

ISSN 1308-7576  
e-ISSN 1308-7584

# YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TARIM BİLİMLERİ DERGİSİ

YYÜ TAR BİL DERG

YUZUNCU YIL UNIVERSITY  
JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES

YYU J AGR SCI

Cilt (Volume): 30 Sayı (Number): 3 Eylül (September) 2020

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 65080 Van, Türkiye  
Van Yuzuncu Yil University Agriculture Faculty, 65080 Van, Turkey  
<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

*Previous Names of the Journal:* Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi (Yuzuncu Yil University, Agriculture Faculty Journal of Agriculture Science) and Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi (Yuzuncu Yil University, Journal of Agriculture Faculty)

Dergimiz CAB Abstracts, FAO AGRIS/CARIS ve TÜBİTAK/ULAKBİM Veri Tabanlarına girmektedir. Ulrich's Directory, EBSCO, ISC, Directory of Open Access Journals (DOAJ), ISI Thompson Master Journal List (Zoological Record) ve SCOPUS'a dahildir.

Our Journal is abstracted in CAB Abstracts, FAO AGRIS/CARIS and TUBITAK/ULAKBİM Data Bank. Listed in Ulrich's Directory, EBSCO, ISC, Directory of Open Access Journals (DOAJ), ISI Thompson Master Journal List (Zoological Record) and SCOPUS.

**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TARIM BİLİMLERİ DERGİSİ**  
(Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences)

SAHİBİ (OWNER)  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ ZİRAAT FAKÜLTESİ ADINA  
(Behalf on Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture)

(Dekan /Dean)  
Prof. Dr. Semra DEMİR

Sorumlu Müdür (Manager in Charge) / Baş Editör (Chief Editor)  
Prof. Dr. Suat ŞENSOY

**Yardımcı Editörler (Associated Editors)**

ERDİNÇ, Çeknas (Assoc. Prof. Dr.)  
ÇAKMAKCI, Talip (Dr.)

Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN  
Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN

**Yayın Kurulu (Editorial Board)**

ARPALI, Diğdem (Prof. Dr.)  
ERDİNÇ, Çeknas (Assoc. Prof. Dr.)  
KARACA, Serhat (Assoc. Prof. Dr.)  
KAYA, İlhan (Prof. Dr.)  
KURT, Şener (Prof. Dr.)  
KURTAR, Ertan Sait (Prof. Dr.)  
ÖZASLAN PARLAK, Altıngül (Prof. Dr.)  
ÖZGÖKÇE, M. Salih (Prof. Dr.)  
TERİN, Mustafa (Assist. Prof. Dr.)  
TÖLÜ, Cemil (Assoc. Prof. Dr.)  
TÜRKOĞLU, Nalan (Prof. Dr.)

Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN  
Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN  
Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN  
Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN  
Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, HATAY  
Selçuk University, Faculty of Agriculture, KONYA  
Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Agriculture, ÇANAKKALE  
Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN  
Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN  
Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Agriculture, ÇANAKKALE  
Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN

**İstatistik Editörleri (Statistical Consultants)**

TAKMA, Çiğdem (Prof. Dr.)  
YEŞİLOVA, Abdullah (Prof. Dr.)

Ege University, Faculty of Agriculture, İZMİR  
Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN

**Konu Editörleri ve Bilimsel Danışma Kurulu (Section Editors and Scientific Board)**

ALP, Şevket (Prof. Dr.)  
ALYOKHIN, Andrei V. (Assoc. Prof. Dr.)  
AYGÜN, Turgut (Prof. Dr.)  
DANESH, Younes Rezaee (Prof. Dr.)  
DEMİREL, Murat (Prof. Dr.)  
GÜLSER, Füsün (Prof. Dr.)  
JAVED, Khalid (Prof. Dr.)  
KAZANKAYA, Ahmet (Prof. Dr.)  
KOCŞİS, László (Prof. Dr.)  
ŞEN, Fazıl (Prof. Dr.)  
RÖSCH, Roland (Dr.)  
TEPE, Işık (Prof. Dr.)  
TUNÇTÜRK, Murat (Prof. Dr.)  
TUNÇTÜRK, Yusuf (Prof. Dr.)  
TÜFENKÇİ, Şefik (Prof. Dr.)  
TÜRKOĞLU, Nalan (Prof. Dr.)  
YILDIRIM, İbrahim (Prof. Dr.)  
YILDIZ, Mehtap (Assoc. Prof. Dr.)

Peyzaj Mimarlığı / Landscape Architecture, Van Yüzüncü Yıl University  
Uyg. Entomoloji (Applied Entomology) / Maine Univ., Orono ME, USA  
Hayvan Yetiştirme ve Islahı / Animal Breeding, Van Yüzüncü Yıl University  
Bitki Koruma / Plant Protection, Urmia University, Iran  
Hayvan Besleme / Animal Nutrition, Van Yüzüncü Yıl University  
Top. Bil. ve Bit. Bes. / Soil Science and Plant Nutrition, Van Yüzüncü Yıl University  
Veterinerlik ve Hayvan Bilimleri Üniv., (Animal Science) / Lahore, Pakistan  
Bahçe Bitkileri / Horticulture, Ahi Evran University  
Bağcılık (Viticulture) / Georgikon Fak.Pannonia Univ., Keszthely, Hungary  
Su Ürünleri / Fisheries, Van Yüzüncü Yıl University  
Balıkçılık Araş. İst (Fisheries) / Baden-Württemberg Langenargen, Germany  
Bitki Koruma / Plant Protection, Van Yüzüncü Yıl University  
Tarla Bitkileri / Field Crops, Van Yüzüncü Yıl University  
Gıda Mühendisliği / Food Science, Van Yüzüncü Yıl University  
Biyosistem Mühendisliği / Biosystem Engineering, Van Yüzüncü Yıl University  
Süs Bitkileri / Ornamental Plant Production, Van Yüzüncü Yıl University  
Tarım Ekonomisi / Agricultural Economics, Van Yüzüncü Yıl University  
Tarımsal Bioteknoloji /Agricultural Biotechnology, Van Yüzüncü Yıl University

**Bu Sayının Hakem Listesi (Referee List in This Number)**

AKKÖPRÜ, Ahmet (Assist. Prof. Dr.)  
AKSOY, Adem (Prof. Dr.)  
ALTINOK, Suzan (Prof. Dr.)  
AŞKAN, Emine (Assist. Prof. Dr.)  
ATEŞ, Ertan (Assoc. Prof.)  
AYDINŞAKİR, Köksal (Assoc. Prof.)  
AYGÜN, Ahmet (Assoc. Prof.)  
BAŞTAŞ, Kubilay Kurtuluş (Assoc. Prof.)  
BOZKURT, İmam Adem (Assist. Prof. Dr.)  
CENGİZ, Mahir Murat (Assoc. Prof.)  
ÇOŞKUNTUNA, Arzu (Assist. Prof. Dr.)  
ÇAKIR, Fikret (Assist. Prof. Dr.)  
ÇAKMAKÇI, Talip (Dr.)  
ÇAKMAKÇI, Özlem (Dr.)  
ÇUKUR, Tayfun (Assoc. Prof.)  
DEMİRELMA, Hakkı (Assist. Prof. Dr.)

Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN  
Atatürk University, Faculty of Agriculture, ERZURUM  
Ankara University, Faculty of Agriculture, ANKARA  
İğdir University, Faculty of Agriculture, İĞDIR  
Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, TEKİRDAĞ  
Bati Akdeniz Agricultural Research Institute, ANTALYA  
Kocaeli University, Faculty of Art and Science, KOCAELİ  
Selçuk University, Faculty of Agriculture, KONYA  
Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, HATAY  
Atatürk University, Erzurum Vocational School, ERZURUM  
Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, TEKİRDAĞ  
Çanakkale Onsekiz Mart University, Fac. of Marine Sci. and Techn., ÇANAKKALE  
Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN  
Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN  
Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Agriculture, MUĞLA  
Selçuk University, Faculty of Science, KONYA

DEMİRER DURAK, Emre (Assist. Prof. Dr.)	Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
DENGİZ, Orhan (Prof. Dr.)	Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, SAMSUN
DİLSİZ AYDIN, Sevtap (Assoc. Prof.)	Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, ANKARA
DUYAR, Hünkar Avni (Prof. Dr.)	Sinop University, Faculty of Fisheries, SİNOP
ERDOĞAN, Oktay (Assoc. Prof.)	Pamukkale University, School of Applied Sciences, DENİZLİ
ERDOĞAN, Sibel (Assoc. Prof.)	Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
ERKAN, Cengiz (Assist. Prof. Dr.)	Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
EROĞLU, Ayten (Assist. Prof. Dr.)	Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Science, VAN
ERTÜRK, Yakup Erdal (Assoc. Prof.)	İğdir University, Faculty of Agriculture, İGDIR
GÖZÜBENLİ, Hüseyin (Prof. Dr.)	Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, HATAY
GÜLTEKİN, Pınar (Assoc. Prof.)	Düzce University, Faculty of Forest, DÜZCE
GÜREL, Aydın (Prof. Dr.)	Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, TEKİRDAĞ
ORTA, Halim A. (Prof. Dr.)	Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, TEKİRDAĞ
ÖZDÜVEN, Levent (Prof. Dr.)	Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, TEKİRDAĞ
ÖZTÜRKMEN, Ali Rıza (Assoc. Prof.)	Harran University, Faculty of Agriculture, ŞANLIURFA
PAKSOY, Mücahit (Assist. Prof. Dr.)	Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Agriculture, KAHRAMANMARAŞ
SOLMAZ İlknur (Assoc. Prof.)	Çukurova University, Faculty of Agriculture, ADANA
TEMUR, Cüneyt (Assist. Prof. Dr.)	Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
UÇAR, Yusuf (Prof. Dr.)	Isparta Applied Sciences University, Faculty of Agriculture, ISPARTA
UNAKITAN, Gökhan (Prof. Dr.)	Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, TEKİRDAĞ
ÜLKER, Özge (Assoc. Prof.)	Ankara University, Faculty of Pharmacy, ANKARA
YILDIZ, Hilal (Assoc. Prof.)	Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Faculty of Engineering, NEVŞEHİR
YILMAZ, Cenap (Assist. Prof. Dr.)	Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Agriculture, ESKİŞEHİR
YÜZBAŞIOĞLU, Rüveyda (Assist. Prof. Dr.)	Tokat Gaziosmanpaşa University, Faculty of Agriculture, TOKAT

**Yayın Koordinatörleri (Typesetting)**

Arş. Gör. M. Reşit KARAGEÇİLİ  
Ziraat Yüksek Mühendisi Yekbun ALP  
Ziraat Yüksek Mühendisi Yağmur YILMAZ

**Web Sorumlusu (Internet Office)**

Arş. Gör. M. Reşit KARAGEÇİLİ  
Ziraat Yüksek Mühendisi Yekbun ALP  
Ziraat Yüksek Mühendisi Yağmur YILMAZ

**Yayın Türü (Publication Type)**

Uluslararası Süreli Bilimsel Yayın (International Scientific Periodical)

**Yönetim Yeri ve Yazışma Adresi (Correspondence Address)**

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, (Agriculture Faculty) Ziraat Fakültesi, Zeve Yerleşkesi, 65080, VAN

**Cilt (Volume): 30**

**Sayı (Number): 3**

**Eylül (September) 2020**

**Telefon (Phone)**

+90 (432) 2251056; 2251024

**Belgegeçer (Fax)**

+90 (432) 2251104

**e-posta (e-mail)**

yyujagrsci@gmail.com

**İnternet adresi: <http://dergipark.gov.tr/vyutbd>**

**ISSN 1308-7576 e-ISSN 1308-7584**

**Basıldığı Yer ve Tarih (Press and Date):** Efe Kırtasiye, Eylül (September) 2020, VAN

**“Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi”** önceden yayınlanan **“Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi”** ve **“Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi”**nin devamıdır. **Previous names of the journal: “Yuzuncu Yıl University, Agriculture Faculty Journal of Agriculture Sciences”** and **“Yuzuncu Yıl University, Journal of Agriculture Faculty”**



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

**Bağ ve Elma Bahçelerinde Toprak Agregasyonunun Değerlendirilmesi**

**Metin MÜJDECİ<sup>1</sup>, Pelin ALABOZ<sup>2\*</sup>, Ahmet Ali İŞILDAR<sup>3</sup>, Veli UYGUR<sup>4</sup>**

<sup>1,2,3,4</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, 32200, Isparta, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-0579-4538> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-7345-938X> <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0001-7099-8011>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0003-3971-7714>

\*Sorumlu yazar e-posta: [pelinalaboz@isparta.edu.tr](mailto:pelinalaboz@isparta.edu.tr)

**Makale Bilgileri**

Geliş: 03.02.2020  
Kabul: 11.05.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.684270

**Anahtar kelimeler**

Agregat stabilitesi,  
Bağ,  
Elma bahçesi.

