2). 155-163.(Hu. en. 30 ref).
- Midilli, M., Muğlalı, Ö. H., Alp, M., Kocabağlı, N., Tanör, M. A., Toklu, G. S., 2003. Yeme katılan fitaz enziminin broylerlerde besi performansı ve mineral dengesi üzerine etkisi. *Turk J Vet Anim Sci*. 27 751-759 Tübitak.
- Perez-Vendrell, A. M., Juanpere, J., Brufau, J., 2004. Effects of mikrobial and/or endogenous phytase of wheat diets on broiler performance and mineral excretion. *XXII. World's Poultry Congress*. Jun. 8-13, Istanbul- Turkey.
- Ravindran, V., Cabahug, S., Ravindran, G., Selle, P. H., Bryden, W. L., 2000. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. *British Poultry Science*, 41: 193-200.
- Rodriguez, L. V., Haro, H. J., Barrera, M. E., Oporta, S. E. M., Alcorta, G. M., Bozalil, G. C., 2002. Citric acid and microbial phytase relative to productive performance and phosphorus, calcium and nitrogen excretion in laying hens. *Tec. Pecu Mex.* : 40 (2) :169-180.
- Sarıfakıoğulları, K., Önel, A. G., 1998. Fitik asit ve fitaz enziminin kanatlı beslenmesindeki önemi.*Yem Magazin*, Ağustos. 60-67.
- Sharpley, A., 1999. Reducing the environmental impact of poultry production Focus on phosphorus. *Poult.Sci*. 78:660-673.
- Simons, P. C. M., and Versteegh, H. A. J., 1992. Informative study concerning the effect of the addition of microbial phytase to layer feed. *Spelderholt*, publication no 573 (NL).
- Şenköylü, N., 2002. Fitaz enzimi ve protein küspelerine yönelik enzimler. 6. *Uluslar arası Yem Kongresi ve Yem Sergisi*.141-151.
- Toker, M. T. ve Ergene, Ş., 2004. Buğday ve mısıra dayalı broiler rasyonlarına farklı düzeylerde fitaz enzim ilavesinin karkas ağırlığı ile performans üzerine etkileri. *Ulusal 4. Zootekni Bilim Kongresi*, 01-03. Eylül. Isparta.

- Toker, M. T., Saygıcı, H., Özkaya, S., 2004. Mısır ve buğdaya dayalı yumurta tavuğu rasyonlarına farklı düzeylerde fitaz enzimi ilavesinin performans ile yumurta verim ve kalitesi üzerine etkileri. *Ulusal 4. Zootekni Bilim Kongresi* ,01-03. Eylül. Isparta.
- Zyla, K., Koreleski, J., Swiatkiewicz, S., Ledoux, D: R., Piironen, J., 2001. Influence of supplemental enzymes on the performance and phosphorus excretion of broilers fed wheat-based diets to 6 weeks of age. *Animal Feed Science and Technology* , 89, 113-118.



## Van İli'nde Kırsal Kalkınma Amacıyla Kurulan Gökkuşluğu Alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, İşletmelerinin Genel Durumları, Sorunları ve Çözüm Önerileri

Şenol GÜZEL<sup>(1)</sup> Kenan GÜLLÜ<sup>(1)</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, 65080 VAN

**Özet:** Bu çalışmada, Van İli'nde kırsal kalkınma amacıyla, Tarım Bakanlığı teşviki ile kurulan aile tipi alabalık işletmelerinden 6 tanesi araştırma kapsamına alınmış, anketler ve yerinde yapılan incelemelerle toplanan 2004 yılı verileri kullanılmıştır. Bu teşvik kapsamında her bir aile işletmesi için 3'er adet 15x3m ebadında havuz yapımı için gerekli malzeme, 15000 adet 25-30g ağırlığında yavru gökkuşluğu alabalığı ve 6 ay süre yetecek pelet yem verilmiştir. Kurulan işletmelerin toplam maliyetlerinin %10'u çiftçi tarafından %90'ı devlet tarafından karşılanmış ve %90'lık katkının geri ödemesi ise faizsiz olarak, katkının verildiği tarihten 1 yıl sonra 3 eşit taksitle (yılıda 1 taksit) ödenmesi planlanmıştır. Araştırma neticesinde; yetiştiricilik tesislerin projelendirilmesinde bazı teknik hataların bulunduğu, balıkların bakım ve beslenmesinin bilinçli yapılmadığı, havuzların aşırı kirli olduğu, hijyenik koşullara uyulmadığı, bütün işletmelerin balık hastalıkları nedeni ile çeşitli sayılarda balık kaybettikleri ve işletme sahiplerinin balık yetiştiriciliği hususunda yeterli bilgi ve deneyime sahip olmadıkları tespit edilmiştir. Başta işletmecilerin balık yetiştiriciliği konusunda iyi bir eğitime tabi tutulmaları olmak üzere diğer teknik konularda sorunlara çözüm olmak üzere öneriler sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Van, Kırsal kalkınma, Alabalık işletmeleri, sorunlar, öneriler

### The Status, Problems and Proposals of the Small Scale Rainbow Trout Farms, Supported the Countryside of Van Province

**Abstract:** In this study, the six small scale family farms for rainbow trout farms established by The Ministry of Agriculture's support were surveyed and a questionnaire was accomplished among them in 2004. The necessary equipment for three ponds (15 m x 3 m in size), 15 thousands young rainbow trout having 25 to 30 g weights, and pellet feed adequate for six months had been supplied to each family farms by the fund. Ten and ninety percent of the cost of the farms were met by the farmers and government, respectively. The repayment of the ninety percent of the cost was calculated without any interest rate and divided into three equal parts. The farmers had no payment in the first year and the repayments were due to the next three years. In the survey, it was determined that there were some technical mistakes in the planning of the farms; the maintaining and the feeding was not done consciously; the ponds were too dirty; the farmers did not obey the rules hygienically; there were fish loss in various amount because of the some fish diseases; the farmers had no adequate knowledge and experience for fish production. Therefore, some advices were suggested in order to solve the mentioned technical problems, including fine training of the farmers for all aspects of fish production.

**Key words:** Van, Countryside development, Rainbow trout farms, problems, proposals

#### Giriş

Ülkemizin 2003 yılı su ürünleri üretimi 587.715 ton olup, toplam arzın % 78,8'i (463.074 ton) deniz ürünlerinden, %7,6'sı (44.698 ton) iç su ürünlerinden ve % 13,6'sını ise (79.943 ton) yetiştirme yoluyla elde edilen su ürünlerinden oluşmaktadır. 2002 yılı sonu itibarıyla ülkemizde, deniz ve iç su balıkları yetiştiriciliği amacıyla toplam 1351 adet proje hayata geçirilmiştir. Bunlardan 444 adedi deniz balıkları, 907 adedi ise iç su balıkları yetiştiriciliği projesidir. Kültür yoluyla üretilen su ürünlerinin 40.217 tonu iç sularda (alabalık ve aynalı sazan), geriye kalan 39.726 tonu ise denizlerde (çipura, levrek, alabalık, karides, midye) üretilmektedir. İç su balıkları yetiştiriciliği ile elde edilen miktarın yaklaşık %98,6'lık (39.674 ton) kısmını, diğer bir deyişle neredeyse tamamına yakın miktarını gökkuşluğu alabalığı oluşturmaktadır. Çalışmanın yapıldığı Van İlinin toplam su ürünleri üretim miktarı 2003 yılı için 15.277 ton olarak gerçekleşmiştir. Bu miktarın büyük kısmını (14.215 ton) Van gölünde yaşayan inci kefalı (*Chalcalburnus tarichi*) avcılığıyla elde edilen ürün oluşturmaktadır. Van İli'nde gökkuşluğu alabalığı üretiminin 300 ton civarında olduğu belirtilmiştir (Anonim 2004b, Anonim 2005, DİE, 2004). Gökkuşluğu alabalığının ülkemizde yoğun olarak

yetiştiriciliğinin yapılmasının sebebi; bu balığın yetiştiriciliğine uygun su kaynaklarımızın bol olması, üretiminin kolay, etinin sevilerek tüketilmesi ve pazar durumunun iyi olması gibi nedenlerdir (Emre ve Kürüm,1999). Doğu Anadolu Bölgesi, birçok doğal ve yapay gölü bünyesinde bulundurmanın yanı sıra, çok önemli akarsuların doğduğu bir bölge olması nedeniyle su ürünleri açısından büyük bir potansiyel taşımaktadır. Van gölü havzası içerisinde; 3'ü sodalı, 14'ü tatlı su olmak üzere, toplam 17 adet doğal göl; 40 adet gölet ve çok sayıda akarsu bulunmaktadır (Anonim, 1989).

Van İli ve çevresinde gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliğini yaygınlaştırma amacıyla Tarım Bakanlığı tarafından 2003 yılı sonbahar aylarında, her biri 3,5 ton kapasiteli 9 adet yetiştiricilik tesisi kurulmuştur. Tesis sahiplerine verilen desteğin geri ödemesi, %10 u peşin, kalan miktarı ise 3 yılda 3 eşit taksit şeklindedir. Bu tesislerin kurulmasındaki hedefler; yörede istihdama katkı sağlamak, köyden şehre göçlerin engellenmesi, bölgede sosyo-ekonomik yapının iyileştirilmesi ve yöredeki geleneksel tarımsal üretime alternatif geliştirmektir. İşletme sahipleri tesisler kurulmadan önce 1 hafta süreyle, Tarım İl Müdürlüğü'nce, gökkuşluğu alabalığının yetiştiriciliği (damızlık seçimi, yavru balık üretimi, besleme vs.)

ile ilgili mesleki eğitime tabi tutuldukları bildirilmiştir. Kurulan bu işletmelerin ayda 2 kez kontrol edildiği, aynı proje kapsamında 16 adet tesisin daha kurulacağı ve ihale aşamasında olduğu bildirilmiştir (Anonim, 2004a). Kurulan bu işletmelerin sahipleri çeşitli problemler yaşadıkları gerekçeleriyle, farklı zamanlarda YYÜ Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü'ne şahsen müracaatta bulunmuşlardır. Bu çalışmanın amacı, Van İli'nde kırsal kalkınma amacıyla, Tarım Bakanlığı teşviki ile gerçekleştirilen bu uygulamanın; balık üretim tekniği ve planlamasına uygun olarak yapılıp yapılmadığının tespiti, üreticilerin yaşadığı sorunların çözümüne kavuşturulması ve bundan sonra yapılacak bu tür projelendirmelere ışık tutulmasıdır.

### Materyal ve Metot

Tarım Bakanlığının teşvikiyle kurulan 9 adet işletmeden 6 tanesi (Çatak ilçesinde 3, Gürpınar'da 1 ve Gevaş'ta 2 tesis) bu çalışma kapsamına alınmıştır. Bu işletmelerin seçiminde ulaşım, işletme sahibinin tutumu gibi faktörler rol oynamıştır. Çatak'ta incelenen işletmelerin ikisi Elmacı köyünde kurulu ve karışıklığa meydan vermemek için Çatak-Elmacı 1 ve Çatak-Elmacı 2 olarak kodlanmıştır. Diğeri ise Ganisipi mevkiindedir. Gürpınar ilçesinde incelenen tesis ise Su değirmenleri mevkiinde kuruludur. Gevaş ilçesinde incelenen iki tesisden biri Bahçelievler Mahallesi, Kırçeşme değirmen mevkiinde, diğeri ise Pınarbaşı mahallesi, Beşevler mevkiinde bulunmaktadır. Bu proje ile ilgili dokümanlar Van Tarım İl Müdürlüğü'nden temin edilerek çalışmanın yönünü belirleyecek planlar yapılmıştır.

İşletmelere, tesis planlanması, üretim aşamaları, balıkların beslenmesi, hastalık belirtileri vs teknik konularda araştırmalar yapmak üzere inceleme gezisi yapılmıştır. Ayrıca yetiştiricilerin sorunlarının tespiti ve çözümü amacıyla anket çalışması yürütülmüştür. Bu ankette, işletme sahiplerine kendileri hakkında (öğrenim durumu, mesleği vb.) ve işletmelerinin genel durumlarına yönelik (balık hastalığı, balık besleme, pazarlama, su kaynağı, arazi vb.) 36 soru sorulmuş ve alınan cevaplar kaydedilmiştir. Bunun yanında, ankette temas edilmeyen, ancak işletme sahiplerinin karşılaştığı bazı konular da ankete ilave edilmiştir. Yapılan anket çalışması sonucu elde edilen veriler değerlendirilerek yorumlanmış ve sonuçlar tartışılmıştır (Yıldız ve Bircan, 1991).

Tesislere yapılan inceleme gezileri sırasında; tesislerin çevreyle olan ilişkileri, havuzların genel durumu, havuzlara su giriş-çıkış sistemi, balıkların genel görünüşleri, yüzme aktiviteleri, davranışları gözlemlenmiştir. Tesis sularının sıcaklık, pH, çözülmüş oksijen ölçümleri yapılarak ve balıklara verilen pelet yemler incelenmiştir. Ayrıca, işletmelerin teknik özelliklerini yansıtan fotoğraflar çekilmiştir.

### Bulgular ve Tartışma

**İşletmelerin teknik analizi:**Yapılan anketler sonucunda; yeni kurulan aile tipi işletmelerin kuruluş yeri ve mülkiyet durumu açısından ele alındığında, işletme yerlerinin kendilerine ait tapulu arazileri olduğu ve çoğunlukla işletme yerinden çıkan doğal kaynak sularına sahip oldukları belirlenmiştir.

Kurulan İşletmelerin bazılarında bina olarak sadece yem deposu olarak kullanılan derme çatma küçük yapılar mevcut olup, bu depoların bazılarında bir elemanın kalabileceği yatak vb malzemeler bulunmaktadır. Çatak-Elmacı'daki işletmeler köy içerisinde ve yakınında olduğu için işletme binası veya yem deposunu yapmaya gerek görmemişlerdir.

İşletmeler aile işletmeleri olduğu için işletme sahibinin kendisi veya aile üyelerinden bir kaçı işletme ile ilgilenmektedir. Sadece bir işletme dışardan bir işçi çalıştırmaktadır.

İşletmelerde yapılan anketlerde, işletme sahiplerinin öğrenim durumlarıyla ilgili olarak çıkan sonuçta göre; 4 işletme sahibinin ilköğretim, 2 işletme sahibinin ise lise tahsilli olduğu tespit edilmiştir. Bu işi yapmadan önceki uğraşları veya meslekleri ile ilgili soruda ise, 3 işletme sahibinin tarım ve hayvancılıkla, diğerlerinin ise esnaf, serbest meslek sahibi ve emekli olduğunu belirtmişlerdir.

İşletme sahipleri herhangi bir sivil toplum örgütüne kayıtlı olmadıklarını, ancak diğer üreticiler ile birlikte hareket ederek mesleki bir kooperatif veya demek kurabileceklerini belirtmişlerdir.

Araştırma sonucunda işletmelerin kullandığı su kaynağının özellikleri, işletmeye su alımı ve suyun havuzlara giriş-çıkış planlanması ile ilgili bulgular çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. İşletmelerde kullanılan suyun özelliği, işletmeye alımı, havuzlara giriş-çıkışı ile ilgili bulgular

İşletme yeri	Kaynağın cinsi-uzaklığı	Havuzlara Su getirme şekli	Havuzlara su girişi	Su Tahliyesinin konumu ve su çıkışı
Gürpınar	Dere-300m	Açık toprak kanal	Üstten-ideal	Orta konumlu, üstten, hatalı
Çatak - Elmacı 1	Kaynak 150m	Plastik kapalı boru	Üstten-ideal	Orta konumlu, üstten, hatalı
Çatak - Elmacı 2	Kaynak 50m	Açık taş kanal + plastik boru	Yan-ortadan, hatalı	Köşeden savak-üstten, hatalı
Çatak - Ganisipi	Kaynak 400m	Plastik kapalı boru	Yan-ortadan, hatalı	Köşeden savak, üstten, hatalı
Gevaş - Pınarbaşı	Dere-50m	Plastik kapalı boru	Üstten-ideal	Orta konumlu, alttan, ideal
Gevaş - Kırçeşme	Kaynak 120m	Açık, toprak kanal	Üstten-ideal	Orta konumlu, üstten, hatalı

Yapılan incelemelerde işletmelerin kullandıkları su miktarının çoğunlukla yeterli olduğu fakat suyun havuzlara girişlerinde hataların yapıldığı tespit edilmiştir (Şekil 1). Havuz tahliye savaklarının bazı işletmelerde havuz köşesine yapıldığı, suyun alttan değil üstten

tahliye edildiği tespit edilmiştir. İşletmelerden bir tanesinde, suyun tamamen kapalı plastik borularla getirilmesinden ve havuzlara yanlış yerden verilmesinden kaynaklanan oksijen problemi olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 1. Çatak-Elmacı 1 tesisi, havuzlara hatalı su girişi

Yeni kurulan bu aile işletmelerinin her birinde 3'er adet 15x3m ebatlarında havuz yapılmış olup bazı işletme sahipleri kendi imkanları ile ilave havuz yapmışlardır. Havuzlar taştan yapıлып üzeri çimento ile sıvanmıştır. Havuzların girişinde su dağıtım kanallarının yapılmadığı tespit edilmiştir.

Yapılan havuzların taban eğiminin uygun olduğu ancak havuz köşelerinin dik açılı olarak hatalı planlandığı görülmüştür. Bunun yerine radius köşeli havuzların kullanımı yetiştiricilik açısından daha uygun görülmektedir. Havuzlara verilen suyun havuzun başorta kısmından verilmesi ve suyun tahliyesinin alttan olması

gerekmektedir. Havuzun yan-orta kısmından su verilmesi hem havuzdaki su akımını azaltması hem de taze suyun havuzdan daha kısa sürede dışarı tahliye edilmesine yol açmaktadır. Bu durum havuzların kısa sürede kirlenmesine, balıkların sudaki oksijenden yeterince faydalanamamasına sebep olmaktadır. Bu nedenle balıklar çeşitli hastalıklara yakalanmakta ve ekonomik kayıplar meydana gelmektedir (Atay, 2001).

İşletmelerde kullanılan suların havuzlara giriş ve çıkışlarında sıcaklığı, çözünmüş oksijen miktarı ve pH'sı ölçülerek sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. İşletmelerdeki havuzların giriş ve çıkış sularının sıcaklığı, çözünmüş oksijen ve pH değerleri

İşletme yeri	Havuzlara giriş suyu			Havuzların çıkış suyu		
	Su sıcaklığı (°C)	Oksijen (mg/l)	pH	Su sıcaklığı (°C)	Oksijen (mg/l)	
Gürpınar	14.5	9.5	8.19	14.5	8.2	
Çatak-Elmacı 1	7.4	11.4	7.72	7.8	7.5	
Çatak-Elmacı 2	7.7	11.3	7.16	7.9	10.5	
Çatak-Ganisipi	8.2	7.6	7.76	11.3	5.2	
Gevaş	10.0	9.6	8.32	10.2	8.5	
Gevaş	12.4	8.5	7.96	12.6	6.5	

Çatak'ta kurulan işletmelerin su sıcaklıklarının düşük olması balıkların pazar ağırlığına gelme zamanını uzatmaktadır. Bu işletmelerin ileriki yıllarda geliştirilmesi planlanırken yavru balık üretimine yönlendirilmesinin ve çok az miktarda porsiyonluk balık üretiminin daha mantıklı ve ekonomik olacağı düşünülmektedir. Özellikle Çatak elmacı köyü içerisinde bulunan her iki işletmenin kaynak suları yavru balık üretimi için uygun ve ideal

sıcaklık, oksijen ve pH değerlerine sahiptir (Çizelge 2) (Emre ve Kürüm 1999). Gürpınar ve Gevaş ilçelerinde kurulan işletmelerin su sıcaklıkları, balıkların büyümesi ve kısa zamanda pazara ulaşması bakımından diğer işletmelere göre daha avantajlı bir durumdadır (Çizelge 2).

**İşletmelerin ekonomik analizi:** Bütün işletme sahipleri bu yeni işlerini kurarken, en fazla mali ve teknik konularda sıkıntı yaşadıklarını bildirmişlerdir. İşletme kurulup balıkları beslemeye başladıklarında balık hastalıkları konusunda çaresiz kaldıklarını belirtmişlerdir. Her bir işletme sahibi, kendilerine verilen toplam 15.000 adet balıktan, balık hastalıkları sebebi ile 1000 ile 8000 adet civarında balığını kaybettiğini ve bu durum karşısında nasıl davranacağını bilemediğini ifade etmişlerdir.