**Öz:** Agregat oluşumu ve stabilitesi; toprak yönetimine ilişkin kültivasyon uygulamaları ve bitkisel üretim farklılıklarından güçlü bir şekilde etkilenmektedir. Bu çalışmada; farklı bitki örtüsü koşullarının (elma bahçesi ve bağ) toprakların agregasyon yüzdelinde nasıl bir değişim gösterdiği araştırılmıştır. Elma bahçesi ve bağdan (0-10, 10-20 cm) alınan toprak örnekleri farklı agregat boyutlarına (8-4, 4-2, 2-1, <1 mm) ayrılarak söz konusu toprakların agregasyon yüzdeleri belirlenmiştir. Agregasyon yüzdesi her bir derinlikte bitki örtüsüne bağlı değişim göstermekte olup bu değişim istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Agregasyon yüzdesi bitki türüne bakılmaksızın en yüksek 0-10 cm derinliğinde (62.32 (elma bahçesi), 61.14 (bağ)) belirlenmiştir. Agregat boyutlarındaki agregasyon %59.44 (2-1 mm)-%63.78 (8-4 mm) arasında değişim göstermiş olup elma bahçesinin agregasyon yüzdeleri bağa göre daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, bitki türü organik madde birikimini etkilediği için toprakların agregasyonlarını değiştirebilmektedir.

**Assessment of Soil Aggregation in the Vineyards and Apple Orchard**

**Article Info**

Received: 03.02.2020  
Accepted: 11.05.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.684270

**Keywords**

Aggregate stability,  
Vineyard,  
Apple orchard.

**Abstract:** Aggregate formation and stability are strongly influenced by cultivation practices related to soil management and plant type. The aim of this study was to investigate how different plant type (apple orchard and vineyard) have influenced the soil aggregation percentages. The soil samples taken from an apple orchard and a vineyard at different depths (0-10, 10-20 cm) were divided into different aggregate sizes (8-4, 4-2, 2-1, <1 mm) then the percentages of soil aggregation were determined. The magnitude of aggregation percentage was site- and depth-dependent and these changes were statistically significant ( $P<0.01$ ). The highest percentage of aggregation was found (62.32 for apple orchard, 61.14 for vineyard) at 0-10 cm depth regardless of plant type. The aggregation percentage was highly aggregate size-dependent. It was related to aggregate size i.e. 59.44% for 2-1 mm and 63.78 % for 8-4 mm sized aggregates. Comparatively higher aggregation percentages were observed for apple orchard soil than the ones observed for vineyard soil. As a consequence, plant type may change soil aggregation due possibly to influence over organic matter turnover.

**1.Giriş**

Ekosistemin önemli bir parçası olan toprağın amaç dışı kullanımı üretim alanlarının azalmasına yol açmakta, artan nüfusun ihtiyacının karşılanması için yoğun girdi kullanımı ile birim alandan daha

yüksek üretim yapılmasını zorunlu kılmaktadır. Bitki gelişimi üzerine toprağın kimyasal özelliklerinin etkinliği daha ön planda düşünülse de, tüm özellikleri ile bir bütün olan toprağın fiziksel özellikleri de verimlilik ve kalite için oldukça önemlidir. Kimyasal ve biyolojik özellikleri optimum düzeyde olan bir toprağın zayıf fiziksel özellikleri, bitkisel üretim potansiyelini sınırlandırmaktadır. Bitkiler için büyüme faktörü olmayan toprak strüktürü, dolaylı olarak bitki büyümesi ile yakından ilgilidir. Toprakta su ve hava hareketi, su tutma ve havalanma kapasitesi, bitki besin maddelerinin yararı, bitki kök gelişimi, makro ve mikro organizma aktivitesi gibi özellikler toprak strüktürü ile ilişkilidir. Uygun toprak strüktürü ve yüksek agregat stabilitesi bitkisel üretim, sürdürülebilir toprak yönetimi ve erozyona dayanıklılık açısından oldukça önemlidir (Bronick ve Lal, 2005; Alagöz ve Yılmaz, 2009; Turgut ve Aksakal, 2010; Eraslan ve ark., 2016). Universal Toprak Kayıp Tahmini Eşitliğinde (USLE) kullanılan erozyona duyarlılık (K) faktörü belirlemede de strüktürel özelliklerden yararlanılmaktadır. Toprak kaybının azaltılması için K değerlerinin en düşük düzeyde tutulması ve strüktürün iyileştirilmesi gerekmektedir (Cebel ve ark., 2013). Strüktürel bakımdan sağlam yapılı topraklarda suyun dispers edici etkisine karşı agregatların stabilitesi de yüksek olduğundan bu topraklarda erozyona karşı duyarlılık derecesi de azalmaktadır (Karaman ve ark., 2007).

Doğal koşullar altında uygun strüktür yapısına sahip arazilerde, sık ve yoğun kültürasyon çoğu toprakların strüktürünü bozmaktadır (Veiga ve ark., 2009). Bunun yanında, iklim koşulları (yıllık ortalama yağış ve yıllık ortalama sıcaklık vb.) vejetasyon türleri (orman arazisi, çim arazi ve ürün arazileri vb.), toprak işleme yöntemleri, sulama ve gübre uygulamaları gibi tarımsal faaliyetler de toprakların agregat oluşumu ve stabilitesini etkilemektedir (Işıldar, 1999; Castro Filho ve ark., 2002; Annabi ve ark., 2011).

Toprak agregasyonunun oluşumunda; organik karbon, organizmalar, iyon köprüleri, kil ve karbonatlar (Bronick ve Lal, 2005) etkili özellikler arasındadır. Toprak agregasyonunda önemli bir yeri olan toprak organik maddesinin %48-58'ini karbon (C) oluşturmaktadır (Kacar, 2009). Farklı toprak işleme yöntemlerine bağlı olarak değişim gösteren organik karbon, sıfır sürüm uygulamalarında, daha yüksek seviyelerde (Six ve ark., 2002; Kumar ve ark., 2012; Kumar ve ark., 2014) bulunmaktadır. Ayrıca, farklı bitki örtüleri, toprak organik madde içeriğini etkileyerek, toprak agregat oluşumu ve stabilitesi üzerinde önemli katkılar (Zeng ve ark., 2018) sağlamakta olup organik materyal uygulamaları (Yılmaz ve Alagöz., 2005; Alaboz ve ark., 2017) ve farklı toprak yönetimleri (Nweke ve Nnabude, 2014) ile agregat boyutlarında değişimlerin olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada; farklı bitki örtüsü koşullarında (elma bahçesi, bağ) toprakların farklı agregat boyutlarındaki (8-4, 4-2, 2-1, <1 mm) agregasyon yüzdeleri araştırılmıştır.

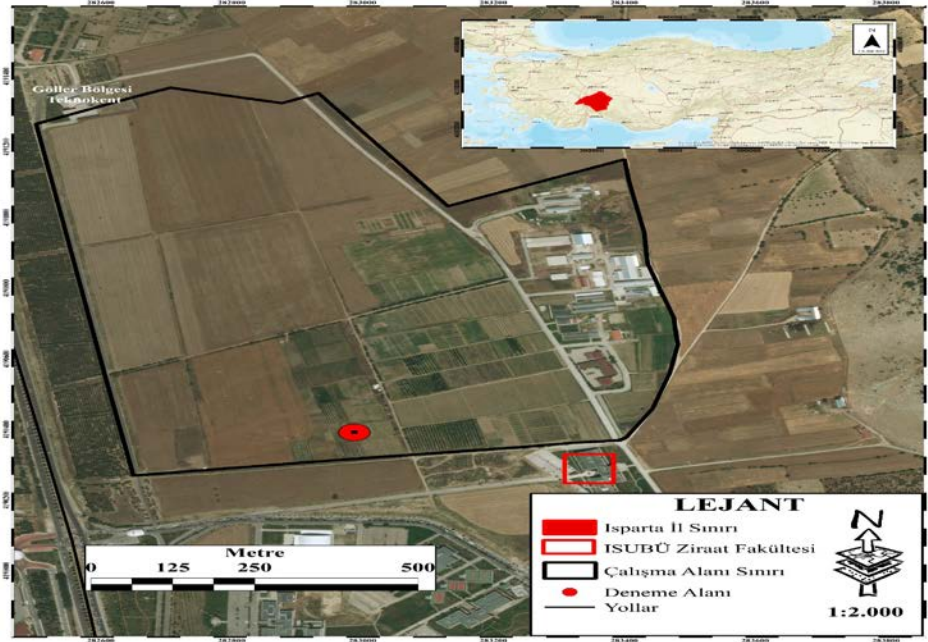
## 2. Materyal ve Yöntem

Araştırma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi arazisinde [36282989-36283041 D ve 4190610-4190784 K (UTM 36)] bulunan yaklaşık 9 yaşlarındaki elma bahçesi (M9 anacı) ve üzüm bağı arazilerinin toprakları üzerinde yürütülmüştür (Şekil 1). Bölgede yarı kurak iklim tipi hakimdir. Çalışma alanının uzun yıllar (1929-2018) meteorolojik verilerine göre (MGM, 2020), yıllık ortalama sıcaklık 12.5 °C, yağış ise 564 mm'dir. Jeolojik yapı kreteze kireç taşlarından oluşmakta olup, toprak nem rejimi xeric, sıcaklık rejimi ise mesic'tir (Akgül ve Başayığıt, 2005).

Çalışma alanı, her yıl çizel ve çapayla (10-15 cm) işlenmiştir. Çalışmanın amacı kapsamında, aynı hat üzerinde bulunan elma bahçesi ve bağ topraklarından (0-10 ve 10-20 cm) aynı hat üzerinden her bir tekerrür için 5 noktadan olmak üzere 3 tekerrürlü olarak toprak örnekleri alınmış (13.08.2014) ve analizler 3 paralelli olarak yapılmıştır. Araziden alınan toprak örnekleri, laboratuvarında hava kuru hale getirilerek elle agregat yapısına zarar vermeyecek şekilde 8 mm'lik elekten geçecek büyüklüğe getirilmiştir. Topraklar ıslak-kuru eleme seti (Retch Model: AS 200) yardımıyla 8-4 mm, 4-2 mm, 2-1 mm, <1mm'lik kuru agregat büyüklük gruplarına ayrılmıştır. Eleme işlemi, 1000 g toprak kullanılarak, 80 amplitüt ve 30 saniye eleme süresince gerçekleştirilmiştir. Elenen her bir agregat büyüklük boyutu için agregasyon yüzdeleri Eşitlik 1'e göre belirlenmiştir (US Salinity Laboratory Staff, 1954).

$$\% \text{ Agregasyon} = \frac{(\text{Toplam } \% \text{ silt+kil}) - (\text{Bağlanmamış } \% \text{ silt+kil}) * 100}{\text{Toplam } \% \text{ silt+kil}}$$

Eşitlik 1



Şekil 1. Çalışma alanı

Toprakların, mekanik analizi Bouyoucos hidrometre yöntemiyle (Demiralay, 1993), pH ve elektriksel iletkenlik (EC) 1:1 toprak-su süspansiyonunda (US Salinity Laboratory Staff, 1954), organik madde değiştirilmiş Walkley-Black yöntemi ve  $\text{CaCO}_3$ , Scheibler kalsimetresi ile volumetrik olarak belirlenmiştir (Kacar, 2009). Verilerin istatistiksel analizlerinde Minitab-16 paket programından yararlanılarak Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

### 3. Bulgular ve Tartışma

Deneme alanı topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1’de verilmiştir. Toprakların tekstür sınıfı her iki bitki örtüsü ve derinlikte tın olarak belirlenmiş olup % kil, silt ve kum içerikleri birbirine oldukça yakın seviyelerdedir. Toprakların  $\text{CaCO}_3$  içerikleri çok yüksek seviyelerde belirlenmiştir (Kacar, 2009). Elma bahçesi topraklarının  $\text{CaCO}_3$  içerikleri bağ’a göre yaklaşık % 9 daha yüksektir. Toprakların organik madde içerikleri düşük (Ülgen ve Yurtsever, 1988), toprak reaksiyonu hafif alkali (Jones, 1984), EC değerleri ise tuzsuz (Dahnke ve Whitney, 1988) sınıfları içerisinde yer almaktadır. Belirlenen toprak özellikleri arasında yüzey toprağında nispeten daha yüksek olan organik madde ve EC içerikleri derinliğe bağlı olarak azalmıştır. Gerek bitki artıklarının yüzeyde olması gerek organik veya mineral gübrelerin yüzeye uygulanması söz konusu derinlik (0-10 cm) için yüksekliğin bir sebebidir. Belirlenen toprak özellikleri bölgede Akgül ve Başayığit (2005) tarafından yapılan çalışmayla uyumlu bulunmuştur.

Çizelge 1. Deneme alanı topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Bitki Örtüsü	Derinlik (cm)	Kil (%)	Silt (%)	Kum (%)	Tekstür sınıfı	$\text{CaCO}_3$ (%)	Organik Madde (%)	pH	EC ( $\text{dS m}^{-1}$ )
Bağ	0-10	23.71	34.24	42.05	L	28.71	1.30	7.52	0.28
	10-20	24.33	34.19	41.48	L	28.46	1.21	7.58	0.17
Elma Bahçesi	0-10	23.65	34.82	41.53	L	36.93	1.54	7.51	0.22
	10-20	25.15	34.04	40.82	L	36.72	1.28	7.55	0.15