Bütün işletme sahipleri, sağlıklı yavru balık ihtiyacını karşılama noktasında güçlükler yaşamakta ve nereden, nasıl karşılayacakları noktasında endişeler taşımaktadırlar. Bu noktada her bir işletme sağlıklı yavru balık temini konusunda önemli yanlışlıklar yapmaya aday bir durumdadır. Balık temin ederken balıkların hastalıklı olup olmadığı konularında bilgileri bulunmamaktadır. Bu nedenle hastalıklarla henüz kontamine olmamış bölge kaynaklarına çeşitli hastalıkların taşınması mümkün olabilmekte ve Bölgedeki kültür balıkçılığı için risk taşımaktadır (Arda ve ark. 2002).

Elde edilen bilgilerden çıkan sonuca göre, kurulan işletmelere ilk 6 aylık yem toplu olarak bir seferde verilmiştir (Tarım İl Müdürlüğü ve işletmecilerin beyanı). Bu durum yetiştiricilikte kabul edilemez bir durumdur. Sebebi ise balık yemi içerisinde bozulma özellikleri yüksek maddeler (yağ, protein vs) ve katkı maddeleri (vitamin-mineral vs) bulunmakta olduğundan serin bir yerde maksimum 2-3 ay süreyle muhafaza edilebilmektedir (Halver 1989, Hopher 1990). Bu sürenin üzerinde depolamalarda yem bozulacağından balıkların bu yemlerle beslenmesi mümkün olamayacağı gibi çeşitli hastalıklara da davetiye çıkaracaktır. Nitekim araştırma süresi içinde hemen tüm işletmelerde bu durumun izlerine rastlanmıştır. Ayrıca işletme sahipleri kaliteli ve ucuz balık yemi temininde sıkıntılar yaşadıklarını da beyan etmişlerdir.

Yaklaşık 3 ton gibi başlangıç kapasitesi ile çalışan bu işletmelerin sahipleri, ileriki yıllarda kapasite artırımına giderek işletmelerini büyütmeyi planlamaktadırlar. Ancak konuyla ilgili olarak teknik bilgi eksikliklerini ve parasal sorunlarını giderme gibi önemli konuların da farkında olmaları gerekmektedir. Üniversitelerin su ürünleriyle ilgili birimleriyle teknik bilgi ve destek amacıyla herhangi bir ilişki kurup kurmadıkları sorusuna maalesef bütün işletme sahipleri ilişkilerinin olmadığı cevabını vermişlerdir.

Bununla birlikte, işletme sahipleri balık yetiştiriciliği konusunda Van Tarım İl Müdürlüğü'nün ilgili elemanlarınca bir haftalık bir eğitim kursuna katıldıklarını bildirmişlerdir. Araştırma sonucunda, yetersiz imkanlar ve kısa süreli olan bu eğitimin, işletme sahipleri veya çalışanlarına alabalık yetiştiriciliği, bakımı ve beslenmesi konusunda çok şey kazandırmadığı bunun için daha fazla eğitime ihtiyaç duydukları tespit edilmiştir.

## Sonuç ve öneriler

Bölgedeki balıkçılığın geliştirilmesi ve az da olsa işsizlik problemlerini çözmek için kurulan aile tipi alabalık işletmelerin, daha verimli hale getirilmesi, yöre halkının sosyo-ekonomik seviyelerinin iyileştirilmesi ve ayrıca sürdürülebilir gelir sağlamaları için aşağıda bahsedilen konulara dikkat edilmesi gerekmektedir;

Öncelikli olarak aile işletmeciliğinden faydalanacak olan kişilerin, balık yetiştiriciliği konusunda önceden yeterli bir eğitime tabi tutulmaları ve bu eğitimi başarı ile tamamlayanlara destek verilmelidir.

Balıkların beslenmesi ve bakımı konularında pratik kazanmaları için mevcut diğer işletmelerde uygulamalı staj görmeleri daha faydalı olacaktır.

Destek verilerek kurulan bu işletmeler ilgili kamu kurumu tarafından periyodik olarak kontrol edilmeli ve gerekli yönlendirmeler yapılmalıdır.

Balık hastalıkları konusunda yörede uzman ve bir laboratuvar bulunmadığından, işletme sahipleri balık hastalıklarını işletmelerine sokmamak için hijyenik tedbirlerin alınması konusunda bilinçlendirilmelidir. Bu kapsamda, işletmelere yavru balık verilirken veya ileriki aşamalarda işletme sahipleri yavru balık temin ederlerken hastalık riski taşımayan sertifikalı balıkları almaları yönünde uyarılmalı ve bilinçlendirilmelidir.

İşletmelere verilen balık yemlerinin 6 aylık toptan verilmesi sebebiyle zamanla pelet yemin besin kalitesi azalacağından, çeşitli balık hastalıklarına davetiye çıkartılmaktadır. Buna bağlı olarak yemin balık tarafından değerlendirilmesi azalacağından balığın pazar ağırlığına gelme süresi uzayacak ve maliyeti yükselecektir. Bu nedenle işletmelere verilecek balık yemlerinin, en fazla 2-3 aylık olarak verilmesi daha uygun ve sağlıklı olacaktır.

Kurulan işletmelerin konumu itibari ile doğal güzelliklere sahip bulunmaları, ulaşımının kolay ve yakın mesafelerde olmaları, işletmelere kendi balıklarını işletme içinde pazarlama fırsatı sunmaktadır. İşletme sahipleri tesislerinin uygun bir alanına yapacakları balık lokantası, piknik alanı ve çocuk oyun bahçesi gibi küçük yatırımlarla, yetiştirdikleri balıkları yerinde pazarlayabilecekleri gibi daha fazla kar da edeceklerdir. İşletmelerin hiçbirinde olmayan, fakat olması gerekli bir pazarlama havuzunun da yaptırılması ayrıca tavsiye edilmektedir.

Her bir aile işletmesine aynı zaman diliminde verilen alabalık yavrularının, tamamının aynı başlangıç ağırlığına sahip olması, pazarı yıla yaymak açısından olumsuz bir durumdur. İşletmelere farklı başlangıç ağırlıklarında (20 g, 50 g ve 100 g gibi) balıklar verilir ise bütün balıklar aynı anda porsiyonluğa gelmeyeceğinden, pazarda her hangi bir yığılma meydana gelmeyecektir.

Van ve yöresinde kültür balıkçılığının gelişmesi ve kırsal kalkınmayı sağlamak amacıyla uygulamaya konulan bu ve benzer projelerin hazırlanması ve yürütülmesi aşamasında, Bölgedeki Üniversiteler ile koordinasyona geçilerek fikir ve görüşlerinin alınması projelerin başarıya ulaşmasında önemli rol oynayacaktır.

## Kaynaklar

- Anonim, 2003-2004. Su Ürünleri İstatistikleri. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 2004a. Van Tarım İl Müdürlüğü, Van.
- Anonim, 2004b. Türkiye İstatistik Yıllığı. DİE, Ankara.
- Anonim, 2005. TÜGEM verileri, [www.tugem.gov.tr/tugemweb/suurgproje.html](http://www.tugem.gov.tr/tugemweb/suurgproje.html)
- Arda, M., Seçer. S., Sarıeyüpoğlu. M, 2002. Balık Hastalıkları. Medisan Yayın serisi:56. Ankara.

- Atay, D., Korkmaz. A.Ş. 2001. Balık Üretim Tesisleri ve Planlaması. AÜ. Ziraat Fak. Yayınları No:1521, Ders Kitabı:474. Ankara.
- Emre, Y., Kürüm. V, 1999. Alabalık Yetiştiriciliği Minpa Matbaacılık Tic. Ltd. Şti. Ankara.
- Halver, J. E, (Ed) 1989. Fish Nutrition, Academic Press New York London.
- Hepher, B, 1990. Nutrition of Pond Fishes. Cambridge University Press Cambridge New York.
- Yıldız, N., Bircan. H, 1991. Araştırma ve Deneme Metodları. Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi. Ders Kitabı. Erzurum.

## Patlıcanda *Verticillium* Solgunluğuna Dayanıklılık ile Kallus Kültüründe Solavetivon Birikimi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi\*

Sevinç USLU-KIRAN<sup>1</sup> Şebnem ELLİALTIOĞLU<sup>2</sup> F.Sara DOLAR<sup>3</sup> A.Sülün ÜSTÜN<sup>4</sup>  
Ülkü MEHMETOĞLU<sup>5</sup> Harun BAYRAKTAR<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Toprak ve Su Kaynakları Araştırma Enstitüsü, Ankara  
<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara  
<sup>3</sup> Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Ankara  
<sup>4</sup> Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara  
<sup>5</sup> Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara

**Özet:** Antalya'daki seralardan toplanan hastalıklı bitkilerden izole edilen *Verticillium dahliae* fungusu, bu hastalığa duyarlı Long Purple patlıcan çeşidi ile *Solanum sisymbriifolium* fidelerine bulaştırılmış ve patojenite testi yapılmıştır. Yabani türe ait bitkiler hastalık belirtisi göstermemiş, duyarlı çeşitte ise fungusun neden olduğu hastalık şiddeti %60.7 oranında belirlenmiştir. *V.dahliae* fungal elisitörünün üç farklı dozu uygulanan kallus dokularında solavetivon fitoaleksini oluşmuştur. Elisitör uygulamasından 24, 48 ve 72 saat sonra yapılan ölçümlerde en yüksek solavetivon birikimi yabani türün kalluslarında, '2.0 ml elisitör + 72 saat uyarı süresi' kombinasyonundan elde edilmiştir. Kallus dokusunda solavetivon birikimi ile *V.dahliae*'ye dayanıklılık arasında bir ilişkinin bulunabileceği yönünde bir görüş oluşmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Solanum melongena*, *Solanum sisymbriifolium*, *Verticillium dahliae*, fitoaleksin, *in vitro*

### Investigation on the Relationship Between Resistance to *Verticillium* Wilt and Solavetivone Accumulation in Callus Culture of Eggplants

**Abstract:** *Verticillium dahliae* fungus was isolated from diseased plants of greenhouses in Antalya and infected to Long Purple eggplant variety and *Solanum sisymbriifolium* seedlings susceptible to this disease and pathogenity test was carried out. While the wild plant varieties have not exhibited disease symptoms, fungus was found to be 60.7% pathogen for susceptible varieties. Solavetivone phytoalexin was formed within callus tissues over which three different doses of *V.dahliae* fungal elicitor were applied. Measurements carried out 24, 48 and 72 hours after elicitor application showed that the highest solavetivone accumulation was observed in callus of wild variety with '2.0 ml elicitor + 72 hour elicitation duration' combination. An opinion has grown out that there might be a relation between solavetivone accumulation in callus tissues and resistance to *V.dahliae*.

**Key Words:** *Solanum melongena*, *Solanum sisymbriifolium*, *Verticillium dahliae*, phytoalexin, *in vitro*

#### Giriş

Ülkemiz, patlıcan üreticisi ülkeler arasında önemli bir noktada bulunmakta olup tek başına Türkiye'nin patlıcan üretim değerleri, Avrupa'daki diğer ülkelerin toplamından daha yüksektir. Son on yıllık veriler incelendiğinde; dünya patlıcan üretiminde Çin'in % 50.6, Hindistan'ın % 30.1, Türkiye'nin % 3.8 ile ilk üç sırayı paylaştıkları, özellikle son beş yılda Çin üretiminin arttığı; Hindistan ve Türkiye üretimlerinin ise fazla değişmediği görülmektedir (Anonymous, 2005). Verim bakımından da ülkemiz, Japonya, İtalya ve İspanya'nın gerisinde olmakla birlikte A.B.D. ile aynı seviyede olup aralarında anavatanı bulunan diğer birçok Asya ülkesinden daha iyi durumdadır. Buna rağmen son yıllarda patlıcan ekim alanları ve dolayısıyla üretim miktarlarımızda önemli bir artış olmadığı gibi üretimin zaman zaman düştüğü gözlenmektedir. Hem yetiştiriciliğin hem de üretimin sınırlı düzeyde kalmasının pek çok nedeni bulunmakta birlikte, özellikle örtü altı yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerde görülen *Verticillium* solgunluğu hastalığı bu sınırlamada önemli yer tutmaktadır. *Verticillium* solgunluğu, toprak kökenli bir patojen olan *Verticillium dahliae*'nin yol açtığı patlıcan hastalıklarından birisi olup yaygın olarak karşılaşılan solgunluklardandır. Hastalığa karşı etkili bir kimyasal mücadele olmaması nedeniyle kültürel önlemler ile mücadele yapılmaya çalışılmaktadır. Kültürel yöntemler arasında; toprak sıcaklığında ani düşüşlerin engellenmesi

için düzenli sulamanın yapılması, sıcak bölgelerde yetiştiricilik yapılmadığı dönemlerde solarizasyonun uygulanması, fungusla bulaşık alanlarda hastalıklı bitkilerin sökülüp atılması, toprak işlemeye dikkat edilmesi ve bunların yanı sıra ekim nöbetinin uygulanması sayılabilmektedir. Bununla birlikte, kültürel yöntemler kullanarak hastalıktan kurtulma çabaları veya tarım ilaçları kullanarak yapılan savaşım, *V. dahliae* ile mücadelede çok fazla etkin olmadığı gibi ekonomik de değerlidir. Yetiştiricilik sırasında kültürel önlemler almak, düşük etkili bir korunma yöntemi olarak sadece hastalığın çıkışını ve yayılmasını yavaşlatıcı rol oynamakta, dayanıklı çeşit kullanmaktan başka bir çıkar yol görülmemektedir. Ancak anılan hastalık etmenine karşı dayanıklılığın yabani türlerde bulunması ve türler arasında melezlemelerin yapılmasında karşılaşılan biyolojik engeller, dayanıklı çeşitlerin elde edilmesini ve kullanımını da pratik anlamda olanaksız kılmaktadır. Tüm bu unsurlar, *Verticillium* solgunluğu hastalığına dayanım konusunda çalışmaların devam etmesine neden olmakta ve araştırmacıları hastalıkla savaşımında yeni arayışlara yönlendirmektedir.

Bitkinin savunma mekanizmasının bir ürünü olan fitoaleksinlerin patojenlere ve özellikle de fungal etmenlere karşı dayanıklılıkta önemli rol oynadığının anlaşılmasından sonra değişik bitki türlerinde sentezlenen türe özgü fitoaleksinlere olan ilgi artmıştır. Seskiterenoid grubu fitoaleksinlerden biri olan kapsidolün biberde (Stoessl ve

\* Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından desteklenmiştir.



ark.,1972; Üstün, 1990) ve tütünde (Chappel ve ark.,1987) üretimini etkileyen bazı uyarıcı uygulamaları önceki yıllarda rapor edilmiştir. Solanaceae familyasında yer alan türlerden patatesten risitin (Tomiyama ve ark., 1968), fitüberin (Vams ve ark., 1971) ve lubimin (Metlitskij ve ark., 1971) belirlenirken; risitinin domateste de oluşturulduğu ortaya konmuştur (Ahmed ve ark., 1997). *Hyoscyamus muticus* (Ramakrishna ve ark., 1993; Mehmetoğlu ve Curtis, 1997) türünde solavetivon tanımlanmıştır. Ward ve ark. (1975), patlıcanın enfekte edilmiş meyvelerinden özellikle lubimin elde edilebildiğini bildirmiştir. Stoessl ve ark. (1975) ise patlıcandaki fitoaleksineri ve bunların yapılarını rapor etmiştir. Imoto ve Ohta (1988), kültüre alınmış patlıcan hücrelerinde abiyotik elisitör uygulamaları yapılmasını takiben diasetilenik bileşenler oluştuğunu saptamışlardır. Nagaoka ve ark. (2001), Afrika'da yetiştirilen patlıcan türlerinden biri olan *S.aethiopicum* bitkilerinin kök öz suyunda, beş seskiterpen fitoaleksini izole etmiştir: Solavetivon, lubimin, lubiminoik asit, aethion, lubiminol. Yokose ve ark. (2004) ise, toprak kökenli patojenlerden olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *melongenae*, *V.dahliae* funguslarına ve *Ralstonia solanacearum*'a dayanıklı olan *Solanum abutiloides* bitkilerinin köklerinde fitoaleksinin tabiatında yeni bir maddeye (3-beta-acetoxysolavetivone) rastladıklarından bahsetmektedir.

Doku kültürü teknikleri, küçük alanlarda çok sayıda bitki materyaliyle, kontrol edilebilen optimum koşullarda çalışma olanağı verdiği için, fizyolojik çalışmalarda ve temel mekanizmaların aydınlatılması amacıyla tercih edilebilmektedir. Hastalıklara dayanıklılık mekanizmaları fitoaleksinin oluşumu arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmalar, başka bazı bitki türlerinde de yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda, fitoaleksinin biriktirme kapasitesi ile hastalıklara dayanıklılık arasında ilişki olabileceği yönünde bulgulara rastlanmaktadır (Duchense ve ark., 1994; Sbaghi ve ark., 1995; Gardner ve ark., 1994; Ellialtıoğlu ve ark., 2001). Uyarılmış dayanıklılık mekanizmasının koruyucu bir yöntem olarak kullanılabilme olasılığının yanısıra, patlıcanda *Verticillium* etmenine dayanımın veya duyarlılığın nedenlerinin anlaşılabilmesi çerçevesinde solavetivon, lubimin ve risitin fitoaleksinin oluşum ve birikiminin incelenmesi, bu kapsamda planlanmış bir bütünün ilk halkasını oluşturmaktadır. *V.dahliae*'ye dayanıklı ve duyarlı olduğu bilinen genotipler kullanılarak *in vitro* kallus kültürlerinde fitoaleksinin birikiminin incelenmesi, dayanıklılık ve fitoaleksinin oluşturma kapasitesi arasında bir ilişkinin bulunup bulunmadığı hakkında bilgi edinmek, bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır.

## Materyal ve Yöntem

### Materyal

Patlıcanda *Verticillium dahliae* hastalık etmenine karşı dayanıklılığın mekanizmasında fitoaleksinin sentezlenmesi ve birikiminin etkisini belirlemeye yönelik olarak gerçekleştirilen çalışmada iki farklı genotip kullanılmıştır. Bunlardan birisi *V. dahliae* hastalık etmenine duyarlı Long Purple kültür çeşidi olup, diğeri ise bu hastalığa yüksek dayanım gösterdiği bilinen *Solanum sisymbriifolium* yabani türüne ait bir hatır (Şekil 1 a ve b).

Araştırmada, son ürün olan risitin ve bunun yol izindeki öncül maddeler olan solavetivon, lubimin maddelerinin oluşumunu uyarmak amacıyla bir fungal

elisitör, *Verticillium dahliae*'nin otoklavlanmış spor süspansiyonu kullanılmıştır.

### Yöntem

***Verticillium dahliae* fungusunun izole edilmesi ve patojenisite testi:** Antalya ve çevresindeki seralarda yetiştirilen patlıcan alanlarında *Verticillium* solgunluğu hastalığına yakalanmış bitkilerden fungusun izole edilmesi amacıyla hastalıklı bitki örnekleri toplanmıştır. Solgunluk belirtisi gösteren patlıcan bitkilerinin kök boğazından ve kök boğazının hemen üstündeki gövde kısmından 1 cm'lik parçalar alınıp %0.5'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 2 dakika süreyle tutularak yüzeysel dezenfeksiyonları yapıldıktan sonra, steril kurutma kağıtlarının arasında kurutulup 2-3 mm'lik parçalar halinde tekrar kesilip etanol-streptomisin agar ortamına ekimleri yapılmıştır. 7-10 gün sonra gelişen fungus kolonileri ortamda gözlenmiştir. Bu şekilde izolasyonları yapılan *V.dahliae* izolatları PDA (patates dekstroza agar) ortamı kullanılarak çoğaltılmış (Şekil 1c) ve yine aynı ortamda saklanmıştır (Melouk, 1992). Daha sonra bu fungusun izolatları ile sağlıklı fideler üzerinde patojenisite testleri kurulmuştur.

*Verticillium* solgunluğu hastalık etmenine dayanıklı (*S. sisymbriifolium* türü) ve duyarlı (Long Purple çeşidi) bitkilerde patojenisite testleri için kök daldırma yöntemi kullanılmıştır. Bunun için öncelikle vermikulit içerisinde çimlendirilerek Hoagland besin çözeltisiyle sulanan ve 5 yapraklı olacak kadar büyütülen patlıcan fideleri, tanımlanan aşamaya geldiklerinde buldukları ortamdaki kökleri, kökleri uç kısmından kesilerek yara yeri açılması sağlandıktan sonra fideler, Thoma lamı kullanılarak  $10^7$  spor/ ml' ye ayarlanan spor süspansiyonunda bir saat süreyle bekletilmiştir (Koike ve ark., 1992). Böylece köklerin fungus sporları ile doğrudan teması sağlanmıştır. Kontrol bitkileri de aynı işleme tabi tutulduktan sonra steril saf suda bekletilmiştir. Steril toprak içeren saksılara şaşırtma yapılmış; denemeler 15 tekrerrür olarak yürütülmüştür. Değerlendirmeler dikimden 2 ay sonra aşağıda tanımlanan 0-5 skalasına göre yapılmıştır (Tsrör ve ark., 2001).