Toprakların minimum ve maksimum agregasyon yüzdesi değerleri % 58.39 ve % 65.03’dir. Veri setinin standart hatası 1.812, varyasyon katsayısı 2.96, çarpıklığı ise 0.51’dir. Veri seti normal bir dağılım sergilemiştir. Farklı bitki örtüsü koşullarının derinlik ve agregat büyüklük farklılığına bağlı olarak agregasyon yüzdesi üzerine değişimi Çizelge 2’ de belirtilmiştir. Agregasyon yüzdesi bağ’da % 58.45-63.76, elma bahçesinde ise % 59.56-64.97 arasında belirlenmiştir. Derinliğe bağlı değişimin agregasyon üzerine etkisi istatistiksel anlamda önemli olup ( $P < 0.01$ ) en yüksek yüzey toprağında (0-10

cm) belirlenmiştir (% 61.73 ). Bunun sebebinin yüzeyde organik madde miktarının (Çizelge 1) 10-20 cm'ye göre daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Organik maddenin parçalanıp ayrışmasıyla yapıştırıcı, kümeleştirici etkisi artmakta olup organik materyal uygulamasıyla agregat stabilitesinde artışların olduğu literatürlerde de belirtilmiştir (Lehtinen ve ark., 2014). Elliott (1986) organik maddenin bağlayıcı görevinde olduğunu küçük agregat gruplarının büyük agregat boyutlarını oluşturabileceğine değinmektedir. Organik materyalin yüzey toprağında agregat oluşumu üzerinde etki sahibi olduğu ve ahır gübresi gibi materyallerin C/N oranlarının yüksek olması sebebiyle ayrışmanın geç olmasından kaynaklı etkinin daha uzun sürelerde ortaya çıkabileceği belirtilmektedir (Çalışkan ve ark., 1997). Bitki örtüsü farklılıkları dikkate alınmaksızın farklı agregat boyutlarındaki agregasyon, en yüksek % 63.78 ile 8-4 mm agregat boyutunda belirlenmiştir. Agregat boyutlarının küçülmesine bağlı olarak agregasyon oranında olan azalış istatistiksel olarak önemli seviyelerde (P<0.01) bulunmuştur.

Çizelge 2. Farklı bitki örtüsü koşullarının derinlik ve agregat boyutuna bağlı olarak agregasyon yüzdesi üzerine etkileri

Bitki örtüsü	Derinlik (cm)	Agregat Boyutu (mm)				Derinlik (cm)	Ortalama
		8-4	4-2	2-1	<1		
Bağ	0-10	63.76	61.46	59.25	60.10	0-10	61.73a**
	10-20	62.71	60.35	58.45	59.43		
Elma bahçesi	0-10	64.97	62.57	60.51	61.21	10-20	60.74b
	10-20	63.67	61.36	59.56	60.36		
Ortalama		63.78A*	61.43B	59.44D	60.28C		

\*Büyük harfler agregat boyutları arasındaki değişimi göstermektedir (P<0.01).

\*\*Küçük harfler derinlikler arasındaki değişimi göstermektedir (P<0.01).

Derinliğe bağlı agregasyon boyutlarındaki % agregasyon değişimi istatistiksel olarak önemli bulunmuş olup Çizelge 3'de belirtilmiştir. En yüksek 0-10 cm'de 8-4 mm agregat boyutunda (% 64.36) en düşük ise 10-20cm'de 2-1 mm agregat boyutunda (% 59.01) belirlenmiştir. Özdemir ve Canbolat (1997), toprakta 1-10 mm arasındaki suya dayanıklı agregatların bulunmasıyla bitki gelişimi için uygun bir ortamın olacağını belirtmişlerdir. Genel olarak derinliğe bağlı olarak tüm agregat boyutlarında bir azalmanın olduğu görülmektedir. Bu azalma, toprağın organik madde içeriği, agregasyon oluşturuca kanyonların varlığı ya da biyolojik etkenlerin farklılığı gibi birçok faktörün etkisi altında değişim göstermiş olabilmektedir. 2-1 mm agregat boyutuna kadar boyut küçüldükçe agregasyonda da azalış gözlenirken <1 mm boyutunda azda olsa bir artış gözlenmiştir. Bu artışın kil fraksiyonlarının < 1 mm boyutunda ki agregat gruplarında daha fazla miktarda olabileceğinden kaynaklanabilmektedir. Kil miktarının artışıyla birlikte agregat stabilitesinde de artışlar görülmektedir (Yılmaz ve ark., 2005). Negatif yüklü kil tanecikleri suyun dipolar özelliği sayesinde bir araya gelerek flokülasyona neden olmaktadır. Böylelikle yüksek kil içeriği yüksek agregasyona neden olabilmektedir (Nimmo, 2004).

Çizelge 3. Derinliğe bağlı agregat boyutlarındaki değişimin agregasyon (%) üzerine etkisi

Derinlik (cm)	Agregat Boyutu (mm)			
	8-4	4-2	2-1	<1
0-10	64.36a	62.01c	59.88f	60.66e
10-20	63.19b	60.85d	59.01g	59.90f
Varyasyon kaynakları				
Derinlik* Agregat boyutu	P		F	
	0.000		16.42	

Farklı bitki örtüsü koşullarının derinliğe bağlı değişiminin agregasyon üzerine etkisi Çizelge 4'de belirtilmiş olup söz konusu değişim istatistiksel olarak önemli seviyede belirlenmiştir (P<0.01). Agregasyon yüzdesi en düşük (60.24) 10-20cm derinlikte bağ'da, en yüksek ise (62.32) 0-10cm'de elma bahçesinde görülmektedir. Elma bahçesinde bağ'a göre agregasyon yüzdesi daha yüksek belirlenmiş olup bunun sebebinin bağ'a göre elma bahçesinde daha yüksek organik madde ve kireç (Çizelge 1) kaynaklı olmasının yanında diğer kimyasal ve biyolojik etkenler olabilmektedir. Agregatlaşmayı etkileyen diğer bir önemli faktörün toprakların CaCO<sub>3</sub> içeriği olduğunu belirten Yılmaz ve ark. (2005), Ca doyumunun yüksek olması, kolloidler arasındaki bağı ve biyolojik aktiviteyi artırarak stabilizeyi de etkilediğini bildirmiştir (Özbek ve ark., 1995). Ayrıca söz konusu bitki örtüsü koşullarının her birinin kök sistemlerinin farklı olması ve kılcal köklerinde agregasyon üzerinde etkili bir faktör olduğu

düşünülürse bu farklılığın ortaya çıkması beklenen bir durumdur. Söz konusu bitki yönetimlerinde, aynı tip toprak işleme olsa da gerek kök yapısındaki farklılık gerek toprakların bazı kimyasal özelliklerindeki değişimler agregasyon üzerinde etkilidir. Özdemir ve Canbolat (1997) tarafından agregatların stabilitesini; bitki yönetimi, gübreleme, drenaj ile sulama suyu kalitesi gibi parametrelerin etkileyeceğini, mikro agregatların oluşmasında organo-mineral kompleksleri ile polisakaritlerin, makro agregatların oluşumunda ve stabilitesinde ise bitki kökleri, bakteri ve mantar misellerinin oldukça etkili olduğu bildirilmiştir.

Çizelge 4. Farklı bitki örtüsü koşullarının farklı derinliklerde agregasyon (%) üzerine etkisi

Derinlik (cm)	Bağ	Elma
0-10	61.14b	62.32a
10-20	60.24c	61.24b
Varyasyon Kaynakları		
Derinlik*Bitki örtüsü	P	F
	0.001	12.07

#### 4. Sonuçlar

Farklı bitki örtüsü koşullarının (elma bahçesi, bağ) toprak agregasyonu üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada; söz konusu bahçelerden (0-10, 10-20 cm) alınan örnekler agregat boyutlarına (8-4, 4-2, 2-1, <1 mm) ayrılarak toprakların agregasyon yüzdeleri belirlenmiştir. Agregasyon yüzdesi her bir derinlikte bitki örtüsüne bağlı olarak değişim göstermekte olup, bağ'a göre elma bahçesinin agregasyon yüzdelerinin daha yüksek olduğu ve bunun sonucu farklı bitki örtüsü koşullarında toprakların agregasyonlarında değişimlerin olacağı belirlenmiştir. Ayrıca yüzey toprağının (0-10 cm) organik madde içeriğinin yüksek olması agregasyon yüzdesinde artışların bir sebebi olabileceği düşünülmektedir. Çalışma sonucunda daha net bilgilerin elde edilebilmesi adına farklı toprak yönetim ve bitki örtüsü koşullarında, uzun süreli ve agregasyonu etkileyen diğer parametrelerin incelendiği bir çalışmanın yürütülmesi önerilmektedir.

#### Teşekkür

Bu çalışma "3<sup>rd</sup> International Conference on Science, Ecology and Technology (14-16 August, 2017, Rome-Italy)" isimli konferansta sunulmuş ve özet metin olarak basılmıştır.

#### Kaynaklar

- Akgül, M., & Başığit, L. (2005). Süleyman demirel üniversitesi çiftlik arazisinin detaylı toprak etüdü ve haritalanması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(3), 1-10.
- Alaboz, P., Işıldar, A.A., Müjdecici, M., & Şenol, H. (2017). Effects of different vermicompost and soil moisture levels on pepper (*capsicum annuum*) grown and some soil properties. *Yüüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(1), 30-36.
- Alagöz, Z., & Yılmaz, E. (2009). Effects of different sources of organic matter on soil aggregate formation and stability: a laboratory study on a lithic rhodoxeralf from Turkey. *Soil and Tillage Research*, 103(2), 419-424.
- Annabi, M., Le Bissonnais, Y., Le Villio-Poitrenaud, M., & Houot, S. (2011). Improvement of soil aggregate stability by repeated applications of organic amendments to a cultivated silty loam soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 144(1), 382-389.
- Bronick, C. J., & Lal, R. (2005). Manuring and rotation effects on soil organic carbon concentration for different aggregate size fractions on two soils in northeastern Ohio USA. *Soil & Tillage Research*, 81, 239-252.
- Castro Filho, C. D., Lourenço, A., Guimarães, M. D. F., & Fonseca, I. C. B. (2002). Aggregate stability under different soil management systems in a red latosol in the state of parana, Brazil. *Soil & Tillage Research*, 65(1), 45-51.
- Cebel, H., Suat Akgül, S., Doğan, O., & Elbaşı, F. (2013). Türkiye Büyük Toprak Gruplarının Erozyona Duyarlılık "K" Faktörleri. *Toprak Su Dergisi*, 2(1), 30-45.
- Çaliskan, N., Koç, N., Kaya, A., & Senses, T. (1997). Compost Production from Hazelnut Husk. *Acta Horticulturae*, (445), 279-284.



- Dahnke, W. C., & Whitney, D. A. (1988). Measurement of soil salinity. Recommended Chemical Soil Test Procedures for The North Central Region, 221, 32-34.
- Demiralay, İ. (1993). *Toprak Fiziksel Analizleri*. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, 143s, Erzurum.
- Elliott, E.T. (1986). Aggregate structure and carbon, nitrogen and phosphorus in native and cultivated soils. *Soil Science Society of America Journal*, 50(3), 627-633.
- Eraslan, S., İmamoğlu, A., Coşkun, A., Saygın, F., & Dengiz, O. (2016). İnebolu Havzası topraklarının erozyon duyarlılıklarını belirlenmesinde agregat ve strüktür stabilite durumları, Arazi örtüsü ile olan ilişkileri. *Uluslararası Coğrafya Sempozyumu*, 13-14.
- Işıldar, A. 1999. Farklı bitki örtüsü koşullarının toprakların erozyona duyarlılığı üzerine etkileri. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, (3), 665-670.
- Jones Jr, J. B. (1984). A laboratory guide of exercises in conducting soil test, and plant analyses. No. 631, 42 46.
- Kacar, B., (2009). *Toprak Analizleri*. Nobel Yayın Dağıtım, 467s, Ankara.
- Karaman, M. R., Brohi, A. R., Müftüoğlu, N. M., Öztaş. T., & Zengin, M. (2007). *Sürdürülebilir Toprak Verimliliği*. Detay Yayıncılık, Ankara.
- Kumar, S., Kadono, A., Lal, R., & Dick, W. (2012). Long-term no-till impacts on organic carbon and properties of two contrasting soils and corn yields in Ohio. *Soil Science Society of America Journal*, 76(5), 1798-1809.
- Kumar, S., Nakajima, T., Mbonimpa, E. G., Gautam, S., Somireddy, U. R., Kadono, A., & Fausey, N. (2014). Long-term tillage and drainage influences on soil organic carbon dynamics, aggregate stability and corn yield. *Soil Science and Plant Nutrition*, 60(1), 108-118.
- Lehtinen, T., Schlatter, N., Baumgarten, A., Bechini, L., Krüger, J., Grignani, C., Zavattaro, L., Costamagna, C., & Spiegel, H. (2014). Effect of crop residue incorporation on soil organic carbon and greenhouse gas emissions in european agricultural soils. *Soil Use and Management*, 30(4), 524-538.
- Meteoroloji Genel Müdürlüğü (MGM). (2020). <http://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/yillik-toplam-yagis-verileri.aspx#sfU>. Erişim tarihi: 09.04.2020.
- Nimmo, J. R. (2004). Porosity and pore size distribution. In: D Hillel (Eds.), *Encyclopedia of Soils In The Environment*. Elsevier, 3, 295-303, London UK,
- Nweke, I. A., & Nnabude, P. C. (2014). Aggregate size distribution and stability of aggregate fraction of fallow and cultivated soils. *Journal of Experimental Biology and Agri. S.*, 1(5), 14-20.
- Özbek, H., Kaya, Z., Gök, M., & Kaptan, H. (1995). *Toprak Bilimi*. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayın, 73, Adana.
- Özdemir, N., & Canbolat, M.Y., (1997). Toprak strüktürünün oluşum süreçleri ve yönetimi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(3), 413-419.
- Six, J., Feller, C., Deneq, K., Ogle, S., De Moraes Sa, J. C., & Albrecht, A. (2002). Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils-effects of no tillage. *Agronomy*, 22(7-8), 755-775.
- Turgut, B., & Aksakal, E. L. (2010). Fiğ samanı ve ahır gübresi uygulamalarının toprak aşınım parametreleri üzerine etkileri. *Artvin Çoruh University Faculty of Forestry J.*, 11(1), 1-10.
- U.S Salinity Laboratory Staff (1954). *Diagnosis and Improvement of Salina and Alkali Soils*. Agricultural Handbook, 60, U.S.D.A.
- Ülgen, N., & Yurtsever, N. (1988). *Türkiye Gübre ve Gübreleme Rehberi* (3. Baskı). TC Tarım Orman Köy İşleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Genel Yayın, p.121.
- Veiga, M. D., Reinert, D. J., & Reichert, J. M. (2009). Aggregate stability as affected by short and long-term tillage systems and nutrient sources of a hapludox in southern brazil. *Revista Brasileira De Ciência Do Solo*, 33(4), 767-777.
- Yılmaz, E., & Alagöz, Z. (2005). Organik madde uygulamasının toprakta agregat oluşumu ve stabilitesine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(1), 131-138.
- Yılmaz, E., Alagöz, Z., & Öktüren, F. (2005). Toprakta agregat oluşumu ve stabilitesi. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(36), 78-86.
- Zeng, Q., Darboux, F., Man, C., Zhu, Z., & An, S. (2018). Soil aggregate stability under different rain conditions for three vegetation types on the loess plateau (china). *Catena*, 167, 276-283.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