### 0-5 skalası

- 0: Hastalık belirtisi yok,
  - 1: Yapraklarda az düzeyde kloroz görülmekte,
  - 2: Orta düzeyde kloroz (yaprakların %30-50'si) görülmekte,
  - 3: Orta düzeyde solma ve karama görülmekte,
  - 4: Yaprakların %50'sinden fazla solma ve karama görülmekte,
  - 5: Bitkilerde ölüm meydana gelmekte.
- Skala değerlerine göre % hastalık şiddeti aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = \frac{\sum \text{Skala değeri} \times \text{Skaladaki örnek adedi}}{\text{Toplam örnek adedi} \times \text{En yüksek sınıf değeri}} \times 100$$

### Kallus Dokusunun Elde Edilmesi

**Tohum sterilizasyonu:** Tohumlar önce %96'lık etil alkolde 3 dakika süreyle bekletilmiş; bunun ardından %30'luk ticari sodyum hipoklorit çözeltisinde 30 dakika tutulduktan sonra steril saf su ile 5'er dakika 3 kez çalkalanarak durulanmış (Erdem, 1998) ve dikime hazır hale getirilmiştir. Tohumlar, yüzey sterilizasyonuna tabi

tutulduktan sonra içerisinde 50'şer ml besin ortamı bulunan magenta kutularına 6'şar adet yerleştirilmiştir.

**Fide sterilizasyonu:** Tohumlara uygulanan yüzey sterilizasyon işlemleri enfeksiyon oluşumunu tamamen önlemiştir. Ancak Long Purple çeşidi tohumları *in vitro* koşullarda başarıyla çimlendirildiği halde, yabani türün tohumlarında sadece %2 oranında çimlenme meydana gelmiştir. Bu yolla fide elde etmek mümkün olamayınca, tohum ekimi iklim odasında vermikulit içerisine yapılmıştır. Vermikulit içerisine ekilen tohumların tamamı çimlenmiştir. İklim odasında fide kaplarında çimlenerek gelişen *S. sisymbriifolium*'a ait fideler 3-4 yapraklı olunca kök boğazından 2 cm kadar yukarıdan kesilmiş ve yüzeysel sterilizasyona tabi tutulmuştur. Bu amaçla yaprakları kopartılan ve sadece gövde kısımları alınan fideler %15'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 12 dakika tutulup ardından 3 kez 5'şer dakika steril saf suda çalkalama uygulamalarından geçtikten sonra hipokotil eksplantları hazırlanmıştır.

**Besin ortamı bileşimleri:** Long Purple patlıcan tohumlarının çimlendirilmesi amacıyla hormonsuz Murashige ve Skoog (1962) temel besin ortamı kullanılmıştır. Long Purple ve *S. sisymbriifolium*'a ait fidelerden alınan hipokotil eksplantlarından kallus elde edilmesi aşamasında ise MS temel besin ortamına dört farklı büyüme düzenleyici uygulaması yapılmıştır. Patlıcan eksplantlarından kallus elde etmek için 2,4-D ya tek başına ya da kinetin ile birlikte kullanılmıştır. (1. 0.5 mg/l 2,4-D, 2. 1.0 mg/l 2,4-D, 3. 0.5 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l kinetin, 4. 1.0 mg/l 2,4 D + 0.1 mg/l kinetin). Kontrol grubu olarak, hormonsuz ortama dikilen eksplantlar değerlendirilmiştir. Eksplantların dikiminden 21 gün sonra tüm ortamlar üzerinde oluşan kallus dokuları ana eksplantın ayrılacak, her iki genotipin de en iyi gelişim gösterdiği 0.5 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l kinetin içeren taze ortamlara aktarılmıştır. Kallus dokuları, 21 günlük aralıklarla aynı bileşime sahip taze ortamlara transfer edilerek üç kez alt kültüre alınmıştır. Besin ortamlarına yerleştirildiği gibi kalan ve hiç kallus oluşturmayan eksplantların dışında, en az düzeyde de olsa kallus oluşumu gösteren hipokotil eksplantlarının tümü "kallus oluşturan eksplant" kapsamında değerlendirilmiştir. Her iki genotipte, denemede yer alan tüm büyümeyi düzenleyicisi içerikleri için kallus oluşturma oranları yüzde (%) olarak verilmiştir.

**Eksplantın hazırlanması ve besin ortamına dikimi:** Hipokotil eksplantlarının hazırlanmasında patlıcan fideleri kök boğazından kesilerek kök kısmı uzaklaştırılmış, bunun ardından hipokotil kısmı 15 mm uzunluğunda parçalara ayrılmıştır. Her bir ortam bileşiminde 5'er adet petri kutusu ve her bir petri kutusunun içinde 5'er adet eksplant bulunacak biçimde dikim yapılmıştır. Dikim sırasında hipokotil eksplantları besin ortamına yatay konumda yerleştirilmiştir. Eksplant dikimi tamamlanan kültürler, 25°C ±1 sıcaklık derecesine sahip iklim odasında, sürekli karanlık koşullara bırakılmıştır.

**Kalluslara uyarıcı uygulanması:** Uyarıcı uygulamalarının tümü aseptik koşullar altında laminar akışlı kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir. *Verticillium* izolatlarından hazırlanan ve otoklavlanan spor süspansiyonundan oluşan stok çözeltiden 1.0, 1.5 ve 2.0 ml alınarak içerisinde 2'şer g kallus dokusu bulunan petrilerdeki kallusların üzerine damlatılmıştır. Spor süspansiyonun glukoz eşdeğerleri antron Reaktif ile

Halhoul ve Kleinberg (1972)'e göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (sırasıyla 240, 360 ve 480 ppm/ml). Uyarıcı uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra kallus yaş ağırlığı (g) ölçülmüş, ağız kilitlenen küçük plastik poşetlere konarak analiz yapılmaya dek -40°C'deki derin dondurucuda saklanmıştır.

**Fitoaleksin ekstraksiyonu ve GLC analizleri:** Kallus dokusundaki olası lubimin ve solavetivon ekstraksiyonu için, derin dondurucuda saklanan örneklerden 1g alınarak üzerine + 4°C' deki %50'lik etil alkol'den 20 ml/g olacak şekilde eklenmiş, bu dokular homojenizatörde 1-2 dakika parçalanmış ve bir gece boyunca karanlıkta, +4°C'de bırakılmıştır. Whatman No:1 filtre kağıdı ile süzüntü (filtrat) kısmının ayrılmasını takiben süzülen kallus dokularının üzerine ilk hacmin yarısı kadar yine etil alkol konularak 1 saat daha +4°C'de beklenmiştir. Bu sürenin sonunda kallus dokuları tekrar süzülerek ilk filtratın üzerine daha önce ayrılan filtrat katılarak elde edilen 'toplam filtrat' rotari evaporatörden geçirilmiştir. Rotari evaporatörde 40°C sıcaklıkta, 50 devir/dakika çevirme hızında ve düşük basınç altında filtratın 1/3'ü kalacak şekilde etil alkol buharlaştırılmıştır. Daha sonra rotari balonunda kalan filtratın üzerine su ve etil asetat (3:2:5 v/v) ilave edilerek 1 saat süreyle fazların ayrılması için beklenilmiştir. Ayrırma hunisine alınan karışımdan etilasetat fazı ayrılmış ve kalan kısmın üzerine ilk hacmin yarısı kadar daha etil asetat ilave edilerek yarım saat kadar daha beklenilmiştir. Tekrar etilasetat fazı ayrılarak ilk fazın üzerine eklenmiş ve aynı şartlardaki rotari balonuna konulmuş ve etil asetat fazı kuruluğa varmayana kadar ekstrakt buharlaştırılmıştır. Yaklaşık 0.1-0.5 ml kalan ekstrakt etiketli cam şişelere konularak, etil asetatın tamamen buharlaşması için en az 3 saat oda sıcaklığında daha sonra da desikatörde bekletildikten sonra kuruyan ekstraktlar GLC analizine kadar +4°C'de saklanmıştır (Desjardins ve ark., 1995 ve 1997). Analizler, Hewlett-Packard 5750 model Gaz Likit Kromatografisi cihazında ve ZB-1 30m x 0.25 mm kapillar kolonda gerçekleştirilmiştir. Dedektör sıcaklığı 250°C, enjeksiyon sıcaklığı da 120°C olarak ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı, 15°C/dakika artırılarak 210°C de 4 dakika, 15°C/dakika artırılarak 260°C'de 2 dakika kalacak şekilde ayarlanmıştır (Desjardins ve ark., 1995). Daha önce ekstrakte edilen ve buzdolabında saklanan örneklerin üzerine kromatografik safılıkta metanol ile hazırlanmış 4 mM. metil araşidat (SIGMA Cat.No: A-9298) iç standardından 50 µl ilave edilmiştir. Hamilton marka şırınga ile her örnekten 1µl alınarak 3'er kez enjeksiyon yapılmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Bu koşullarda iç standart metil araşidat, solavetivon ve lubiminin alıkönme zamanları sırasıyla 13.45, 5.85, 8.45 dakika olarak tespit edilmiştir.

## Bulgular

***Verticillium dahliae* fungusu ile yapılan patojenite testi:** Antalya ilindeki seralarda yetiştirilen patlıcan alanlarından toplanan hastalıklı bitkilerden fungus izole edilmiştir. Gelişen funguslarda tür teşhisi yapılarak *Verticillium dahliae* olduğu belirlenen fungus besiyerlerinde çoğaltılarak geliştirilmiş ve her iki patlıcan genotipine ait sağlıklı fidelerle patojenite testleri yapılmıştır. Bu testlerin sonucunda fungusun duyarlı çeşit neden olduğu hastalık şiddetinin % 60.7 olduğu belirlenmiştir. Long Purple çeşidinde hastalık belirgin bir şekilde ortaya çıktığı halde (Şekil 1d ve e), dayanıklı türde inokülasyon yapılan bitkilerde hiçbir hastalık belirtisi ortaya çıkmamıştır (Şekil 1f). Hastalık etmeni inoküle edilmeyen



kontrol grubu bitkileri sağlıklı gelişmelerine devam etmişlerdir.

**Kallus oluşumu için uygun besin ortamı:** Long Purple ve *S.sisymbriifolium* fidelerinden alınan hipokotil dokuları, kallus elde edilmesi amacıyla, 4 farklı 2,4-D ve kinetin kombinasyonuna sahip MS besin ortamına dikilmişlerdir. Her iki genotipte de, aynı gelişme kuvvetinde olmamakla birlikte kallus dokusu elde edilebilmiştir. Long Purple çeşidinin besin ortamlarına dikilen eksplantlarından hızlı, kolay ve sağlıklı kallus elde edilebilirken, *S. sisymbriifolium* türünde kallus oluşumu ve gelişimi daha yavaş seyretmiştir.

Kallus oluşturma oranlarının toplamı bakımından aralarında farklılık görülmeyen uygulamaların çoğu, oluşan kallusun niteliği bakımından büyük farklılıklara sahip

olmuşlardır. Bu nedenle sayısal veriler, en uygun büyümeyi düzenleyicisi katkısının belirlenmesinde tek başına dikkate alınmamış, oluşan kallusun niteliği de önemli bir seçim kriteri olmuştur. Bu nedenle oluşan kalluslar besin ortamlarındaki gelişim durumlarına ve yapılarına bakılarak sınıflandırılmıştır. 1.sınıf kalluslar; beyaz renkli, iyi gelişmiş, yumuşak dokulu ve dağılabilir nitelikte iken, 2.sınıf kalluslar; sert, köpüğe benzer ya da eksplant ile kaynaşan, rengi hafifçe sararma yönünde değişmiş, 3.sınıf kalluslar ise; hafifçe kahverengileşerek kararışmış, çok az gelişmiş, alt kültüre alınma olanağı bulunmayan nitelikte olmuşlardır. Dayanıklı ve duyarlı genotiplere ait hipokotil eksplantlarının değişik büyümeyi düzenleyici içeriğine sahip ortamlardaki kallus gelişim sınıfları da, diğer oranlarla birlikte Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Dayanıklı ve duyarlı genotiplerde farklı büyüme düzenleyici içeriklerine sahip ortamlarda kallus oluşumuna ilişkin veriler

Genotip	Oluşan Kallusun Niteliği	Kallus Oluşumu (%)				Kontrol
		2,4-D (mg/l)		2,4-D + Kinetin (mg/l)		
		0.5	1.0	0.5 + 0.1	1.0 + 0.1	
Long Purple	1.sınıf	0	0	31	26	0
	2.sınıf	30	15	45	18	0
	3.sınıf	40	60	20	45	20
	Kallus Yok	30	25	4	11	80
S.sis.	1.sınıf	0	0	20	0	0
	2.sınıf	40	0	50	40	40
	3.sınıf	20	60	20	40	50
	Kallus Yok	40	40	10	20	10

Long Purple çeşidinde, 0.5 mg/l 2,4-D ilave edilmiş besin ortamlarında hiç kallus oluşturmeyen eksplant oranı yüksek iken, 2,4-D dozu 1.0 mg/l'ye çıkartıldığında bu oran azalmış ve kaliteli kallus gelişimi olumsuz yönde etkilenmiştir. 0.5 mg/l 2,4-D içeren besin ortamına 0.1 mg/l kinetin ilavesi, hemen hemen tüm eksplantlar üzerinde kallus oluşumunu sağladığı gibi, 1.sınıf kallus gelişimini de olumlu yönde etkilemiştir (Şekil 1g). Bu çeşitte kontrol ortamlara dikilen eksplantların %80'inde kallus oluşumu gerçekleşmediği gibi, kallus meydana getiren doku parçalarında aynı zamanda adventif sürgün oluşumu gözlenmiştir.

*S. sisymbriifolium*'da da 2,4-D'nin tek başına besin ortamlarına ilave edilmesi istenen nitelikte kallus elde edilmesini sağlayamamıştır. 0.5 mg/l 2,4-D içeren ortamlara 0.1 mg/l kinetin ilave edildiğinde 1.sınıf kallus oluşum oranı %0'dan %20'ye çıkmıştır. Alt kültürlerle alınarak kallus çoğaltmasında kullanılabilecek 2.sınıf kallus oranları da dikkate alınınca en iyi durumda bulunan büyüme düzenleyici kombinasyonu '0.5 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l Kinetin' olmuştur (Şekil 1h). Kontrol ortamlarına dikilen eksplantlarda diğer genotipin eksplantlarına göre daha fazla kallus oluşumu gerçekleşmiştir. Fakat bu türün eksplantlarında da adventif sürgün oluşumu gözlenmiştir.

#### Elisitör uygulamalarının fitoaleksinin oluşumuna etkisi

**Long purple çeşidinde fitoaleksinin oluşumu:** *V. dahliae* elisitörü ile 24, 48, 72 saat sürelerle uyarılan Long Purple çeşidi kallus kültürlerinde GLC'de yapılan fitoaleksinin analizleri sonucunda elde edilen bulgular, kallus dokusunda sadece 'solavetivon' fitoaleksininin biriktiğini ortaya koymuştur. Uyarıcı dozları ve uyarı sürelerine bağlı

olarak değişen miktarlarda ölçülen solavetivon'a ait değerlerin istatistiksel analizleri yapılmıştır. Tesadüf parsellerinde 2 faktörlü deneme desenine göre değerlendirilen varyans analiz sonuçları, *V. dahliae* dozu ile uyarı süresinin karşılıklı bir etkileşim içerisinde olduğunu ve kallus dokusunda biriken solavetivon miktarı üzerinde bu iki faktörün birlikte etki yaptığını göstermiştir. *V. dahliae* dozlarının kendi aralarında ve uyarı sürelerinin de kendi aralarında sahip oldukları farklılıklar istatistiksel anlamda %1 hata sınırları içerisinde önemli görünmekle birlikte, bu iki faktör arasındaki etkileşim de aynı hata sınırları içerisinde önemli bulunmuştur. Elde edilen ortalama değerler, standart hataları ile birlikte Çizelge 2'de; bu değerlere göre hazırlanan grafik ise Şekil 2'de verilmiştir. Çizelgede kullanılan harflendirmeler, etkileşim olmasına rağmen, saat uygulamalarının her birinde dozlarla bağlı olarak ortaya çıkan farklılığın görülebilmesi için saat bazında grup içinde yapılmıştır.

*V.dahliae*'nin tüm dozları, kallus dokusunda solavetivon birikimi üzerinde kontrole göre olumlu etkiye sahip olmuştur. Saf su ilave edilen kontrol örneklerinde solavetivon veya çalışmaya dahil olan başka bir fitoaleksinin oluşumu meydana gelmemiştir. *V. dahliae* dozundaki artış, uyarı süresindeki artışa bağlı olarak kallus kültürlerinde solavetivon miktarının da artmasına olanak tanımıştır. En yüksek solavetivon birikimi, 2.0 ml *V.dahliae* spor süspansiyonu uygulanan kültürlerde 72 saat sonra meydana gelmiştir (126.67±1.29 µg/g Taze ağırlık (TA)). Tüm dozlarda, uyarı sürelerinin 24 veya 48 saat olması solavetivon miktarı üzerinde farklılık yaratacak bir etkiye bulunmamış, fakat sürenin 72 saate çıkması ile madde birikimi tüm dozlarda önemli düzeyde artmıştır.

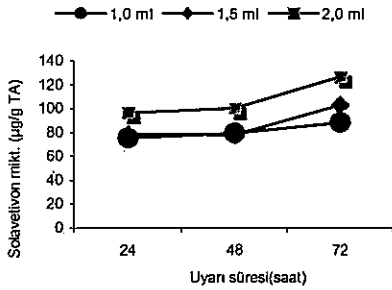
*V.dahliae* uyarı dozundaki artışa bağlı olarak uyarı sürelerinin etkinliğinin istatistiki olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 24 saat uyarı süresinde 1.0 ve 1.5 ml uygulama dozlarında oluşan solavetivon miktarları ( $75.00 \pm 0.75$  ve  $78.33 \pm 0.75$   $\mu\text{g/g TA}$ ) arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önemli bulunmamış; fakat 2.0 ml dozu  $96.67 \pm 0.75$   $\mu\text{g/g TA}$  değeriyle bunlardan ayrılmıştır. Elisitör uygulamasından 48 saat sonra 1.0 ve 1.5 ml dozunda uygulanan *V.dahliae* uyarıcısı, benzer

miktarlarda solavetivon birikimi sağladığı halde ( $79.17 \pm 0.53$  ve  $77.6 \pm 0.02$   $\mu\text{g/g TA}$ ), bu dozun 2.0 ml'ye çıkmasıyla madde birikimi de  $100.00 \pm 1.05$   $\mu\text{g/g}$ 'a ulaşmıştır. 72 saatlik uyarı süresinde dozların etkinliği daha belirgin olarak ortaya çıkmış; 1.0 ml'lik uygulamada  $88.33 \pm 0.75$   $\mu\text{g/g TA}$  solavetivon oluşurken bu değer 1.5 ml'de  $102.50 \pm 1.18$   $\mu\text{g/g TA}$ , 2.0 ml'de ise  $126.67 \pm 1.29$   $\mu\text{g/g TA}$  olmuştur.

Çizelge 2. Uyarı süresinin, *V.dahliae* dozuna bağlı olarak solavetivon birikimi üzerine etkisi ( $\mu\text{g/g TA}$ ).

Uyarı süresi (saat)	<i>V.dahliae</i> dozu (ml)	Solavetivon miktarı ( $\mu\text{g/gTA}$ )
24	1	$75.00 \pm 0.75$ B
	1.5	$78.33 \pm 0.75$ B
	2.0	$96.67 \pm 0.75$ A
48	1	$79.17 \pm 0.53$ b
	1.5	$77.60 \pm 0.02$ b
	2.0	$100.00 \pm 1.05$ a
72	1	$88.33 \pm 0.75$ c
	1.5	$102.50 \pm 1.18$ b
	2.0	$126.67 \pm 1.29$ a

( $P < 0.01$ ) %1 hata sınırları içinde Duncan testine göre fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.



Şekil 2. *V.dahliae* ile uyarılan kallus kültürlerinde uyarı süresi ve uyarı dozunun solavetivon birikimi üzerine etkisi

### *S.sisymbriifolium* türünde fitoaleksinin oluşumu:

*S.sisymbriifolium* türüne ait kalluslara *V. dahliae* elisitörünün 24, 48, 72 saat sürelerle uygulanması sonucunda, kallus dokusunda sadece 'solavetivon' fitoaleksininin biriktiği belirlenmiştir. Bu kültürde ilk 24 ve 48 saatte herhangi bir madde birikimi ortaya çıkmamış, ölçülebilen solavetivon madde miktarları 72 saat uyarı süresinden sonra elde edilebilmiştir. Tesadüf parsellerinde tek faktörlü deneme desenerine göre değerlendirilen varyans analiz sonuçları, 72 saat uyarı süresi sonunda oluşan solavetivon miktarı üzerinde etkili tek faktör olan *V. dahliae* dozlarının kendi aralarında sahip oldukları farklılıkların istatistiksel anlamda %1 hata sınırları içerisinde önemli olduğunu göstermiştir. Elde edilen sayısal değerlerin ortalamaları, standart hataları ile birlikte Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. *V.dahliae* uyarı dozlarının 72 saatlik uyarı süresi sonunda solavetivon birikimi üzerine etkisi ( $\mu\text{g/g TA}$ ).