**Antioxidant Properties of *Cichorium intybus* L. (Chicory) Extracts and Their Cytotoxic Effects on HepG2 Cells**

Neşe ERAY<sup>1</sup>, Deniz İrtem KARTAL<sup>\*2</sup>, İsmail ÇELİK<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetic, Van,  
<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-6387-1493> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-9669-5828> <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0003-2199-6348>  
<sup>\*</sup>Corresponding author e-mail: [denizirtem@yyu.edu.tr](mailto:denizirtem@yyu.edu.tr)

**Article Info**

Received: 10.02.2020  
Accepted: 06.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.686993

**Keywords**

*Chicory intybus* L.,  
Cytotoxicity,  
HepG2.

**Abstract:** Chicory (*Cichorium intybus* L.) is a biennial plant belonging to the Asteraceae family. The aim of the study is to reveal the antioxidant capacities and phytochemical profile of the different extracts and to determine the cytotoxic effects of the extracts on liver cancer cell line. *In vitro* antioxidant activity was determined by using DPPH radical scavenging activity assay and total phenolic (TPC) and flavanoid (TFC) contents were measured spectrophotometrically. The cytotoxic effect of the plant on HepG2 cell line was examined by XTT colorimetric assay. The highest extraction yield was obtained from the flower. The highest total phenol content was obtained from the flower methanol extracts and calculated as 186.3±3.281 µg GAE/mg. In both quercetin and catechin standards, total flavonoid contents of the stem and leaf methanol extracts were found to be significantly higher. The IC<sub>50</sub> values of DPPH radical scavenging activities of water and methanolic extracts of the flowers were calculated as 7.5±0.247 mg ml<sup>-1</sup> and 3.593±0.1849 mg ml<sup>-1</sup>, respectively. The IC<sub>50</sub> values of the stem extracts on HepG2 cells were calculated as 0.64 mg ml<sup>-1</sup> for methanol and 2.44 mg ml<sup>-1</sup> for water. The IC<sub>50</sub> values of the leaf extracts were calculated as 2.58 mg ml<sup>-1</sup> for water and 0.69 mg ml<sup>-1</sup> for methanol. As a result, the cytotoxic effects of the methanolic extracts on cell viability were significantly higher than the water extracts of *Chicory intybus* L. It has been demonstrated that, unlike the root of the plant, which is commonly consumed in the public, the stem, leaves and flowers of the plant should be further examined in terms of biological activities.

***Cichorium intybus* L. (Hindiba) Ekstraktlarının Antioksidan Özellikleri ve HepG2 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri**

**Makale Bilgileri**

Geliş: 10.02.2020  
Kabul: 06.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.686993

**Anahtar kelimeler**

*Chicory intybus* L.,  
Sitotoksosite,  
HepG2.

**Öz:** Hindiba (*Cichorium intybus* L.) Asteraceae familyasına ait iki yıllık bir bitkidir. Çalışmadaki amaç, *Cichorium intybus* L. bitkisinin farklı ekstraktlarının sahip olduğu antioksidan kapasiteleri ve fitokimyasal profili belirlemek ve ekstraktların kanserli hücre hattı üzerinde sitotoksik etkilerini ortaya koymaktır. *In vitro* antioksidan aktivite DPPH radikal süpürme metodu kullanılarak belirlenmiştir. Total fenol ve flavonoid içerik spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Bitki ekstraktlarının hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri XTT kolorimetrik analiz ile belirlenmiştir. En yüksek ekstraksiyon verimi, çiçekten elde edilmiştir. En yüksek total fenol içeriği çiçek metanol ekstraktlarında elde edilmiştir ve 186.3±3.281 µg GAE/mg olarak hesaplanmıştır. Hem kuersetin hem de kateşin standartlarında, gövde ve yaprak metanol ekstraktlarının toplam flavonoid içeriği önemli derecede yüksek bulunmuştur. Çiçeğin su ve metanol

ekstraktlarının radikal süpürme aktivitelere ait IC50 değerleri sırasıyla  $7.5 \pm 0.247$  mg/ml ve  $3.593 \pm 0.1849$  mg/ml olarak hesaplanmıştır. HepG2 hücreleri üzerindeki kök ekstraktlarının IC50 değerleri, metanol için 0.64 mg/ml ve su için 2.44 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Yaprak ekstraktlarının IC50 değerleri su için 2.58 mg/ml ve metanol için 0.69 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak, metanol ekstraktlarının hücre canlılığı üzerindeki sitotoksik etkileri su ekstraktlarından önemli ölçüde daha yüksek olmuştur. Halkta yaygın olarak tüketilen bitkinin kök kısmının aksine, bitkinin gövde, yaprak ve çiçeklerinin biyolojik aktiviteleri yönünden incelenmesi gerektiği gösterilmiştir.

## 1. Introduction

As they have been for thousands of years, plants are the basis of traditional medicine and they continue to offer new solutions to humanity. The use of various parts of the plant directly or the active substances derived from them in the treatment of diseases has been defined as the term medicinal plant in the literature. Medicinal plants are of great importance as they are a therapeutic phytochemical source that will allow the development of new drugs (Venugopal and Liu, 2012).