Uyarı süresi (saat)	<i>V.dahliae</i> dozu (ml)	Solavetivon miktarı ( $\mu\text{g/mg TA}$ )
72	1.0	$68.34 \pm 1.29$ C
	1.5	$107.50 \pm 0.91$ B
	2.0	$167.17 \pm 2.04$ A

( $P < 0.01$ ) %1 hata sınırları içinde Duncan testine göre fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

1.0, 1.5 ve 2.0 ml *V.dahliae* ile uyarılan kültürlerde dozdaki artışa bağlı olarak, 72 saat sonunda dokularda biriken solavetivon miktarında da artış gerçekleşmiş olup dozlar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar meydana gelmiştir. Buna göre en yüksek solavetivon birikimi 2.0 ml uyarı dozunda ( $167.17 \pm 2.04$   $\mu\text{g/g TA}$ ) gerçekleşirken, bunu 1.5 ml uyarı dozu izlemiştir ( $107.50 \pm 0.91$   $\mu\text{g/g TA}$ ); en düşük solavetivon birikimi ise 1.0 ml uyarı dozunda ( $68.34 \pm 1.29$   $\mu\text{g/g TA}$ ) belirlenmiştir.

### Tartışma ve Sonuç

Ülkemizde uzun yıllardan beri patlıcan yetiştirilen alanlarda en fazla karşılaşılan fungal hastalıklardan birisi *Verticillium solgunluğudur*. Bu hastalığa karşı etkin bir mücadele yönteminin bulunmaması, özellikle düşük toprak sıcaklığı veya toprağın kötü yapılı olması koşullarında önemli ürün kayıplarına neden olabilmektedir. *V.dahliae* etmeninin izolatını temin etmek amacıyla Antalya ve

çevresindeki patlıcan seralarında görülen ve solgunluk belirtilerine sahip patlıcan bitkilerinin kökboğazı kısımlarından yapılan izolasyonlar, beklenenden farklı bir başka gerçeği daha ortaya çıkarmıştır. Bu da solgunluk belirtisi görülen ve inokulasyon için toplanan patlıcanlardan bir kısmında *Fusarium oxysporum* fungusunun gelişmiş olmasıdır. Ülkemizde patlıcanda solgunluk yapan en yaygın fungal hastalık etmeninin *V.dahliae* olduğu yönündeki düşüncelerimiz ile tam olarak uyuşmayan bu durum, patlıcanda hastalıklara dayanıklılık ıslahı konusunda yapılacak çalışmalarda dikkate alınması gereken önemli bir nokta olarak dikkati çekmiştir.

Hasta bitkilerden elde edilerek geliştirilen *V.dahliae* izolatının yapay bulaştırma yoluyla hastalık oluşturabilme etkinliğini belirlemek amacıyla patojenisite testi yapılmıştır. Bunun için hastalığa dayanıklı olduğu çeşitli kaynaklarda ifade edilen *Solanum sisymbriifolium* yabancı patlıcanı ile

*Verticillium* solgunluğu hastalığına karşı duyarlı kültür çeşitlerinden biri olan Long Purple patlıcan çeşidine ait fidelere fungus bulaştırılmış ve bitkilerde hastalık belirtilerinin çıkıp çıkmadığına ve bunun oranına bakılmıştır. Patojenisite testlerinin sonunda, fungusun fungusun Long Purple çeşidinde hastalığın belirgin bir şekilde ortaya çıktığı ve neden olduğu hastalık şiddetinin %60.7 olduğu bulunmuş buna karşın, dayanıklı türde inokülasyon yapılan bitkilerde hiçbir hastalık belirtisi ortaya çıkmamıştır. Böylece yabancı tür olarak denemelerde yer alan *S. sisymbriifolium*'un *V.dahliae* fungal etmenine karşı dayanıklı olduğu bizim koşullarımızda da doğrulanmıştır. Bu bulgular, literatür bilgileriyle (Kalloo, 1993; Bletsos ve ark., 2004) tamamen uyumludur.

Long Purple patlıcan çeşidine ait hipokotil parçalarından büyüme düzenleyici içermeyen kontrol ortamlarında %20 düzeyinde ve hafif kallus oluşumu kaydedilmiş, eksplantların üzerinde adventif sürgün oluşumu gözlenmiştir. Kallus oluşumu için besin ortamlarına oksin ve özellikle de 2,4-D ilave edilmesi gerektiği konusunda önceden başka türlerde elde edilen sonuçlar bu türde de ortaya çıkmıştır (Pierik, 1989). Ortamlara 0.5 mg/l 2,4-D ilave edilmesiyle kallus oluşumu başlamış, 2,4-D dozu 1.0 mg/l'ye çıkartıldığında ise kallus oluşturan eksplant oranı artmıştır. Ancak 1.0 mg/l 2,4-D içeren ortamlarda oluşan kallusların dağılgan olmayıp kompakt bir yapıda oluştukları gözlenmiştir. 0.5 mg/l 2,4-D içeren besin ortamına 0.1 mg/l kinetin ilavesi, hemen hemen tüm eksplantlar üzerinde kallus oluşumunu sağladığı gibi, 1.sınıf kallus gelişimini de olumlu yönde etkilemiştir. Bu durum, aynı familyanın bir başka üyesi olan biber türüne ait üç farklı çeşitte (PM 217, PM 702 ve 11 B 14) yapılan önceki çalışma ile paralellik göstermektedir. Biberde kallus süspansiyon kültürü kurmak amacıyla en uygun nitelikteki kallus, 1.0 mg/l 2,4-D x 0.1 mg/l kinetin ve 1.0 mg/l 2,4-D x 0.5 mg/l kinetin kombinasyonlarından elde edilmiştir (Erdem, 1998).

*S.sisymbriifolium* türüne ait tohumlar, GA<sub>3</sub> çözeltisinde bekletme ya da Magenta kutularındaki steril vermikülit içine ekim yapılmasına rağmen çimlenmemiştir. İklim odasında vermikülit doldurulan kasalara ekilen tohumların tamamı çimlendiği halde *in vitro* koşullarda çimlenmenin olmayışı, kallus kültürlerinin geniş bir gen havuzundaki genotiplerin herhangi bir özellik bakımından taranarak seçilmesinde *in vitro* yöntemlerin kullanımını sınırlandırıcı bir durum olarak görülmüştür. Genotipler arasında ortaya çıkan bu önemli farklılık, genotip etkisinin her türlü olayda olduğu gibi doku kültüründeki gelişme üzerinde de çok büyük bir etkiye sahibi olduğunu burada bir kez daha ortaya çıkarmıştır. Ancak karşılaşılan olumsuzluklara rağmen *S.sisymbriifolium* türünde de kallus elde edilebilmiştir. *S.sisymbriifolium*, Long Purple çeşidinde olduğu gibi en iyi kallus oluşumunu 0.5 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l kinetin kombinasyonu ilave edilen MS ortamında oluşturmuştur. MS ortamının birçok bitkinin doku kültürlerinde çeşitli amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir. Nitekim biberde hücre süspansiyon kültürlerinin kurulmasında MS ortamının kullanıldığı ve aralarında kapsidiolün de bulunduğu bazı ikincil ürünlerin elde edildiğini bildiren yayınlar bulunmaktadır (Hoshino ve ark., 1994; Ellialtıoğlu ve ark., 1999).

Patlıcan- kallus kültürlerinde *V.dahliae* biyotik elisitörünün uygulanması sonucunda solavetivon fitoaleksini birikimi ortaya çıkmıştır. *V.dahliae* elisitörünün uygulama dozları ile uyarı süresi faktörleri arasında interaksyonun önemli çıkması nedeniyle tüm uygulamaları bir arada değerlendirmek mümkün olamamış, uyarı süreleri sabit tutularak dozların etkileri kendi içlerinde karşılaştırılmıştır. Ancak buna rağmen genel bir değerlendirme yapıldığında *V.dahliae* dozunun artmasının solavetivon birikimi üzerinde olumlu etki yaptığını söylemek mümkündür. En yüksek solavetivon miktarı "2.0 ml *V.dahliae* dozu x 72 saat uyarı süresi" uygulamasından elde edildiği belirlenmiştir. Denemede kullanılan doz ve süreler çerçevesinde yüksek sınır değerleri en fazla madde birikimini sağlamıştır. Ancak sınırların genişletilmesiyle, diğer bir deyişle doz ve sürelerde artış yapılması halinde madde birikimlerinin artması da olası görülmüştür.

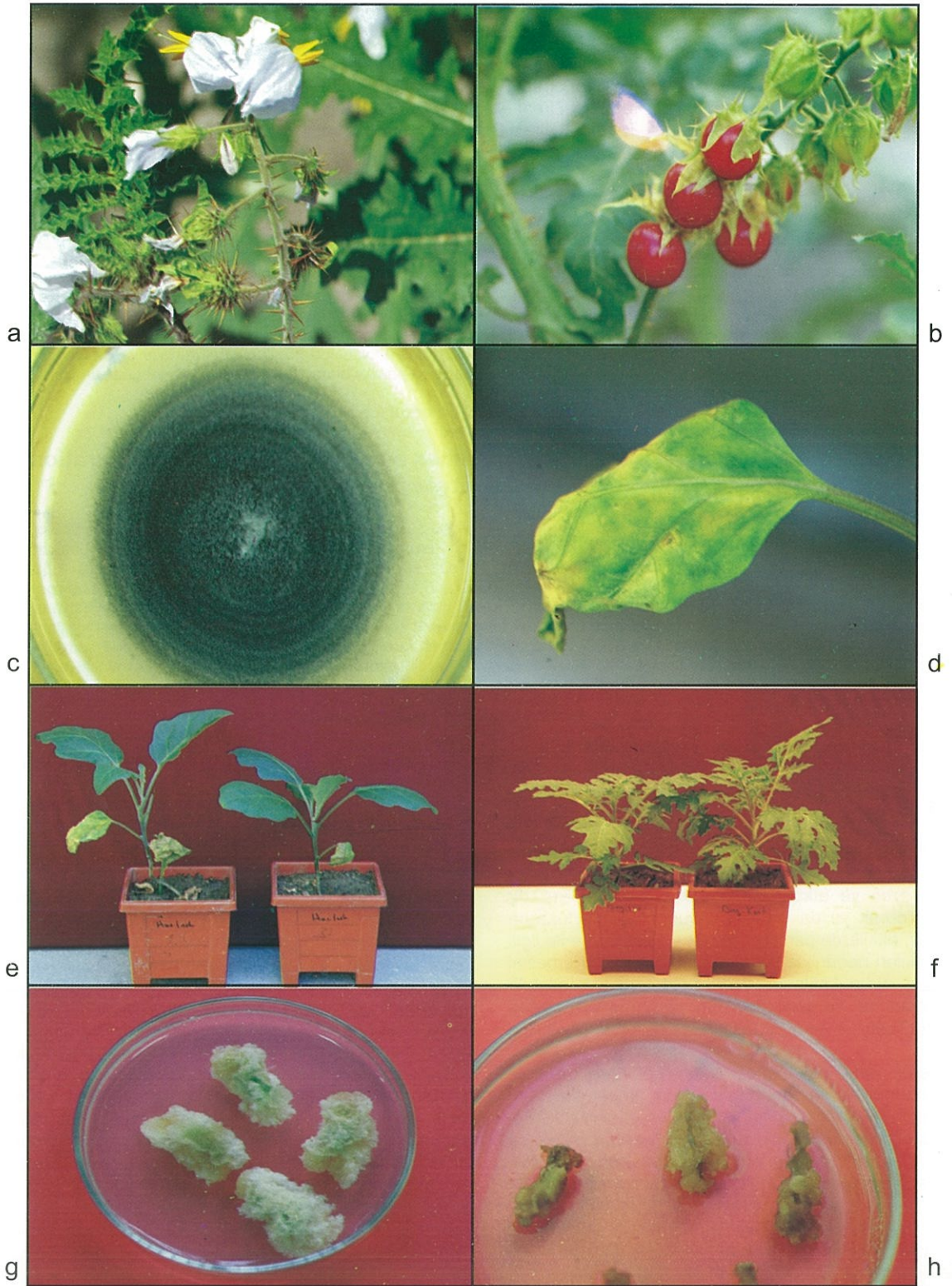
Yabancı türün kallusları ile uygulamalar yapıldığında, sadece bazı doz ve sürelerde madde birikimi meydana gelmiş ve bu madde yine sadece solavetivon olmuştur. *V. dahliae* elisitörü kullanıldığında sadece 72 saat süreyle uyarı yapılan kültürlerde solavetivon birikmiştir. Doz artışına paralel olarak fitoaleksinin miktarı da artmış ve 2.0 ml *V. dahliae* elisitörü kullanılan uygulamada elde edilen 167.17±2.04 µg/g TA'lık değer, hastalığa duyarlı Long Purple çeşidinde aynı koşullarda elde edilenden (126.67±1.29 µg/g TA) fazla olmuştur. Yabancı türde, duyarlı çeşide göre daha fazla bulunan solavetivon miktarı, dayanıklılık mekanizmasında fitoaleksinin etkili olabileceğini işaret etmiştir. Asma (Sbaghi ve ark.,1995), meşe (Duchense ve ark., 1994), domates (Kroon ve ark., 1991), pamuk (Davis ve ark., 1992) gibi değişik bitki türlerinde sentezlenen fitoaleksinin miktarının yüksek olmasının özellikle fungal hastalık etmenlerine karşı genetik dayanıklılığın temel mekanizması olduğu yönünde kaynaklar bulunmaktadır. Patlıcan fitoaleksini ile yapılmış çok az sayıda dünya literatüründeki kaynaklar incelendiğinde herhangi bir hastalığa dayanıklılık ile bağlantılı kurulduğuna rastlanmamış olmakla birlikte, aynı familyanın üyesi olan biberde kapsidiol fitoaleksininin *P. capsici* Leon. fungusunun özellikle misel büyümesi ve enzimleri üzerine etkili olduğu kanıtlanmıştır (Molot ve ark.,1980a; Molot ve ark., 1980b). Ancak bu maddenin etkisinin fungus gelişimini etkilemede tek başına yetersiz kaldığı; biber kökboğazı yanıklığı hastalığına duyarlı ve dayanıklı çeşitlerde kapsidiolün tek bir anahtar madde olmadığı da belirlenmiştir (Molot ve ark., 1981; Molot ve ark., 1985). Aynı familyada yer alan patatest *Gibberella pulicaris* (Desjardins ve Gardner, 1991) ve *Globodera rostochiensis*'e (Desjardins ve ark., 1997) dayanıklılık ile fitoaleksinin oluşturma kapasitesi arasındaki ilişkinin incelendiği araştırmalarda elde edilen sonuçlar pozitif yönde bir ilişkiyi kanıtlamaktadır. Patlıcanda yürütülen bu araştırmada ise, "*V.dahliae* – fitoaleksinin birikimi" arasında pozitif bir ilişki bulunduğu yönünde bir izlenim edinilmiş olmakla birlikte bunun *in vivo* koşullarda tam bitkiyle yapılacak deneyler yoluyla kanıtlanması gerekli görülmüştür.

## Kaynaklar

- Ahmed, E.S., A.A. El-Essaway, M.E. Abou El-Hawa, S.M. Ezzat, M.B. Metwaly, 1997. Biotic and abiotic initiators for rishitin formation and accumulation in tomato. *Folia Microbiology*, 42: 468-472.
- Anonymous, 2005. FAO (Food and Agriculture Organization), *FAO Statistics Database*.
- Bletsos, F.A., N.I. Staropoulos, P.P. Papadopoulou, P.D. Antonopoulou, 2004. Evaluation of eggplant (*Solanum melongena* L.) germplasm for resistance to *Verticillium* wilt. *Advances in Horticultural Science*, 18 (1): 33-37.
- Chappell, J., R. Nable, P. Fleming, A.R. Andersen, H.R. Burton, 1987. Accumulation of capsidiol in tobacco cell cultures treated with fungal elicitor. *Phytochemistry*, 26: 2259-2260.
- Davis, D. A. D. Tsao, J. H. Seo, A. Emery, P.S. Low, P. Heinstejn, 1992. Enhancement of phytoalexin accumulation in culture plant cells by oxalate. *Phytochemistry*, 31(5): 1603-1607.
- Desjardins, A. E, H. W. Gardner, 1991. Virulence of *Gibberella pulicaris* on potato tubers and its relationship to a gene for rishitin metabolism. *Phytopathology*, 81: 429-435.
- Desjardins, A. E., S.P. McCormick, D.L. Corsini, 1995. Diversity of sesquiterpenes in 46 potato cultivars and breeding selections. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 2267-2272.
- Desjardins, A. E., S.P. McCormick, R.L. Plaisted, B.B. Brodie, 1997. Association between solavetivone production and resistance to *Globodera rostochiensis* in potato. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45: 2322-2326.
- Duchense, L. C., R. S. Jeng, M. Hubbes, M. B. Sticklen, 1994. Accumulation of mansonones E and F in elm callus cultures inoculated with *Ophiostoma ulmi*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16: 118-121.
- Ellialtıoğlu, Ş., A. S. Üstün, Ü. Mehmetoğlu, 1999. Biberde (*Capsicum annuum* L.) Kökboğazi yanıklığı hastalığına (*Phytophthora capsici* Leon.) dayanıklılık ile *in vitro* koşullarda kallus süspansiyon kültürlerinde kapsidiol oluşumu arasındaki ilişkiler üzerinde bir araştırma. *Biyoteknoloji (Kökem) Dergisi*, 22(2): 61-62.
- Ellialtıoğlu, Ş., A. S. Üstün, Ü. Mehmetoğlu, 2001. A research on the relationships between the resistance to root rot and capsidiol accumulation in *in vitro* callus suspension cultures of peppers. *Proceedings of XIth Meetings on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant*, 2001. Antalya, Turkey.
- Erdem, N. D., 1998. Biberde (*Capsicum annuum* L.) Farklı Eksplantlardan Elde Edilen Kallus Süspansiyon Kültürlerinde Kapsidiol Oluşumu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi (basılmamış), Ankara, 72s.
- Gardner, H. W., A. E. Desjardins, S. P. McCormick, D. Weisleder, 1994. Detoxification of the potato phytoalexin rishitin by *Gibberella pulicaris*. *Phytochemistry*, 37: 1001-1005.
- Halhoul, M. N., I. Kleinberg, 1972. Differential determination of Glucose and Fructose yielding substances with Anthrone. *Anal. Biochem.*, 50: 337-343.
- Hoshino, T., M. Chida, T. Yamaura, Y. Yoshizawa, J. Mizutani, 1994. Phytoalexin induction in green pepper cell cultures treated with arachidonic acid. *Phytochemistry*, 36: 1417-1419.
- Imoto, S., Y. Ohta, 1988. Elicitation of diacetylenic compounds in suspension cultured cells of eggplant. *Plant Physiology*, 86: 176-181.
- Kallo, G., 1993. Eggplant (*Solanum melongena* L.) Genetic Improvement of Vegetable Crops. Pergamon Press, 587-606.
- Koike, M., J. Saito, T. Shimada, 1992. Alfalfa – *Verticillium albo-atrum* interactions: V. Phytoalexin accumulation in calli in response to the cytotoxic components of fungal culture filtrates. *Research Bulletin of Obihiro University, Natural Science*, 18: 35-39.
- Kroon, B. A. M., R.J. Scheffer, D. M. Elgersma, 1991. Interactions between *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and callus of susceptible and resistant tomato lines fungal growth and phytoalexin accumulation. *Journal of Phytopathology*, 132(1): 69-70.
- Mehmetoğlu, U., R. W. Curtis, 1997. Effects of abiotic inducers on sesquiterpene synthesis in hair root and cell-suspension cultures of *Hyoscyamus muticus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 67: 71-77.
- Melouk, H. A., 1992. Methods for Research on Soil-Borne Phytopathogenic Fungi. (L.L. Singleton, J.D. Mihal, C.M. Rush eds. Aps St. Paul) *Verticillium*. 175 -177 p.
- Melitskii, L. V., O.L. Ozeretskovskaya, N.S. Vul'fson, L.I. Chalova, 1971. Chemical nature of lubimin a new potato phytoalexin. *Doklady Akademia Nauk., (SSSR)*, 200: 1470-1472.
- Molot, P. M., P. Mas, A. L. Hilario, 1980 a. La resistance du piment (*Capsicum annuum*) a *Phytophthora capsici* VI. pouvoir inhibiteur du capsidiol sur la croissance et l'activite'pectinolytique d'isolats d'agressivite variable. *Ann. Phytopathology*, 12(1): 1-9.
- Molot, P. M., P. Mas, M. Conus, H. Ferriere, 1980 b. La resistance du Piment'a *Phytophthora capsici* VII. Protection des organes foliaires après mise en survie sur un filtrat de culture du parasite caracterisation des conditions d'expression du phenomene. *Ann. Phytopat.*, 12(2): 95-107.
- Molot, P. M., P. Mas, M. Conus, H. Ferriere, 1981. Relations between capsidiol concentration speed of fungal invasion and level of induced resistance in cultivars of pepper (*Capsicum annuum* L.) susceptible or resistance to *Phytophthora capsici*. *Physiological Plant Pathology*, 18: 379-389.
- Molot, P.M., P. Mas, 1985. Evidence for induction of resistance in pepper and tomato after absorption by the roots of a watersoluble elicitor fraction. *Phytopathology Zeitschrift*, 112(4):315-321.
- Murashige, T., F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- Nagaoka, T., K. Goto, A. Watanabe, Y. Sakata, T. Yoshihara, 2001. Sesquiterpenoids in root exudates of *Solanum aethiopicum*. *Zeitschrift für Naturforschung. Section C, Biosciences*, 56 : 707-713.
- Pierik, R. L. M., 1989. *In vitro* Culture of Higher Plants. Mart. Nijhoff Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster, 344 pp.
- Ramakrishna, S. U., G. R. Reddy, W.R. Curtis, A. Humphrey, 1993. Production of solavetivone by immobilized cells of *Hyoscyamus muticus*. *Biotechnology Letters*, 15: 301-308.
- Sbaghi, M., P. Jeandet, B. Faiure, R. Bessis, J.C. Fournioux, 1995. Developments of methods using phytoalexin (resveratrol) assessment as a selection criterion to screen grapevine *in vitro* cultures for resistance to grey mould (*Botrytis cinerea*). *Euphytica*, 86: 41-47.

- Stoessl, A., C. H. Unwin, E.W.B. Ward, 1972. Postinfectious inhibitors from plants. I. Capsidiol an antifungal compound from *Capsicum frutescens*. Zeitschrift für Phytopathologie, 74: 141-152.
- Stoessl, A., J. B. Stothers, E. W. B. Ward, 1975. The structure of some stress metabolites from *Solanum melongena*. Canadian Journal of Chemistry, 53: 3351-3358.
- Tomişyama, K., T. Sakuma, N. Ishizaka, N. Sato, N. Katsui, M. Takasugi, T. Masamune, 1968. A new antifungal substance isolated from resistant potato tuber tissue infected by pathogens. Phytopathology, 58: 115-116.
- Tsrör, L., S. Hazanovsky, S. Mordechi-Lebiush, S. Sivan, 2001. Aggressiveness of *Verticillium dahliae* isolates from different vegetative compatibility groups to potato and tomato. Plant Pathology, 50: 477-482.
- Üstün, A. S., 1990. Biberde Kökboğazı Yanıklığı (*Phytophthora capsici* Leon.) Hastalığına Dayanıklılığın Nedenlerinin Fizyolojik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi (basılmamış), Ankara, 121s.
- Varns, J. L., J. Kuc, E. B. Williams, 1971. Terpenoid accumulation as a biochemical response of the potato tuber to *Phytophthora infestans*. Phytopathology, 61: 174-177.
- Ward, E. W. B., C. H. Unwin, A. Stoessl, 1975. Sesquiterpenoid phytoalexins from fruits of eggplants. Phytopathology, 65: 859-863.
- Yokose, T., K. Katamoto, S. Park, H. Matsuura, T. Yoshihara, 2004. Anti-fungal sesquiterpenoid from the root exudate of *Solanum abutiloides*. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 68: 2640-2642.





Şekil 1. a ve b. *Solanum sisymbriifolium* türünün çiçekleri, dikenli gövdesi ve dilimli yapraklarından bir görünüş ile olgunlaşmamış ve olgunlaşmış meyveleri; c. *Verticillium dahliae* fungusunun besi yerinde gelişen hif ve sporlarının görünümü; d. *V. dahliae* fungusu inoküle edilen Long Purple patlıcan çeşidinin yapraklarındaki hastalık belirtileri; e. Long Purple patlıcan çeşidinde ve f. *S. sisymbriifolium* türünde inokülasyon sonrasında ait görüntüler; g. '0.5 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l Kinetin' içeren besin ortamında Long Purple patlıcan çeşidinde ve h. *S. sisymbriifolium* yabani patlıcan türüne ait hipokotiller üzerinde oluşan kalluslar

## Fasulye Genotiplerinin (*Phaseolous vulgaris* L.) Artan Tuz Konsantrasyonu ve Farklı Zamanlardaki Gelişim Performansları

<sup>1</sup>Fikret Yaşar, <sup>2</sup>Şebnem Ellialtıoğlu, <sup>3</sup>Özlem Gürbüz Kılıç, <sup>1</sup>Özlem Uzal

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Van

<sup>2</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Van

<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Dışkapı-Ankara

\*fyasar@yyu.edu.tr

**Özet :** Çalışmada, Van gölü havzasında önceki yıllarda yapılan çalışmalar sonucu belirlenen fasulye populasyonları içinden üstün tip oldukları ve seleksiyonla seçilmiş GB 69, GB 64, GB 78, GS 57, GS 26, ES 18, ES 5, 4F 89 Fransız, Ferasetisiz, Kırkgünlük ve Sazova 1946 ve samsun 94 materyal olarak kullanılmıştır. Bu çalışmanın amacı, fasulye çeşit ve genotiplerinin kök, ve yeşil aksam ağırlığının artan dozlarda (0, 50 ve 100 mM NaCl) uygulanan tuz stresi altında farklı zamanlarda (0., 7. ve 14. gün) kök ve yeşil aksamlarının gelişim performanslarını belirlemektir. Sonuç olarak, tuz stresi altında kalan bitkilerde genotipik özellikler çerçevesinde farklı tepkilerin oluştuğu, bazı genotiplerin tuzlu koşullardan daha az düzeyde etkilendiği bazıların ise tepkilerinin fazla olduğu gözlenirken, zamana ve tuz dozuna bağlı olarak, GS57, ES18, GB64 gibi tuza-tolerant olan genotiplerin kök ve yeşil aksam gelişimlerinde dalgalanmaların olduğu saptanmıştır. Tuza-duyarlı ve orta düzeyde duyarlı oldukları görülen diğer genotip ve çeşitler ise daha stabil bir durum sergilerken, genelde artan tuz dozları ve zamana paralel olarak tuzdan etkilendikleri gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Fasulye, (*Phaseolous vulgaris* L.), genotip, tuz dozu, tuz stresi, zaman

### Growth Performance Dependent on Different Times and Increased Salt Concentration for Bean Genotypes

**Abstract:** In this study, we used a materials as in the previous studies which is required as a result of best type of pea population GB 69, GB 78, GS 57, ES 18, ES 5, 4F 89 French Ferasetisiz, 1946 Sazova and Kırkgünlük and Samsun 94. This study aim is determining implementation of under salt stress of different time (0.7 and 14. days) and development performance of salt stress increase of dose (0, 50 and 100 mM NaCl) for pea variety and genotypes root and green part of plant. As a result, we acquired different type of affect under salt stress of plant genotypes characteristics framework and determined some of wave development depends of time and salt dose in the salt tolerant genotypes root and green plant part like GS57, ES18, GB64, which is effected some of genotypes less and some of them more under salt stress conditions. The other of genotypes and varieties of sensitive to the salt or mid level of sensitive to the salt are showed us more stable situation, generally increase of salt dose and time parallel for salt effects.

**Key Words:** , Bean, (*Phaseolous vulgaris* L.), genotype, salt doses, salt stress, time

#### Giriş

Tuzluluk, gerek dünyada gerekse ülkemizde toprak ve bitki verimliliğini sınırlandırarak bitkisel üretimi olumsuz yönde etkileyen ve etkisi gün geçtikçe artan önemli bir sorundur. Toprak ya da sulama suyunda yüksek oranda bulunan tuz, bitkilerde ozmotik, toksik ve beslenme ile ilgili olumsuz etkileri nedeniyle bitkinin büyümesini, gelişmesini sınırlamakta, ürün kalitesini düşürmekte ve kullanılabilir tarım alanları ile su kaynaklarının tükenmesine neden olmaktadır (Tolay ve ark., 2006).

Bitkilerde farklı belirtilerle kendini gösteren tuzluluk, bitkinin morfolojisi ve anatomisini de kapsayan tüm metabolizmasını etkileyen bir faktördür (Levitt, 1980). Toprak çözeltisindeki tuz konsantrasyonu arttığında ve su potansiyeli azaldığında, bitki hücrelerinin ozmotik potansiyeli düşer ve bitki hücrelerinin bölünmesi ya da uzaması birden yavaşlar. Bu stres koşulları altında genellikle stomalar kapanır ve sonuç olarak fotosentez azalır. Stres koşullarının devam etmesi halinde bitki büyümesi tamamen durabilir (Ashraf, 1994). Bitki tür ve çeşitleri arasında tuzluluğa gösterilen tepki bakımından farklılık bulunmakla birlikte, glikofit bitkilerin kök bölgesindeki tuzluluğun hafta veya ay düzeyindeki bir süreç boyunca artmasına karşı gösterilen ilk fenotipik yanıt, sürgün büyümesinde azalmadır. Bu bilgiye ek olarak tuzluluğa en fazla duyarlılık gösteren organların yapraklar olduğunu bildiren Munns ve Termaat, (1986)'ın açıklamalarından sonraki yıllarda yapılan diğer çalışmalar

sonucunda mısırdaki (Cramer ve ark., 1988) ve domateste (Snapp ve Shennan, 1992) kök büyümesi ve gelişmesinin de tuzluluktan benzer biçimde etkilendiği rapor edilmiştir. Tuz stresi, bitkinin ölümüne neden olabileceği gibi tolerans durumuna bağlı olarak büyümeyi engellemekte, kloroz ve nekrotik lekelerin oluşumuna yol açabilmekte, verim ve kalitede azalmalar gözlenmektedir (Hasegawa ve ark., 1986). Mer ve ark., (2000) da tuzun toksik etkisinin ilk önce yaşlı yapraklarda görülmeye başladığını, bu yaprakların uçlarından başlayıp yaprak ayasına ve sapına doğru ilerleyen kloroz şeklinde kendini gösterdiğini, daha sonra bu kısımların nekroze olduğunu belirtmektedir. Tuzlu koşullarda büyüyen bitkilerin büyüme hızı düşük olup bodur bir yapı sergilemekte, yapraklar ise genellikle küçük ve koyu yeşil renk göstermektedir. Tuz stresinde hücre büyümesi ve bölünmesindeki yavaşlamanın, sitokinin miktarının azalması sonucu ortaya çıktığı ileri sürülmektedir. Hormon dengesinde ortaya çıkan değişikliklerin tohum çimlenmesi üzerinde de etkide bulunduğu, azalan sitokinin sentezi sonucu çimlenme oranında azalma gözlemlendiği rapor edilmektedir (Mangal ve Lal, 1990; Awank ve ark., 1993). Tuzlu koşullarda çimlenmenin engellenmesi ve çimlenme yüzdesinin düşmesi, beklenen bir tepkidir (Demir ve Demir, 1992).

Tuzlu koşullarda yetişen bitkilerde genel olarak gözlenen farklılıklar arasında yaprak alanı ve sayılarında kök, gövde ve sürgün uzunluğunda; bitki yaş ve kuru ağırlıklarında ve klorofil miktarında azalma gözlenirken; verimde, meyve tat ve renklerinde bozulma

kaydedilmektedir. Bitki uzun süre tuz stresi altında kaldığında, yaşlı yapraklarda iyon toksisitesi ve su noksanlığı, genç yapraklarda ise karbonhidrat noksanlığı ve buna bağlı olarak fotosentezde azalmanın ortaya çıktığı kaydedilmektedir (Greenway ve Munns, 1980; Franco ve ark., 1993; Sivritepe, 1995; Tıprıdamaz ve Ellialtıoğlu, 1994; 1997, Yaşar, 2003). Güneş ve ark. (1996), tuz stresi uyguladıkları biber bitkilerinde tuzluluğun kuru madde ağırlığında azalmaya neden olduğunu, büyüme ve gelişmenin engellendiğini bildirmişlerdir.

Çalışmanın amacı, ülkemizin çeşitli bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan ve gen kaynağımız olan 12 farklı fasulye çeşidinin artan dozlarda uygulanan tuz stresi altında zamana bağlı olarak kök ve yeşil aksamlarının gelişim performanslarını belirlemektir.

### Materyal ve Yöntem

#### Materyal

Çalışmada, Van gölü havzasında önceki yıllarda yapılan çalışmalar sonucu belirlenen fasulye populasyonları içinden üstün tip oldukları belirlenen seleksiyonla seçilmiş GB 69, GB 64, GB 78, GS 57, GS 26, ES 18, ES 5, ve Eskişehir Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen 4F 89 Fransız, Ferasetsiz, Kırkgünlük ve Sazova 1946 standart çeşitleri ile Samsun iline adaptasyonu sağlanan Samsun 94 genotipi kullanılmıştır.

#### Yöntem

**Bitkilerin yetiştirilmesi:** Fasulye tohumları, perlit doldurulmuş 40x25x5 cm boyutlarındaki plastik çimlendirme kaplarına ekilerek, 16/8 saatlik aydınlık/karanlık foto periyotta, 25±2°C sıcaklık ve %70 neme sahip iklim odasına yerleştirilmiştir. İlk gerçek yaprakları görülmeye başlayan fidelerde sulama Hoagland besin çözeltisiyle gerçekleştirilmiş, perlit ortamında 2. gerçek yaprakları da oluşan fideler, su kültürüne alınmışlardır. Su kültürü için, Hoagland besin çözeltisi doldurulmuş 25x25x18 cm boyutlarındaki plastik küvetler kullanılmış, birer haftalık aralarla besin çözeltileri tazelenmiş, bu sırada küvetlerin yerleri de değiştirilerek ışıklandırma koşullarından tüm bitkilerin eşit biçimde yararlanmasına dikkat edilmiştir.

**Tuz uygulamaları:** Bir hafta süreyle su kültüründe büyütülerek, 3-4 gerçek yaprağa sahip oldukları dönemde fidelerde tuz uygulamasına geçilmiştir. Her genotipten üç yinelemeli 30'ar bitki olacak şekilde seçilen fidelere iki gün boyunca son konsantrasyon 100 mM olacak şekilde kademeli olarak 50 mM NaCl eklenmiştir. Her beş günde yinelenen çözeltilerin tazelenmesi aşamasında, tuz uygulamalarının aynı konsantrasyonda devamı sağlanmıştır.

**Bitkilerde yeşil aksam ve kök ağırlıklarının ölçümleri :** Stresin 0., 7. ve 14. günlerinde her genotipten 6'şar adet rastlantısal olarak seçilen bitkiler 1/10000'lik hassas dijital terazide tartılmış, yeşil aksam ve kök ağırlıkları (g) belirlenmiştir.

**Değerlendirmelerin yapılması:** Tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulan denemelerden elde edilen sayısal değerler, varyans analizine tabi tutulmuş ve uygulamalar arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemlilik derecesi ortaya konulmuştur. Bunun için Duncan çözümlü karşılaştırma testi yapılmış ve farklılık dereceleri, %0.5 düzeyinde harflendirme yoluyla gösterilmiştir. İstatistiksel analizler SAS Institute (1985) paket programından yararlanılarak yapılmıştır.

### Bulgular

**Yeşil aksam yaş ağırlık sonuçları :** Araştırma sonuçları, üç farklı zamanda ve artan dozlarda uygulanan tuz miktarları ele alınarak hazırlanan Çizelge 1 incelendiğinde şu bulgular dikkati çekmektedir.

Çizelge 1 incelendiğinde, uygulamanın başladığı gün yani 0. günde en düşük değer 1.342 g ile GB 69 çeşidinde gözlenmiş ve bu değer istatistiksel anlamda ES 18 (1.690 g), Kırkgünlük (1.526 g) Sazova 1946 (1,713g) ve 4F-89 Fransız (1,764 g) genotipleri ile aynı grupta yer almıştır. Genotipler arasında artan bir seyirle en yüksek değere (2.834 g) ile ES 5 genotipinde ulaşılmış, Ferasetsiz çeşidi de az bir farkla (2.827 g) ve aynı grupta belirlenmiştir. Tuz uygulamasının başladığı ilk konsantrasyon olan 50 mM NaCl uygulaması ile 7. gün sonunda GS 57 çeşidinde en yüksek veri (8.504 g) elde edilmiş, en düşük değeri 2.728 g ile Sazova 1946 çeşidi göstermiş ve son grupta yer almıştır. Tuz uygulanmayan kontrol grupları ile 50 mM NaCl uygulaması yapılan gruplar karşılaştırıldığında en yüksek artışın yine GS 57 çeşidinde bulunduğu gözlenmiş (6.102 g) ve yedinci günde 50 mM NaCl konsantrasyonunun anılan çeşit için önem kaydettiği saptanmıştır. Tuz yoğunluğunun 100 mM'e çıkarılmasıyla 7. günde en düşük değer sırasıyla (2.287 g) yine Sazova 1946 ve (2,291 g) ile ES18 çeşitlerinde gözlenmiş ve anılan çeşitler son grupta yer almıştır. En yüksek değer (6.371 g) yine tuza dayanıklı bir çeşit olan GB 64'de bulunduğu ve istatistiksel anlamda birinci grupta yer aldığı saptanmış, başlangıç gününe göre gözlenen en yüksek artış 3.905 g ile söz konusu çeşitte belirlenmiştir. 50 mM NaCl uygulamasıyla 14. günün sonunda en düşük değer Sazova 1946 (2.577 g) çeşidinde gözlenmiş ve 4F-89 Fransız (2.625 g) çeşidinin de birbirlerine yakın ve en düşük veriyi göstererek aynı grupta yer aldığı ve tuza hassasiyetlerinin eşit yönde olduğu izlenmiştir. Gözlenen en yüksek veri ise 10.721 g ile ES 5 çeşidinde saptanmış, yakın bir değer (10.885 g) gösteren GB 64 ve GS 57 (9.745 g) çeşidi benzer değerle aynı grupta yer almıştır. 100 mM NaCl uygulamasının 14. gün sonunda Sazova 1946 (2.577 g) ve 4F-89 Fransız (2.625 g) çeşitlerinin birbirlerine yakın ve en düşük veriyi göstererek aynı grupta yer aldığı ve tuza hassasiyetlerinin eşit yönde olduğu izlenmiştir.

GS 57 çeşidi 7. gün sonunda 50 mM NaCl (8.504 g), 14. günün sonunda 100 mM NaCl (9.424 g) uygulanması ile en yüksek değere ulaşmış ve istatistiksel anlamda birinci grubu oluşturmuştur.



Çizelge 1: Fasulye genotiplerinin farklı zamanda ve artan tuz konsantrasyonlarındaki yeşil aksam ağırlıkları (g) ve zamana göre değişimleri

Genotip	Bitki Yeşil Aksam Ağırlığı (g)								
	0. Gün		7.Gün			14.Gün			
	0 mM NaCl	50 mM NaCl	Değişim	100 mM NaCl	Değişim	50 mM NaCl	Değişim	100 mM NaCl	Değişim
G.Bodur 69	1.342 e*	3.369 de	2.027	2.975 ef	1.633	4.645 cd	3.303	4.255 de	2.912
Samsun 94	2.127 dc	4.366 b-d	2.239	2.976 ef	0.849	4.987 cd	2.86	4.813 d	2.686
Ferasetsiz	2.827 a	5.245 b	2.418	4.108 b-d	1.281	7.472 b	4.645	6.460 c	3.633
E.Sırık 18	1.690 e	3.828 e	2.138	2.291 f	0.601	7.793 b	6.103	7.421 b	5.730
Kırgünlük	1.526 e	3.439 de	1.913	2.932 ef	1.406	4.71 cd	3.184	3,945 e	2.419
4F-89	1.764 ed	4.172 b-d	2.408	2.932 ef	1.168	4.972 cd	3.208	2.625 f	0.860
Sazova 1946	1.713 ed	2.728 e	1.015	2.287 f	0.574	4.070 cd	2.357	2.577 f	0.864
G. Bodur 64	2.466 a-c	5.047 b	2.581	6.371 a	3.905	10.685 a	8.219	6,033 c	3.567
G.Bodur 78	2.246 b-c	3.333 de	1.087	4.721 bc	2.475	5.816 bc	3.570	5.739 c	3.493
GS 57	2.402 a-c	8.504 a	6.102	3.738 c-e	1.336	9.745 a	7.343	9.424 a	7.022
E.Sırık 5	2.834 a	4.723 bc	1.889	4.763 b	1.929	10.721 a	7.887	7,213 b	4.379
G.Sırık 26	2.628 ab	3.621 c-e	0.993	3.666 de	1.038	7.171 b	4.543	7.210 b	4.582

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (p<0.05)

Çizelge 2: Fasulye genotiplerinin farklı zamanda ve artan tuz konsantrasyonlarındaki kök ağırlıkları (g) ve zamana göre değişimleri

Genotip	Bitki Kök Ağırlığı (g)								
	0. Gün		7.Gün			14.Gün			
	0 mM NaCl	50 mM NaCl	Değişim	100 mM NaCl	Değişim	50 mM NaCl	Değişim	100 mM NaCl	Değişim
G.Bodur 69	0.695 ef*	2.292 b-d	1.597	1.766 c-e	1.071	2.381 d	1.686	2.703 de	2.008
Samsun 94	1.425 b	3.024 b	1.599	1.867 b-d	0.442	2.670 d	1.245	2.703 de	1.278
Ferasetsiz	1.429 b	2.642 bc	1.213	2.350 ab	0.921	2.920 d	1.491	3.320 c	1.891
E.Sırık 18	1.112 cd	1.774 cd	0.662	1.647 c-f	0.535	2.838 d	1.726	1.394 f	0.282
Kırgünlük	0.905 de	1.768 cd	0.863	1.713 c-f	0.808	2.597 d	1.692	1.909 f	1.004
4F-89	1.025 cd	2.214 b-d	1.189	1.472 d-f	0.447	2.004 d	0.979	1.369 f	0.344
Sazova 1946	0.667 f	2.084 cd	1.417	1.725 c-f	1.058	2.125 d	1.458	1.417 f	0.750
G. Bodur 64	1.115 cd	1.976 cd	0.861	2.767 a	1.652	5.932 b	4.817	3.732 c	2.617
G.Bodur 78	1.142 c	1.510 d	0.368	1.213 f	0.071	2.405 d	1.263	3.193 cd	2.051
GS 57	1.164 c	4.426 a	3.262	1.303 ef	0.139	6.118 b	4.954	6.091 a	4.927
E.Sırık 5	1.804 a	2.143 cd	0.339	1.868 bc	0.064	7.448 a	5.644	5.376 b	3.572
G.Sırık 26	1620 ab	1.913 cd	0.293	2.033 bc	0.413	4.075 c	2.455	2.562 e	0.942

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (p<0.05)

### Kök ağırlık sonuçları

Çalışma sonucunda elde edilen kök ağırlıkları sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Elde edilen veriler irdelendiğinde, tuz uygulanmaya başlanmayan 0. günde Sazova 1946 çeşidinde 0.667 g ile en düşük değer elde edilmiş ve son grubu oluşturmuştur. Anılan parametrede en yüksek veri ise 1.804 g ile ES 5 genotipinde gözlenmiştir. 7. günde 50 mM NaCl uygulanması sonucu en düşük değer (1.510 g) GB 78, en yüksek veri ise (4.426 g) GS 57 çeşidinde saptanmış, elde edilen artış yine aynı çeşitte belirlenmiştir. Tuz stresinin artmasıyla GB 78 çeşidi en düşük değere (1.213 g) sahip olmuş, en yüksek değere ise 2.767 g ile GB 64 çeşidinde ulaşılmıştır. Başlangıç

dönemine göre artış bu dozda 1.652 g olarak saptanmıştır. Tuz uygulanmasının başladığı 14. günde 50 mM NaCl uygulanması sonucu en düşük değer (2.004 g) ile tuza hassas 4F-89 çeşidinde gözlenmiş, istatistiksel anlamda GB 69, Samsun 94, Ferasetsiz, ES 18, Kırgünlük, 4F-89 Fransız, Sazova 1946 ve GB 78 son grubu oluşturan çeşitlerdir. Kök ağırlığı 7.448 g olan E Sırık 5 çeşidi 1. grubu oluşturmuş, başlangıç gününden itibaren artış 5.664 g ile yine aynı çeşitte gözlenmiştir. Tuz uygulamasının 100 mM NaCl'e çıkarılmasıyla en az kök ağırlığı yine 4F-89 Fransız genotipinde gözlenirken, istatistiksel anlamda ES 18, Kırgünlük, ve Sazova 1946 çeşitleri ile aynı grupta yer almıştır. Anılan ölçüte ait en yüksek değer 6.091 g ile

GS 57 çeşidinde saptanmış, 4.927 g'lık artış yine aynı çeşitte gözlenmiştir.

Çizelge 1 ve 2 birlikte incelendiğinde, bitki yaş ağırlığında gözlenen artışın kök ağırlığına yansıdığı, aynı çeşitlerin ağırlık artışlarının hem kök hem de yeşil aksamda da paralel yönde bir seyir izlediği gözlenmiştir. Tuza hassas bir çeşit olan 4F-89 Fransız genotipi genelde artan zaman ve tuza zıt yönde bir azalma sergilemiş ve tüm gelişme periyodunda son gruplarda yer almıştır. GS 57 çeşidi tuz uygulamasının 7. gününde 50 mM NaCl, 14. gününde ise 100 mM NaCl uygulaması sonucu en yüksek değerle birinci grupta yer almış, bu sonuç anılan çeşidin tuza dayanıklılık sınırının yüksek olmasından kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır.

### Tartışma

Değişik fasulye genotip ve çeşitlerinin, artan düzeyde NaCl dozları kullanılarak bitkinin kök bölgesinde oluşturulan tuz stresine karşı göstermiş oldukları tepkilerin tuz dozları ve zamana göre farklı yönelimler gösterdiği izlenmiştir.

Kimi genotiplerin gelişimlerinde 7. güne kadar her iki tuz dozunda da yüksek artış gözlenirken, kimi genotiplerin aynı zaman diliminde kök ve yeşil aksam gelişimleri daha az bir artış göstermiştir. Bazı genotiplerde ise 7. güne kadar özellikle 100 mM NaCl dozunda düşük gelişim performansı gözlenirken, 7. günden sonra, artan bir gelişim performansı izlenmiştir. Genotipler arasında, özellikle zamana göre gelişim performanslarında bu tip dalgalanmaların olması ve bu süreç içinde gelişimlerini duraklatma ya da yavaşlatmaları ve daha sonra gelişimlerini hızlandırmaları, anılan genotiplerin bir savunma mekanizması olan tuz stresine karşı adaptasyon yeteneği kazanmış olabilecekleri kanısına varılmıştır. GS57 genotipi 7. günde 100 mM NaCl dozunda yeşil aksam gelişiminde düşük performans sergilerken, 14. günde aynı tuz dozunda en yüksek performansı göstermiş söz konusu durum kök gelişiminde de izlenmiştir. Benzer durum ES5 ve ES18 genotiplerinde de görülmüştür. Özellikle ES18 genotipi stresin ilk haftasında yani 7. güne kadar her iki tuz dozunda da çok düşük bir gelişim göstermiş, 7. günden sonra 14. güne kadar geçen sürede hızlı bir gelişim performansı sergileyerek ilk sıralarda yer almıştır. Aynı genotipin kök gelişimi yeşil aksam gelişimiyle 7. güne kadar paralellik gösterirken, 7. günden sonraki dönemde yeşil aksamda hızlı bir gelişim görülmesine karşın köklerde gelişim çok düşük olmuştur. Poljakoff –Mayber ve Gale, (1975) tuza tolerans gösteren bitkilerde tuzu kabullenme ve buna karşı uyum sağlamaya yönelik bazı düzenlemelerin bitki bünyesinde gerçekleştiğini ve bitkilerin, Na ve Cl iyonlarını köklerden, gövde ve yapraklara taşınımını kısıtlayarak tuza tolerans gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, arpa bitkisinde tuzun köklerden yeşil aksama gidişinin engellendiğini ve köklerdeki bariyerler sayesinde pasif alım ile bünyeye giren Na ve Cl iyonlarının yeşil aksama iletilmediğini belirtmişlerdir.

Araştırmada dikkati çeken farklı bir gelişim performansı da tuza-tolerans olarak bilinen GB 64 çeşididir. Stresin ilk döneminde özellikle 100 mM NaCl dozunda en iyi gelişim performansı sergileyen bu genotip, stresin 14. gününde 50 mM NaCl tuzunda en yüksek yeşil aksam ağırlığına sahip olmuş, 100 mM NaCl dozunda ise üçüncü sıraya düşmüştür. Yaşar, (2007) aynı genotiplerle

yapmış olduğu çalışmada tuza-duyarlı olduğu belirlenen 4F-89 Fransız ve Sazova 1946 çeşitlerinin yapraklarında yüksek miktarda Na ve MDA birikiminin gözlendiğini bildirmiştir. Çalışmamızda da aynı genotiplerin yeşil aksam ve kök ağırlık artışlarının, farklı zaman ve artan tuz dozlarında düşük performans gösterdiği saptanmıştır. Farklı bitki ve türlerle değişik araştırmacıların yapmış olduğu çalışmalar, tuzdan farklı yönlerde etkilenme şekillerini ortaya koymuştur. Alian ve ark. (2000), kültürü yapılan bitkiler arasında tuza karşı tolerans bakımından farklılıkların olduğunu, domateste yaptıkları çalışma ile belirlemişlerdir. Munns ve Termaat, (1986), tuzluluk koşullarında en fazla etkilenen organların yapraklar olduğunu, sürgün boyunda azalmanın ilk belirtilerden sayıldığını bildirirken; Snapp ve Shennan (1992), kök büyümesi ve gelişmesinin de tuzluluktan benzer biçimde etkilendiğini rapor etmişlerdir. Greenway ve Munns, (1980), tuz stresi koşullarında yetiştirilen bitkilerin yaş ve kuru ağırlıklarında azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, tuz stresi altında kalan bitkilerde genotipik özellikler çerçevesinde farklı tepkilerin oluştuğu, bazı genotiplerin tuzlu koşullardan daha az düzeyde etkilendiği bazılarının ise tepkilerinin fazla olduğu gözlenirken, zamana ve tuz dozuna bağlı olarak, GS57, ES18, GB64 gibi tuza-tolerant olan genotiplerin kök ve yeşil aksam gelişimlerinde dalgalanmalar saptandığı izlenmektedir. Tuza-duyarlı ve orta düzeyde duyarlı oldukları görülen diğer genotip ve çeşitler ise daha stabil bir durum sergilerken, genelde artan tuz dozları ve zamana paralel olarak tuzdan etkilendikleri gözlenmiştir.

### Kaynaklar

- Alian, A., A. Altman, B. Heuer, 2000. Genotypic Difference in Salinity and Water Stress Tolerance of Fresh Market Tomato Cultivars. *Plant Science*, 152: 59-65
- Ashraf, M., 1994. Breeding for Salinity Tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13(1):17-42.
- Awank, Y.B., J.G. Atherton, A.J. Taylor, 1993. Salinity Effects on Strawberry Plants Grown Rock Wool, Growth and Leaf Relations. *J. Hort. Sci.*, 68: 783-790.
- Cramer, G.R., E. Epstein, A. Lauchli, 1988. Kinetics of Root Elongation of Maize in Response to Short-Term Exposure to NaCl and Elevated Calcium Concentrasyon. *J. Exp. Bot.*, 39: 1513-1522.
- Demir, İ., K. Demir, 1992. Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Beş Değişik Fasulye Çeşidinde Çimlenme, Çıkış ve Fide Gelişimi Üzerine Etkileri. GAP 1. Sebze Tarımı Sempozyumu, Şanlıurfa, 335-342.
- Franco, J.A., C. Esteban, C. Rodriguez, 1993. Effect of Salinity on Various Growth Stages of Muskmelon cv. Revigal. *J. Hort., Sci.* 68: 899-904.
- Greenway, H., R. Munns, 1980. Mechanisms of Salt Tolerance in Nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31: 149-190.

- Güneş, A., A. Inal, M. Alpaslan, 1996. Effect of Salinity on Stomatal Resistance, Proline and Mineral Composition of Pepper. J.of Plant Nutrition, 19(2): 389-396.
- Hasegawa ,P.M., R.A. Bressan, A.V. Handa, 1986. Cellular Mechanisms of Sallnity tolerance. Hort. Sci., 21: 1317-1324.
- Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. Vol.II, 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, New York, pp:607.
- Mangal, J.L., S. Lal, 1990. Salt Tolerance Behavior of Khorif Onion Variety N.53. Hort. Abst., 53:5129.
- Mer, R.K., P.K. Prajith, D.H. Pandya, A.N. Pandey, 2000. Effect of Salt on Germination of Seeds and Growth Young Plants of Hordeum vulgare, Triticum aestivum, Cicer arietinum and Brassica juncea. J. Gron. Crop. Sci., 185: 209-217.
- Munns, R., A. Termaat, 1986. Whole-Plant Responses to Salinity. Aust. J. Plant Physiol., 13: 143-160.
- Poljakoff- Mayber, A., J. Gale, 1975. *Plant in Salin Environments*. Springer-Verlag, Berlin, S.213.
- Sivritepe, N. 1995. Asmalarda Tuza Dayanıklılık Testleri ve Tuza Dayanımda Etkili Bazı Faktörler Üzerinde Araştırmalar. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı , (doktora tezi, basılmamış), Bursa, 176s.
- Snapp, S.S., C. Shennan, 1992. Effects of Salinity of Root and Deth Dynamics of Tomato, *Lycopersicum esculantum* Mill., *New Phytol.* 121: 71-79.
- Tıprıdamaz, R., Ş. Ellialtıoğlu, 1994. Domates Genotiplerinde Tuza Dayanıklılığın Belirlenmesinde Değişik Tekniklerin Kullanımı. Ankara Üniv. Ziraat Fak Yayınları, Yayın No: 1358, Bilimsel Ar. ve İnc.:752, 21s.
- Tıprıdamaz, R., Ş. Ellialtıoğlu, 1997. Some Physiological and Biochemical Changes in Solanum melongena L. Genotypes Grown Under Salt Conditions. First Balkan Botanical Congress, Abstracts, pp: 121, 19-22 September 1997, Thessaloniki, Greece.
- Tolay, İ., K. Sönmez, Z. Aytaç, Z. Budak, Ö. Çatin, 2006. Sebzelelerde Tuzluluk Stresi. VI. Sebze Tanımı Sempozyumu. KSÜ Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Bölümü. 19-22 Eylül 2006 Kahramanmaraş.
- Yaşar, F. 2003. Tuz Stresi Altındaki Patlıcan Genotiplerinde Bazı Antioksidant Enzim Aktivitelerinin *in vitro* ve *in vivo* Olarak İncelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bil. Enst., Doktora Tezi, 138 s, Van.
- Yasar, F. 2007. Effects of Salt Stress on Ion and Lipid peroxidasion Content in Green Beans Genotypes. Asian Journal of Biochemistry, 19 (2): 1165-1169

## Karpuz (*Citrullus lanatus*) Genotiplerinde, Tuz Stresinden Kaynaklanan Oksidatif Zararlanmanın Zamana Göre Değişimi ve Skala ile İlişkisinin Belirlenmesi

<sup>1</sup>Fikret Yaşar, <sup>2</sup>Şebnem Ellialtıoğlu, <sup>1</sup>Taylan Özpay, <sup>1</sup>Özlem Uzal  
<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Van  
<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Dışkapı-Ankara  
\*fyasar@yyu.edu.tr

**Özet :** Çalışmada, ülkemizin çeşitli yerlerinden toplanan 28 adet karpuz genotipi, 5 adet standart çeşit ve 5 adet F1 hibrit çeşit olmak üzere toplam 38 adet karpuz genotip ve çeşidi materyal olarak kullanılmıştır. Bu çalışmanın amacı, karpuz çeşit ve genotiplerinin kök, gövde ve yaprak organlarındaki oksidatif zararlanmalarının zamana göre değişimleri ile bitkilerin zararlanma derecesine göre oluşturulan skala değerleri ve bitki organlarındaki lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA) birikiminin karşılaştırılmasıdır. Elde edilen sonuçlara göre 18, 22, 28, 31, 36, 41 nolu genotiplerin toplam MDA birikimleri düşük, 35, 37, 38, 39 ve 40 nolu çeşitlerin toplam MDA birikimleri ise yüksek çıkmıştır. Ayrıca, zararlanma derecesini belirten skala değerleri ile yapraklardaki MDA birikimi arasında yüksek oranda korelatif ilişki olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Genotip, karpuz (*Citrullus lanatus*), MDA, skala, tuz stresi

### Determination of Relation with Scala and Exchange of According to the Time of the Oksidatif Damage from salt Stres in Watermelon Genotypes

**Abstract :** In this study, we choose 28 watermelon, 5 standard variety and 5 item F1 hybrid variety in collecting different place from our country which is used as a materials totally 38 item watermelon genotype and variety. Aim of this study that compare oxidative damaged in period of time within watermelon variety and genotypes of root, leaf and stem organs, scale of value depends on the plant damaged level and malondialdehid (MDA); plant organs production of lipid peroxidation. We acquired as a result number of 18, 22, 28, 31, 36, 41 genotypes which is shown totally low MDA accumulation and number of 35, 37, 38, 39 and 40 number of genotypes which is shown totally high MDA accumulation from the study. In addition, we observed high ratio correlation between damaged level of scale value and leaf MDA accumulation

**Key words:** Genotyp, watermelon, (*Citrullus lanatus*), MDA, scala, salt stress

### Giriş

Yüksek tuzluluk durumunda bitkilerin hücre zarı bütünlüğünün bozulması, stomaların kapanışı ve fotosentetik elektron taşınımının aksaması nedeniyle Oksidatif stresin ortaya çıktığını ve serbest O<sub>2</sub> türevlerinin oluşumunun arttığını birçok araştırmacı yapmış oldukları çalışmalarla ortaya koymuşlardır (Hernandez ve ark., 1994; Gosset ve ark., 1994 a, b, 1996; Sreenivasulu ve ark., 2000). Stres faktörlerinin neden olduğu oksidatif zararlanmanın en etkili olduğu hücre kısımlarından birisi hücre zarlarıdır (Shalata ve Tal, 1998). Oksidatif zararlanma sonucunda hücre zarlarında lipid peroksidasyonu meydana gelmekte ve zararın geçirgenliği bozularak hücre sıvısının hücre içinde tutulmaması sonucunda bitki ölüme doğru yönelmektedir (Hernandez ve ark., 1995). Tuzlu koşullarda oksidatif zararlanma sonucunda hücre zarlarında oluşan lipid peroksidasyonunun ürünü olarak malondialdehid (MDA) açığa çıkmakta ve pek çok araştırmacı lipid peroksidasyonunun oksidatif stres sonucu ortaya çıktığını, tuza toleransı yüksek çeşitlerin lipid peroksidasyonunun ya da diğer bir deyişle MDA'nın düşük seviyelerde bulunduğunu, hassas olanların ise yüksek seviyede MDA bulduklarını belirtmişlerdir (Hernandez ve ark., 1995; Shalata ve Tal, 1998; Yaşar, 2003, 2007).

Bu araştırmanın amacı, ülkemizin çeşitli bölgelerinden toplanan ve genetik zenginliğimiz olan karpuz genotipleri ile standart ve hibrit çeşitlerin tuz stresi altında farklı zaman ve farklı bitki organına göre MDA

miktarları ölçülerek oksidatif zararlanma durumlarını belirlemektir.

### Materyal ve Yöntem

Çalışmada, ülkemizin çeşitli bölgelerinden toplanan 28 adet karpuz genotipi, 5 adet standart çeşit ve 5 adet F1 hibrit çeşit olmak üzere toplam 38 adet karpuz genotip ve çeşidi materyal olarak kullanılmıştır (Çizelge 1). Hoagland çözeltilisinde yetiştirilen fideler 4-5 gerçek yapraklı oldukları zaman ortama kademeli olarak toplam 100 mM'lık tuz stresi uygulanmıştır. Tuz uygulanmayan kontrol bitkileri ile birlikte tüm bitkiler 25°C sıcaklık ve %65 oransal neme sahip iklim odasında geliştirilmişlerdir. Ölçüm ve analizler için örnek alma işlemi üç tekerrürlü olacak biçimde tuz uygulamasının 0. 8. ve 16. günlerinde yapılmıştır. Bitkiler kök, gövde ve yapraklarına ayrılmıştır. Karpuz çeşit ve genotiplerinden bazıları 16. güne kadar dayanamadıklarından daha önce ölmüşlerdir.

**Skala Değerlerinin Belirlenmesi:** Fidelerde morfolojik olarak ortaya çıkan zararlanmanın derecesini ortaya koyabilmek amacıyla bir skala oluşturulmuştur. Tuz uygulamasından 8 gün sonra, aşağıda belirtilen semptomlara göre fidelere 0'dan 5'e kadar puan verilmiştir:  
0: Bitkinin tuz stresinden hiç etkilenmemesi  
1: Büyümede yavaşlama, yapraklarda lokal sararma ve kıvrılma

2: Yapraklarda sararma ve % 25 oranında nekrotik lekelenmeler  
 3: Yapraklarda % 25–50 arasında nekrotik leke göstermesi ve dökülmesi

4: Yapraklarda % 50–75 oranında nekroz ve ölümlerin görülmesi  
 5: Yapraklarda % 75–100 oranında şiddetli nekroz görülmesi veya bitkinin tamamen ölmesi

Çizelge 1. Denemelerde yer alan karpuz genotiplerinin numarası, çeşit adı veya toplandığı yöreye göre verilen isimleri, temin edildiği yer.

No	Yöre veya İsim/Alındığı yer	No	Yöre veya İsim/Alındığı yer
1	Diyarbakır /Menemen	28	Burdur-Koyulhisar/ Çiftçi
2	Çorum/Çiftçi	29	Kütahya/Çiftçi
3	Diyarbakır /Menemen	30	Diyarbakır I/Alata
5	Kayseri /Menemen	31	Urfa /Alata
6	Tunceli I/Menemen	33	Yalova Washinton/Çiftçi
7	Tunceli II/Çiftçi	34	Yuvarlak Alaca/Alata
8	Sivas/Menemen	35	Nunhems/Alata
9	Adıyaman/Menemen	36	Midyat/Alata
10	Amasya I /Menemen	37	Titan F <sub>1</sub> /Genagr/Alata
12	Tokat/Menemen	38	Galactica/Alata
13	Gaziantep/Menemen	39	Golden Crown F <sub>1</sub>
14	Erzurum/Menemen	40	Celebration F <sub>1</sub> /Alata
15	Elazığ I/Menemen	41	Midyat /Çiftçi
16	Elazığ-Palu/Çiftçi	42	Diyarbakır II/Alata
17	Malatya I/Menemen	43	Bonessa F <sub>1</sub> /Alata
18	Malatya/Çiftçi	44	Crimson Sweet/Semito
19	Malatya/Menemen	45	Petra F <sub>1</sub>
22	Urfa/Menemen	46	Van-Erciş/Çiftçi
23	Erzurum /Menemen	47	Hakkari-Çukurca/Çiftçi

**MDA Analizi:** Hücre zarlarının hasar görmesi olarak adlandırılabilir. Malondialdehid (MDA) miktarının belirlenmesi için Lutts ve ark., (1996) tarafından anlatılan yöntem izlenmiştir. Bu yöntem göre; 200 mg olarak alınan taze yaprak örneklerinin üzerine 5 ml %0.1'lik trikloroasetik asit (TCA) ilave edilmiş, bu karışım 12500 rpm devir hızında 20 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. 5 ml'lik ekstraktan 3 ml süpermatant alınmış; bunun üzerine içinde %20 tiobarbitirik asit (TBA) bulunan 3 ml %0.1'lik TCA ilave edilmiştir. Karışım 95°C'deki sıcak su banyosunda 30 dakika bekletilmiş, bunun ardından Analytic Jena 40 model spektrofotometrede A532 ve A600 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. MDA konsantrasyonu, aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$MDA = (A_{532} - A_{600}) \times \text{Ekstrakt hacmi (ml)} / (155 \text{ mM/cm} \times \text{Örnek miktarı (mg)})$$

### Bulgular

Çalışmada, 0, 8 ve 16 günlük süreyle tuz stresi uygulanan karpuz genotip ve çeşitlerinin kök, gövde ve yapraklarındaki MDA birikimleri ölçülmüştür. Sonuçlar Çizelge 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Denemenin 0. gününde tüm karpuz genotip ve çeşitlerinden alınan kök, gövde ve yaprak örneklerinin MDA birikimleri arasında ki farklılıklar hem genotiplere, hemde organlara göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bazı genotiplerin organları arasında fark bulunmazken bazılarında ki fark önemli bulunmuştur. Bitkilerin köklerindeki MDA birikimi bakımından en yüksek değer 33, 7, 31 ve 6

nolu genotiplerde, en düşük MDA birikimi ise sırasıyla 44, 37, 46 ve 39 nolu genotiplerde görülmüştür. Genotiplerin gövde kısımlarında biriktirdikleri MDA miktarı bakımından en yüksek birikim sırasıyla 15, 7, 10 ve 28 nolu genotiplerde olmuş; en düşük değer ise 35, 33, 34 ve 39 nolu genotip ve çeşitlerde olmuştur. Bitkilere tuz uygulanmadan önce yapraklarındaki MDA birikimleri bakımından genotip ve çeşitler sıralandığında en yüksek değer 29, 28, 2 ve 23 nolu genotiplerde, en düşük değer ise 16, 19, 6 ve 18 nolu genotipte görülmüştür. Karpuz genotiplerinin kök, gövde ve yapraklarındaki toplam biriktirdikleri MDA bakımından da genotipler arasında farklılıklar olduğu görülmüştür (Çizelge 2).

Tuz stresi uygulanan genotiplerin 8. günündeki kök, gövde ve yaprak örneklerinin MDA birikimleri ile tuzdan etkilenme derecesini belirten skala değerlerinin korelasyon ilişkilerine bakılmış; kökte biriken MDA ile skala değerleri arasında  $R^2=0,368$ , gövde ile skala değeri arasında  $R^2=0,319$  değerleri bulunurken, yaprak ile skala arasında  $R^2=0,657$  lik değer ile en yüksek ilişki bulunmuştur. Toplam MDA değeri ile skala değerleri arasında  $R^2=0,517$  katsayı değeri bulunmuştur (Şekil 1).

Kontrollü şartlarda yetiştirdiğimiz karpuz bitkilerine uyguladığımız tuz stresinin 8. gününde genotiplerin çok farklı tepkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Genel anlamda en fazla MDA birikimi yaprakta daha sonra kökte ve en az MDA birikimi gövdede olduğu görülmüştür. Oysa tuz uygulamadan (0. günde) önce alınan bitki örneklerinde genel anlamda yaprak örneklerinin MDA birikimi diğer organlara göre daha yüksek çıkmıştır. Tuz uygulamasının 8. gününde bitkilerin köklerindeki MDA birikimi bakımından genotipler sıralandığında en yüksek birikim 40, 38, 37, 39

Çizelge 2. Farklı iki zamanda (0. ve 8. gün) alınan karpuz bitkilerinin kök, gövde ve yapraklarındaki MDA birikimleri ve skala değerleri

Genot No	0. Gün				8.Gün				Skala
	Kök	Gövde	Yaprak	Toplam	Kök	Gövde	Yaprak	Toplam	
1	0,757 g-I*	0,320 I-q	0,790 a	1,87 d-g	0,880 I-o	0,667 j-n	1,243 op	2,79 k	3,00
2	0,737 g-I A	0,307 j-q B I	0,833 a A II	1,87 d-g	0,800 m-o	0,413 n-p C	2,273 c-e A I	3,50 g-I	5,00
3	0,673 h-I A	0,676 a-d A	0,477 b B II	1,82 e-h	0,807 m-o	0,873 ij B I	1,543 I-I A I	3,23 h-k	4,00
5	0,313 kl B II	0,480 e-j A I	0,197 f-j C II	0,98 m-o	1,443 f-h A	0,497 m-p B	1,443 k-o A I	3,38 g-j	3,50
6	1,273 bc A I	0,327 h-q B I	0,127 j C II	1,72 g-I	1,343 g-I B	0,447 n-p C	1,593 h-k A I	3,39 g-j	2,00
7	1,503 ab A	0,783 a B I	0,456 bc C II	2,75 a	1,820 cd A I	0,893 ij C I	1,463 k-o B I	4,18 d-f	4,00
8	0,270 I	0,667 a-d A I	0,293 d-I B II	1,23 j-m	1,287 h-j B	0,750 j-m C	2,433 bc	4,47 d	3,50
9	0,530 I-k A	0,520 c-I A I	0,346 b-f A II	1,40 j-I	0,953 k-n B	0,597 k-o C	1,327 I-p A I	2,87 jk	3,00
10	1,270 bc A	0,760 ab B II	0,217 f-j C II	2,24 bc	1,763 c-e B	1,413 c-g C	2,083 ef A I	5,25 c	3,00
12	1,013 d-f A	0,263 k-q B	0,390 b-e B	1,66 f-I	1,567 e-g A	1,230 e-h B	1,497 j-n A I	4,30 de	2,00
13	1,220 cd A I	0,613 a-f B	0,167 h-j C II	2,00 c-f	1,123 I-k B	1,517 cd A I	1,457 k-o A I	4,09 d-f	3,00
14	0,750 g-I A	0,430 f-m B	0,377 b-e B	1,55 g-j	1,083 j-I A I	0,853 jk B I	1,287 m-p A	3,22 h-k	3,00
15	0,590 h-j B	0,803 a A II	0,170 h-j C II	1,56 g-j	0,733 no B	1,473 c-f A I	1,320 I-p A I	3,52 g-I	3,00
16	1,230 cd A	0,640 a-e B I	0,113 j C II	1,98 c-f	1,577 e-g A	0,750 j-m B	1,537 I-m A I	3,86 e-g	2,00
17	0,670 h-I A	0,363 h-o B I	0,150 ij C II	1,18 k-n	1,150 I-k B	0,430 n-p C	1,800 gh A I	3,38 g-j	3,00
18	0,820 f-h A	0,523 c-h B I	0,130 j C II	1,47 h-I	0,953 k-n A	0,513 I-p C I	0,713 q B I	2,18 I	2,00
19	0,953 e-g A	0,460 e-k B I	0,123 j C II	1,53 g-k	1,303 h-j B	0,507 I-p C I	1,703 g-j A I	3,51 g-I	4,25
22	1,070 c-e A	0,580 b-g B I	0,133 j C II	1,78 e-h	1,453 f-h B	0,527 I-o C I	1,733 g-I A I	3,72 f-h	2,00
23	0,693 h-I B	0,690 a-c B I	0,823 a A	2,20 b-d	1,030 k-m	0,533 I-o C	1,640 h-k A I	3,20 h-k	3,00
28	0,680 h-I	0,710 a-c B I	0,850 a	2,23 bc	0,737 no A	0,783 j-I A I	0,770 q	2,29 I	1,50
29	1,110 c-e A	0,420 f-m C	0,913 a	2,44 ab	1,429 gh C	1,850 b	2,203 de	5,47 c	5,00
30	0,216 I B	0,666 a-d A	0,130 j C	1,02 m-o	1,000 k-m	1,213 f-h A	1,303 m-p A	3,52 g-I	2,00
31	1,300 a-c A	0,527 c-h B	0,297 d-I C	2,12 b-e	1,150 I-k A	0,767 j-m B	1,103 p B I	3,02 j-k	1,00
33	1,520 a	0,136 q	0,213 f-j	1,86 d-g	1,357 g-I A	1,177 gh A	1,207 p A I	3,73 f-h	4,00
34	0,400 j-I	0,150 pq C II	0,300 d-I B	0,85 n-p	1,673 d-f	1,117 h-I	2,230 c-e	5,02 c	5,00
35	0,393 j-I	0,130 q	0,337 b-g	0,86 m-p	1,120 I-k	1,500 c-e	2,557 b	5,18 c	5,00
36	0,317 kl	0,347 h-p	0,347 b-f	1,01 m-o	0,787 m-o	0,493 m-p	0,880 q	2,16 I	1,50
37	0,210 I A II	0,220 n-q A	0,156 h-j A II	0,58 p	2,580 b B I	1,240 e-h C	3,157a A I	6,98 a	4,25
38	0,260 I B II	0,427 f-m A	0,293 d-I B II	0,98 m-o	2,793 a B I	1,397 d-g C	3,010 a A I	7,20 a	5,00
39	0,250 I A II	0,157 pq B II	0,197 f-j B II	0,59 p	2,500 b A I	1,670 bc B I	1,877 fg B I	6,05 b	5,00
40	0,307 kl A	0,230 m-q A	0,240 e-j A	0,77 op	2,867 a A	2,360 a B	1,880 fg C	7,11 a	4,25
41	0,700 h-I A I	0,257 I-q B I	0,213 f-j B II	1,17 I-n	0,740 no A	0,240 p B I	0,856 q A I	1,83 I	2,00
42	0,607 h-I A II	0,147 pq B II	0,153 ij B II	0,90 m-p	0,843 m-o	0,333 op B I	0,867 q A I	2,04 I	1,50
43	0,287 kl A II	0,343 h-p A II	0,400 b-d A II	1,26 m-o	1,807 cd B I	2,323 a A I	2,344 cd A I	6,45 b	5,00
44	0,147 I B II	0,633 a-e A II	0,166 h-j B II	0,94 m-p	0,703 o C I	1,143 gh B I	1,887 fg A I	3,73 f-h	4,00
45	0,253 I A II	0,210 o-q A II	0,253 d-j A II	0,71 op	1,163 I-k B	1,167 gh B I	2,050 ef A I	4,39 de	4,00
46	0,247 I A II	0,410 g-n A II	0,313 c-h A II	0,97 m-o	1,960 c B I	2,160 a B I	3,077 a A I	7,20 a	5,00
47	0,600 h-j A II	0,443 e-I A II	0,180 g-j B II	1,22 j-n	1,280 h-j C I	1,403 c-g B I	1,790 gh A I	4,46 d	3,00
<b>Toplam</b>	<b>26,14 A</b>	<b>16,75 B</b>	<b>12,27 C</b>		<b>51,56 B</b>	<b>39,24 C</b>	<b>61,13 A</b>		

\*\*Genotipler arasındaki fark küçük harfle belirtilmiştir ( $P \leq 0.05$ )

\*\*Aynı zaman içindeki organlar arasındaki fark büyük harfle belirtilmiştir ( $P \leq 0.05$ )

\*\*\*Farklı iki zamanda aynı iki organ arasındaki farklı roma rakamı ile belirtilmiştir ( $P \leq 0.05$ )

\*\*\*Farklı iki zamanda aynı iki organ arasındaki farklı roma rakamı ile belirtilmiştir ( $P \leq 0.05$ )

ve 46 nolu genotiplerde, en düşük birikim ise 44, 41, 15, 36 ve 42 nolu genotiplerde olmuştur. Gövdedeki MDA birikimi ise 41, 42, 17, 6 ve 36 nolu genotiplerde en düşük, 40, 43, 46, 29 ve 39 nolu genotiplerde en yüksek değerlerde çıkmıştır. Karpuz bitkilerinin yapraklarındaki MDA birikimi ise 37, 46, 38, 35 ve 8 nolu genotiplerde yüksek bulunurken, 18, 28, 36, 41 ve 42 nolu genotiplerde düşük çıkmıştır. Stresin 8. gününde karpuz genotiplerinin kök, gövde ve yapraklarındaki toplam biriktirdikleri MDA miktarı bakımından genotipler arasında farklılıkların

olduğu görülmüş ve toplam MDA ile skala değerleri paralellik göstermiştir. Toplamda Yüksek MDA birikimine sahip olan 38, 46, 40, 43 ve 39 nolu genotiplerin 4 ila 5 arasında skala değerine sahip olduğu görülmüştür. Yine düşük MDA değerine sahip olan 41, 42, 18, 28 ve 36 nolu genotiplerin bitkinin tuzdan kaynaklanan zararlanma derecesini belirten düşük Skala değerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 3. Farklı iki zamanda (0. ve 16. gün) alınan karpuz bitkilerinin kök, gövde, yaprak ve toplam bitkideki MDA birikimleri

Genotip No	MDA ( $\mu$ mol/g Yaş Ağırlık)						Toplam
	0. Gün			16. Gün			
Kök	Gövde	Yaprak	Kök	Gövde	Yaprak		
6	1,273 bc A II	0,327 h-q B II	0,127 j C II	15,429 bc B I	7,234 cd C I	17,013 ab A A	36,66 d
7	1,503 ab* A II	0,783 a B** II	0,456 bc C II***	12,135 ef A I	5,015 fg C I	7,420 hı B I	31,15 fg
12	1,013 d-f A II	0,263 k-q B II	0,390 b-e B II	13,326 de B I	7,348 cd C I	15,422 bc A I	34,67 de
13	1,220 cd A II	0,613 a-f B II	0,167 h-j C II	12,173 ef B I	17,082 a A I	11,779 de B I	43,26 b
14	0,750 g-i A II	0,430 f-m B II	0,377 b-e B II	14,459 cd A I	10,461 b B I	9,341 e-g C I	38,92 c
16	1,230 cd A II	0,640 a-e B II	0,113 j C II	12,264 ef A I	6,302 d-f C I	10,026 d-f B I	32,56 e-g
18	0,820 f-h A II	0,523 c-h B II	0,130 j C II	6,289 jk A I	6,729 de A I	5,775 ij A I	27,02 ij
22	1,070 c-e A II	0,580 b-g B II	0,133 j C II	4,706 k C I	7,175 cd B I	11,968 d A I	25,88 j
23	0,693 hi B II	0,690 a-c B II	0,823 a A II	11,094 fg A I	5,295 e-g B I	10,670 d-f A I	30,39 gh
28	0,680 hi B II	0,710 a-c B II	0,850 a A II	8,472 i C I	4,517 gh A I	4,624 j A I	26,99 ij
30	0,216 i B II	0,666 a-d A II	0,130 j C II	10,248 gh B I	8,593 c A I	9,753 e-g A I	32,84 ef
31	1,300 a-c A I	0,527 c-h B III	0,297 d-i C II	9,311 hi C I	5,141 fg B I	7,762 gh A I	28,45 hi
33	1,520 a A II	0,136 q B II	0,213 f-j B II	35,767 a C I	8,368 c B I	18,638 a A I	58,14 a
36	0,317 kl A II	0,347 h-p A II	0,347 b-f A II	3,052 l C I	8,651 c A I	5,363 j B I	25,70 j
40	0,307 kl A II	0,230 m-q A II	0,240 e-j A II	15,469 bc l A I	11,134 b B I	14,781 c A I	40,60 c
41	0,700 hi A II	0,257 l-q B II	0,213 f-j B II	4,975 jk B I	8,708 c A I	5,155 j A I	27,68 ij
42	0,607 hi A II	0,147 pq B II	0,153 ij B II	5,552 jk B I	3,410 h C I	11,709 de A I	22,96 k
44	0,147 i B II	0,633 a-e A II	0,166 h-j B II	16,977 b A I	10,206 b C I	14,871 c B I	41,18 bc
47	0,600 h-j A II	0,443 e-l A II	0,180 g-j B II	6,527 j B I	5,811 d-g C I	11,575 de A I	26,34 ij
<b>Toplam</b>	<b>78,43 A II</b>	<b>50,25 B II</b>	<b>36,82 C II</b>	<b>654,69 A I</b>	<b>441,45 C I</b>	<b>610,90 B I</b>	

\*Genotipler arasındaki fark küçük harfle belirtilmiştir ( $P \leq 0.05$ ).

\*\*Aynı zaman içindeki organlar arasındaki fark büyük harfle belirtilmiştir ( $P \leq 0.05$ )

\*\*\*Farklı iki zamanda aynı iki organ arasındaki fark roma rakamı ile belirtilmiştir ( $P \leq 0.05$ )

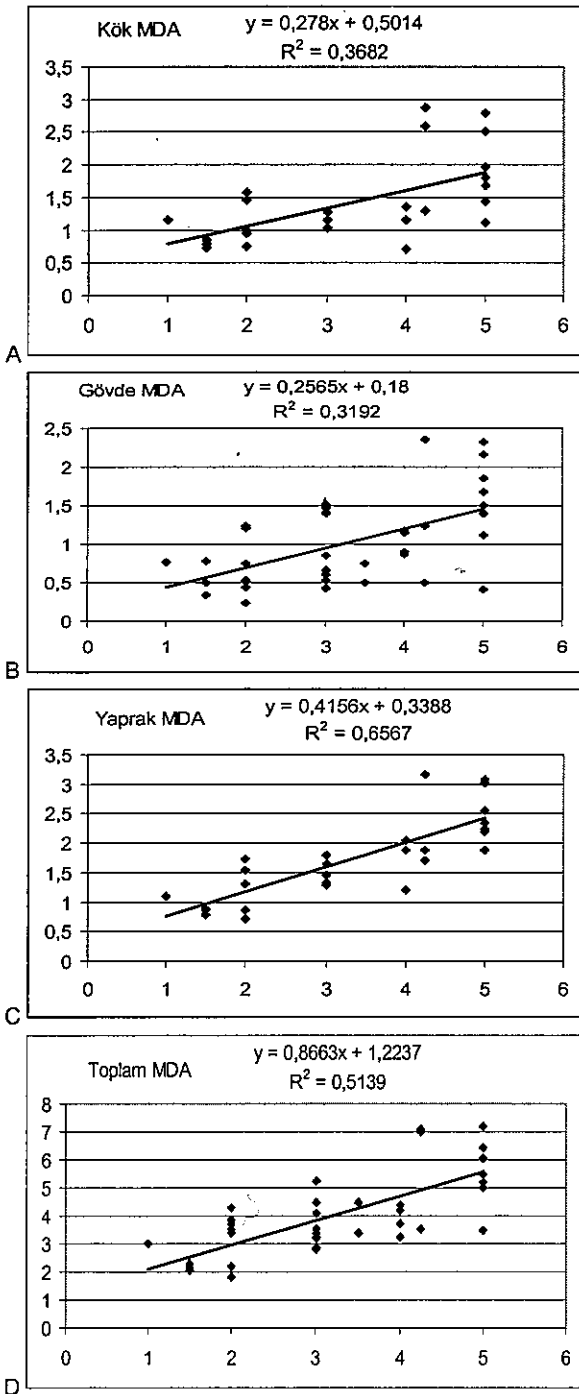
Ülkemizin değişik bölgelerinden toplanmış karpuz genotipleri ile değişik yerli ve yabancı çeşitlere uygulanan tuz stresinin 16. gününde toplam 38 adet genotipten 29 adedi canlılığını koruyamamış sadece 19 adedi 16. güne kadar canlı kalabilmiştir.

Tuz uygulamasının 16. gününde tüm karpuz genotiplerinin kök, gövde ve yapraklarındaki MDA birikimi 8. gün örneklerinde biriken MDA miktarına göre çok daha yüksek bulunmuştur. Stresin 8. gününde tüm genotiplerde en yüksek MDA birikimi yaprakta olurken, 16. günde kimi genotipin yaprağında, kimi genotipin gövdesinde ve kimi genotipin de kök kısmında yüksek MDA birikimine rastlanmıştır. Yine, 8. günde tüm genotiplerin ortalama MDA birikimi dikkate alındığında yaprak, kök ve gövde şeklinde en yüksekten en düşüğe doğru sıralanırken, 16. günde genotip ortalamasına göre kök, yaprak ve gövde şeklinde sıralanmıştır. Ayrıca, bitkideki toplam MDA bakımından genotipler incelendiğinde en yüksek değer 33, 13, 14, 40 ve 6 no'lu genotiplerde olurken, en düşük değer sırasıyla 42, 36, 22, 28 ve 18 no'lu genotiplerde görülmüştür. Stresin 16. gününde karpuz bitkilerinin organlarına ayrılarak her bir her bir organda ayrı olarak MDA analizi yapıldığında; Köklerdeki en yüksek MDA birikimi 33, 44, 40, 6 ve 14 no'lu genotiplerde, en düşük MDA birikimi ise 36, 22, 41, 42 ve 18 no'lu genotiplerde olduğu görülmüştür. Bitkilerin tuzun toksik etkisinden kaynaklanan zararlanma derecesini gösteren MDA'nın

karpuz bitkilerinin gövdelerindeki en yüksek birikim 13, 40, 14, 44 ve 41 no'lu genotiplerde, 42, 28, 7, 31 ve 23 no'lu genotiplerde MDA birikimi en düşük çıkmıştır. Bitkilerin yapraklarındaki MDA birikimi bakımından genotipler sıralandığında 33, 6, 12, 44 ve 40 no'lu genotipler en yüksek değerle ilk beşi oluştururken, 28, 41, 36, 18 ve 7 no'lu genotiplerde son beşi oluşturmuşlardır (Çizelge 3).

## Tartışma

Denemelerde kullanılan 38 adet karpuz (*C. lunatus*) genotiplerinde 100 mM dozunda uygulanan toksik düzeydeki NaCl tuzunun bitkilerde ortaya çıkardığı zararlanma belirtilerine göre oluşturulan skala değerlendirmeleri; tüm karpuz genotiplerinin tuzdan morfolojik olarak hasar görme derecelerini gösteren ve bitkideki hasar ürünü olan MDA birikimine bir çeşit kontrol özelliği taşımaktadır. Skala değerlerinin oluşturulmasında Aktaş (2002) 'in çalışmasında kullandığı biber türü için geliştirmiş olduğu skaladan yararlanılmıştır.



Şekil 1. 100 mM NaCl tuz stresi altındaki karpuz genotiplerinin kök (A), gövde (B), yaprak (C) ve toplam bitki (D) MDA birikimleri ile skala değerlerinin korelasyon grafiği

Aktaş (2002) biberde tuza toleransın belirlenmesinde incelenen özellikler arasında kararlı tutum sergileyen ve 'screening' için kullanılabilir bir özellik belirlenmesinin güç olduğundan bahsetmiştir. Ancak, bizim çalışmamızda bitkilerin tuzdan etkilenme durumlarına göre oluşturduğumuz skala değerleri ile yine bitkinin tuzdan zararlanması sonucu lipidperoksidasyon ürünü olarak ortaya çıkan MDA birikiminin benzerlik gösterdiği görülmüştür. Görsel zararlanma derecesi 5 olan genotiplerinde MDA birikimleri yüksek, skala değeri düşük

olan genotiplerin MDA birikimleri düşük çıkmıştır. Oluşturulan skaladaki tüm derecelere karşılık gelen genotipler ortaya çıkmıştır. Buda gösteriyor ki hem MDA'nın ve hem de skala değerlerinin karpuzda iyi birer seçim kriteri olabileceğidir.

Yaşar ve ark. (2007) nin aynı karpuz genotipleriyle yapmış olduğu çalışmada 100 mM NaCl tuz stresi altında 10 gün süreyle tutulan bitkilerin yeşil aksam ağırlıklarıyla bitkilerin nisbi iyon (Na, K, Ca) birikimlerine bakarak, tüm karpuz genotipleri içerisinde tuza en tolerant olanlar 18, 22, 28, 31, 36, 41 nolu genotipler, en duyarlı olanlar ise 35, 37, 38, 39 ve 40 nolu çeşitlerin olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada da bitkilerin zararlanma derecesini belirten skala değerleri ile lipidperoksidasyon ürünü olan MDA miktarında aynı genotiplerde benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır. Hatta 8. günde oluşturulan skala değerlerini yüksek alan genotipler tuzun toksik etkisine dayanamamış, kısa süre sonra ölmüşlerdir.

Çok sayıda karpuz genotipiyle çalışılan bu araştırmada, 100 mM NaCl tuz stresi altında yetiştirilen bitkilerden 0. 8. ve 16. günlerde alınan örneklerin kök, gövde ve yapraklarının hangisinde tuzun toksik etkisinin daha fazla olduğunu ve dolayısıyla MDA birikiminin hangi organda daha fazla biriktiği incelenmiştir. Uygulamanın 0. gününde alınan örneklerdeki genotiplerin toplam MDA birikimleri sırasıyla en yüksek kök, gövde ve yaprakta olurken, 8. günde en yüksek toplam birikim sırasıyla yaprak, kök ve gövdede olmuştur. Ancak genotipler tek tek incelendiğinde kimi genotipin köklerindeki MDA birikimi yüksek bulunurken, kimi genotipin gövdesinde, kimi genotiplerin de yapraklarında olduğu görülmüştür. Organlar ayrı ayrı skala değerleri ile karşılaştırıldığında kök ve gövdenin MDA birikimlerinin korelasyon katsayıları düşük çıkmış, buna karşılık genotiplerin yapraklarındaki MDA miktarları skala değerleri ile daha yüksek korelatif ilişki içinde olduğu gözlemlenmiştir. André Dias ve ark., (2006) tuza-tolerant ve hassas mısır çeşitleri ile yaptıkları çalışmada, her iki çeşidin yapraklarındaki MDA birikimi zamana paralel olarak artmış ancak 20. günden sonra MDA birikiminde düşüş meydana gelmiştir. Buna karşın tuza-tolerant ve hassas çeşidin köklerinde zamana göre değişim olmamıştır. Benzer çalışmaları Hernandez ve ark., (1995) bezelye bitkisinde; Shalata ve Tal, (1998) domates genotiplerinde ve Aktaş (2002) biberde tuza toleransı yüksek genotiplerin yapraklarında düşük MDA miktarına sahip olduğunu, MDA miktarı fazla olan genotiplerin ise tuza daha fazla duyarlılık gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Tuz stresinin 16. gününde yaşayabilen genotiplerin kök, gövde ve yapraklarındaki MDA birikimi stresin 8. gününe göre çok fazla arttığı görülmüştür. 8. günde genotiplerin toplam MDA miktarları sırasıyla en yüksek yaprak, kök ve gövde şeklinde olurken, 16. günde aynı durum olmamış kök, yaprak ve gövde şeklinde sıralanmıştır. Benzer şekilde, André Dias ve ark., (2006) mısır bitkisinde, Arbona ve ark. (2003) portakalda yapmış oldukları çalışmada bitkiler tuz dozuna bağlı olarak 15 ve 20. günlere kadar MDA birikimlerini yükseltirken, 15 ve 20. günlerden sonra düşüşler başlamıştır. Tuz stresi altında kalan bitkiler 8. günden sonra canlılıklarını koruyan genotipler bir taraftan yaşlı yapraklarını dökerken, bir taraftan da yeni yapraklar oluşturdukları gözlenmiştir. Analiz işlemleri tüm yapraklarda yapıldığı için yeni oluşan yapraklar ortalama değerin düşmesine sebep olabilir. Çünkü yeni oluşan yaprakların toksik iyon birikimlerinin diğer yapraklara göre daha az



olabileceğinden hücresel düzeyde meydana gelecek zararlanmanın ve dolayısıyla zararlanma ürünü olan MDA miktarının daha düşük çıkmasına sebep olmuş olabilir. Buna rağmen 16. günde ki MDA değerleri 8. güne göre yaklaşık 10 kat artış göstermiştir.

Sonuç olarak, tuz stresi uygulanmış karpuz genotiplerinin değişik zaman ve değişik organlarındaki MDA birikimleri, daha önceki çalışmamızda (Yaşar ve ark. 2007) alınan sonuçlarla paralel çıkmıştır. Tuza-tolerant olan 18, 22, 28, 31, 36, 41 nolu genotiplerin toplam MDA birikimleri düşük, duyarlı olan 35, 37, 38, 39 ve 40 nolu çeşitlerin toplam MDA birikimleri ise yüksek çıkmıştır. Ayrıca, zararlanma derecesini belirten skala değerleri ile yapraklardaki MDA birikimi arasında yüksek oranda ilişki olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar gösteriyorki karpuz bitkisinde lipidperoksidasyonuna bakılırken değişik organlara bakılması yerine sadece yapraklara bakarak bitkideki zararlanma derecesini belirleyebiliriz.

#### Kaynaklar

- Aktaş, H., 2002. Biberde Tuza Dayanıklılığın Fizyolojik Karakterizasyonu ve Kalıtımı. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enst. (doktora tezi, basılmamış), Adana, 105 s.
- André Dias de A.N., P. Jos'e Tarquinio, E.F. Joaquim, E.B. A. De Carlos, G.F. En'eas, 2006: Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes, *Environmental and Experimental Botany*, 56 (2006) 87-94
- Arbona, V., V. Floras, J. Jacas, P. Gracia-Agustin, A. Gomez-Cadenas, 2003. Enzymatic and Non-enzymatic Antioxidant responses of Carizo citrance, a salt-Sensitive Citrus Rootstock, to Different Levels of Salinity, *Plant Cell physiol.* 44(4) 388-394
- Gossett, D.R., S.W. Banks, E.P. Millhollon, C. Lucas, 1996. Antioxidant Response to NaCl Stress in a Control and NaCl Tolerant Cotton Cell Line Grown in The Presence of Paraquat, Buthionine, Sulfoximine, and Exogenous Glutathione. *Plant Physiol.*, 112: 803-809.
- Gossett, D.R., E.P. Millhollon, M.C. Lucas, 1994 a. Antioxidant Response to NaCl Stress in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Cultivars of Cotton. *Crop Sci.*, 34: 706-714.
- Gossett, D.R., E.P. Millhollon, M.C. Lucas, S.W. Banks, M.M. Mamey, 1994 b. The Effects of NaCl on Antioxidant Activities in Callus Tissue of Salt-Sensitive Cotton Cultivars (*Gossypium hirsutum* L.). *Plant Cell Reports*, 13:498-503.
- Hernandez, J.A., I.A. Del Rio, F. Sevilla, 1994. Salt Stress-Induced Changes in Superoxide Dismutase Isozymes in Leaves and Mesophyll Protoplasts from *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *New Phytol.*, 126: 37-44.
- Hernandez, J.A., E. Olmos, F.J. Corpas, F. Sevilla, I.A. Del Rio, 1995. Salt-Induced Oxidative Stress in Chloroplasts of Pea Plants. *Plant Sci.*, 105: 151-167
- Lutts, S, J.M. Kinet, J. Bouharmont, 1996. NaCl-Induced Senescence in Leaves of Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Differing in Salinity Resistance. *Ann. Bot.*, 78: 389-398.
- Shalata, A., M. Tal, 1998. The Effect of Salt Stress on Lipid Peroxidation and Antioxidants in The Leaf of the Cultivated Tomato and Its Wild Salt-Tolerant Relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiol. Plant.*, 104: 169-174.
- Sreenivasulu, N., B. Grimm, U. Wobus, W. Weschke, 2000. Differential Response of Antioxidant Compounds to Salinity Stress in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Seedling of Fox-Tail Millet (*Setaria italica*). *Physiol. Plant.*, 109:435-442.
- Yaşar, F. 2003. Tuz Stresi Altındaki Patlıcan Genotiplerinde Bazı Antioksidant Enzim Aktivitelerinin *in vitro* ve *in vivo* Olarak İncelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bil. Enst., Doktora Tezi, 138 s, Van.
- Yaşar, F. 2007. Effects of Salt Stress on Ion and Lipid peroxidation Content in Green Beans Genotypes. *Asian Journal of Biochemistry*, 19 (2): 1165-1169
- Yaşar, F., Ş. Ellialtıoğlu, T. Özpay, Ö. Uzal, 2007. Tuz Stresi Altındaki karpuzların (*Citrullus lunatus*) Genotipik Farklılıklarının Belirtenmesi, V. Bahçe Bitkileri Kongresi 4-7 Eylül, Erzurum

# YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DERGİSİ YAZIM İLKELERİ

Dergide Fen Bilimleri alanında yapılmış özgün araştırmalar yayınlanır.

Dergide yayınlanacak eserler, Türkçe ve İngilizce olarak yazılabilir.

Dergiye yayınlanmak üzere gönderilen eserin, daha önce hiçbir yayın organında yayınlanmamış veya yayın hakkının verilmemiş olması gerekir. Eser sahibinden makale ile birlikte buna ilişkin yazılı belge (dilekçe) alınır.

Dergiye gönderilen eser, basılmadan önce konunun uzmanı olan 2 hakeme gönderilir. Gönderilen eserin dergide yayınlanabilmesi için hakemler tarafından olumlu rapor gelmesi gerekir. Eserin yayınlanması konusunda, hakemlerden biri olumlu, diğeri olumsuz görüş bildirirse bu durumda eser üçüncü hakeme gönderilir. Yayınlanması uygun bulunmayan eser, yazara (yazarlarına) iade edilir.

Eser, Microsoft Word ' da **Arial** (Arial Tur) yazı karakteri ile yazılarak, 3 nüsha halinde Disketiyle (veya CD ile) birlikte gönderilmelidir.

Eser, A4 boyutunda ve birinci hamur kağıda, 170 x 250 mm lik alana 8.25 cm lik iki sütun halinde ve sütunlar arasında 0.5 cm boşluk olacak şekilde hazırlanmalı ve toplam sayfa sayısı 8'i geçmemelidir.

Eserin başlığı, kelimelerin baş harfleri büyük ("ve", "ile", "veya" vb bağlaçlar hariç) 13 punto, koyu ve sayfayı ortalayacak şekilde olmalıdır.

Eser, bir kurum veya kuruluş tarafından desteklenmiş veya yüksek lisans / doktora tezinden özetlenmiş ise bu durum, başlığın son harfi üzerine yıldız konularak, ilk sayfanın altında dip not olarak belirtilmelidir.

Abstract başlığı, eser başlığı ile aynı şekilde ancak 11 punto büyüklüğünde olmalıdır.

azarların adları, unvan kullanılmaksızın, baş harfleri büyük diğ er harfleri küçük, soyadları ise büyük harflerle yazılmalı, yazar adresleri, yazarların soyadlarının son harfi üzerine numara verilerek, ilk sayfada dip not şeklinde belirtilmelidir.

Eser; **Özet, Abstract, Giriş, Materyal ve Yöntem, Bulgular ve Tartışma, Sonuç, Kaynaklar** şeklinde düzenlenmeli. Başlıklar, koyu ve başlıktan bir önce ve bir sonra birer boşluk olacak şekilde yazılmalı. Eğer alt başlıklar kullanılacaksa, (alt başlığın sadece ilk harfi büyük) başlıktan sonra iki nokta üst üste (;) konulup devam edilmelidir.

Eserde; Türkçe ve İngilizce özet (Abstract), 8 punto büyüklüğünde, 200' er kelimeyi geçmeyecek şekilde, 15 cm genişliğinde, tek sütun halinde ve bir aralık (satır aralığı 1) ile yazılmalıdır. En fazla 6 adet anahtar kelime (kendi içerisinde alfabetik sırada ve makale başlığındaki kelimeleri içermeyecek şekilde) verilmelidir.

Metin, paragraflar arası bir boşluk ve paragraf başı 0.5 cm içerden başlayarak, 9 punto büyüklüğünde, bir aralık (satır aralığı 1) ile yazılmalıdır. Şekiller, grafikler ve fotoğraflar; "Şekil", sayısal değerlerin verildiği tablolar ise "Çizelge" olarak (8 punto) metin içerisinde (olması gereken yerde) verilmelidir. Şekiller ve Çizelgeler tek sütun halinde verilecekse; 15 cm, çift sütun halinde verilecekse 7.5 cm genişliğini geçmemelidir. Şekil açıklamaları, şeklin altına, çizelge açıklamaları da çizelgenin üstüne numaralandırılarak 8 punto büyüklüğünde yazılmalıdır. Çizelgelerde dikey çizgi kullanılmamalıdır.

Eserde kullanılan kaynaklar metin içerisinde "yazar ve yıl" olarak verilmeli. Eserde yer alan kaynakların hepsi "Kaynaklar" listesinde bulunmalıdır. Doktora ve Yüksek Lisans tezleri dışında yayınlanmamış eserler ve sözlü görüşmeler kaynak olarak belirtilmemelidir.

Kaynak metin içerisinde; tek yazarlı, iki yazarlı, üç ve daha fazla yazarlı olmasına göre paragraf veya satır başında belirtiliyor ise sırası ile: "Kor (2000)", Kor ve Ertuğrul (2000), Kor ve ark. (2000)" şeklinde paragraf sonu veya satır sonunda belirtiliyor ise "(Kor 2000)", (Kor ve Ertuğrul 2000), (Kor ve ark. 2000) şeklinde belirtilmelidir. Yabancı kaynaklar da "ve" ve "ark." olarak belirtilmelidir. Anonim kaynak: Türkçe ise "(Anonim 2000)", Yabancı dilde ise "(Anonymous 2000)" şeklinde belirtilmelidir. Aynı konu için birden fazla kaynak ard ada verilirken araya noktalı virgül (;) konulmalıdır. Örnek: (Kor 2000; Ertuğrul ve ark. 2004). Kaynaklar listesinde yararlanılan eser **Kitap** ise:

Düzgüneş, O., A. Eliçin, N. Akman, 1991. Hayvan Islahı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 1212, 298 s., Ankara

Hosmer, D. W., S. Lemeshow, 2000. Applied Logistic Regression. John Wiley and Sons Inc. 375 p. New York, USA.

## Dergi

Akın, G., N. Dostbil, 2003. Türkiye' de kan grubu araştırmaları. Y.Y.Ü. Fen Bil. Ens. Dergisi, 8(1): 28-36.

Benjamin, H., S. Geng, 1982. Interrelationships of morphological and economic characters of sunflower. Crop Sci. 22: 817-822.

## Anonim

Anonim, 1997. Tarım İstatistikleri Özeti. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü. Yayın No: 2137, Ankara

Anonymous, 1994. Mutation Breeding Newsletter. IAEA, Nos, 1-41, Vienna

## Kongrede Bildiri

Gürbüz, F., E. Başpınar, S. Keskin, M. Mendes, B. Tekindağ, 1999. Path analizi tekniği, 4. Ulusal Biyoistatistik Kongresi 23-24 Eylül 1999, Ankara

Sayın, M. Ö., D. Erdem, S. Keskin, 2001, Effect of serial extraction treatment on craniofacial morphology, 77<sup>th</sup> Congress European Orthodontic Society, June 19-23<sup>rd</sup> 2001, Ghent - Belgium.

"Kaynaklar" ilk yazarın soyadına göre alfabetik olarak 8 punto büyüklüğünde bir aralık (satır aralığı 1) olarak düzenlenmelidir.

Basımına karar verilen eserde, her hangi bir ekleme ve çıkarma yapılamaz.

Bir yazarın aynı sayıda ilk isim olarak bir (1) , ilk isim olmadan da bir (1) eseri olmak üzere en fazla iki eseri basılabilir.

Yayınlanan eserin tüm sorumluluğu yazarına veya yazarlarına aittir.