Chicory (*Cichorium intybus* L.) is a two-year plant of the Asteraceae family, with pile root system and relatively flat leaves. The name of the plant comes from Latin and Greek. The name Cichorium is given to the plant because it carries a flower bed and the name of intybus is given due to the hollow stem. Cichorium genus is a genus that can grow in almost any soil. Chicory roots are used in coffee making. The body and leaves of the plant are used for making salads and vegetable dishes. Chicory extracts are used in alcoholic and non-alcoholic beverages. Different parts of Chicory consume in the public as laxative, painkillers and diuretic (Bais and Ravishankar, 2001). Chicory is considered a medicinal plant and different parts of the plant such as root, stem, and flower contain antidiabetic, anticancer, and antiviral chemicals (Street et al., 2013).

Phytochemical analyses show that Chicory contains active substances such as sesquiterpene lactones (lactusin, lactucopyrrin, 8-desoxy lactusin, guaianolid glycosidase), caffeic acid, inulin, flavonoids, alkaloids, volatile compounds, oils, terpenes, coumarins, hydroxycoumarins, proteins vitamins, polynes. Along with all these substances, the plant suggested to have many pharmacological effects such as gastroprotective, cardiovascular, antioxidant, antidiabetic, hypolipidemic, anticancer, hepatoprotective, sedative, wound healing etc. (Al-Snafi, 2016).

Cancer is the uncontrolled or abnormal growth and reproduction of cells as a result of DNA damage to the cells. Cancer can affect different body parts and spread from one organ to another. These conditions are the result of the interaction between a person's hereditary and other carcinogens. The WHO guess that in 2030, there will be 23.6 million new cancer cases each year, with a major increase in the world's less economically developed regions (Wiseman, 2018).

Evidence from many sources, including epidemiological and experimental, shows nutritional factors (diet, physical activity, and the consequent nutritional state including body composition) can reduced cancer incidence (Wiseman, 2018). Vegetables and fruits are excellent cancer-preventive sources. Chemoprevention by edible phytochemicals is now considered a cost-effective, easily applicable, acceptable, and accessible approach to cancer control. Phytochemicals in plants are safe to use, efficient and applicable for cancer prevention. Tumours progression may be inhibited by phytochemicals from fruits, foods and vegetables (Wattenberg, 1966).

Cancer, with its increasing incidence, is the second most common cause of death worldwide. Many studies on cancer both in vivo and in vitro models are needed to understand the biochemical mechanisms of cancer and to establish appropriate treatment protocols. For this purpose, considering the variety of secondary products it contains as indicated in the literature, *Cichorium intybus* L. plant was used in the current study to obtain various extracts from different organs of *Cichorium intybus* L. plant grown in natural environment, to reveal the antioxidant capacities and phytochemical profile of the extracts and to determine the cytotoxic effects of the extracts on cancer cell line.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Plant extraction

*Cichorium intybus* L. was collected from the Van Yüzüncü Yıl University campus on 04.07.2018. The plant was registered on the VANF Herbarium with the number 164208. The collected plants were washed with tap water then with distilled water, dried in a way that they would not be exposed to direct sunlight between the blotter. The dried root, shoot, leaf, flower parts of the plant were then powdered by grinding machine separately.



Figure 1. *Cichorium intybus* L. methanolic extracts.

For preparation of the methyl alcohol and water extracts, using 30 g of dried samples water and methanol extracts were obtained in 250 ml of distilled water and methanol with the aid of a magnetic stirrer for 1 night at 40°C. Then, the samples filtered through a coarse filter. The obtained water extract was frozen at 80°C for 1 night and then dried with the Freeze Dryer instrument. Methyl alcohol extract was evaporated with a rotary evaporator. The residue was dissolved with water and the same procedure was done. The dried samples were weighed and the percentage of yield was determined.



Figure 2. Different organs of *Cichorium intybus* L.

## 2.2. Determination of antioxidant capacity

The antioxidant activity of the extracts was performed based on its ability to bind hydrogen or, in other words, its ability to capture the DPPH radical. DPPH free radical scavenging activity was measured according to the modified version of the Blois method (1958). Quercetin was used as a standard. In short, in 96 well plate, 140  $\mu\text{l}$  of DPPH solution ( $1.6 \text{ mg ml}^{-1}$ ) in ethanol was mixed with 10  $\mu\text{l}$  of plant extracts at different concentrations and incubated for 20 min. The decrease in the absorption of the reaction mixture was monitored spectrophotometrically at 517 nm following the incubation time. According to the results, RSA% were calculated versus final concentrations of the extracts ( $\text{mg ml}^{-1}$ ) and IC50 (50% effective concentration) values determined.

## 2.3. Determination of total phenolic contents (TPC)

The total phenolic content of substances found in Chicory extracts was determined according to the modified form of the method applied by Singleton and Rossi (1965). Gallic acid (10, 50, 100, 150 and 200  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) was chosen as standard and the experiment was adapted to microplate. In the study, 20  $\mu\text{l}$  of the extract and the standards were put in microplate wells, 100  $\mu\text{l}$  of Folin reagent (1:4) was added to them and mixed with pipeting. Then 80  $\mu\text{l}$  of 10% (w/v) sodium carbonate was added on wells and after 30 minutes of incubation at room temperature, absorbance was read against the blank containing 20  $\mu\text{l}$  of ethanol instead of the sample at 750 nm. Using the standard calibration curve created with gallic acid, total phenolic content amounts in each 1 mg extract were calculated as the gallic acid equivalents (GAE).

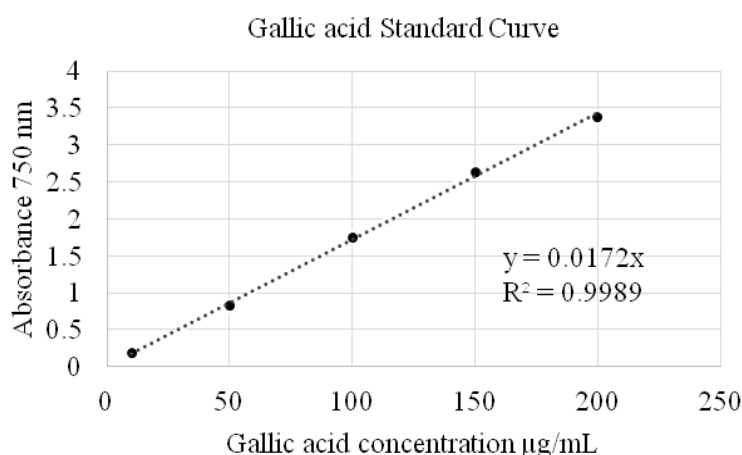


Figure 3. Gallic acid standard curve used in TPC analysis.

## 2.4. Determination of total flavonoid contents (TFC)

Total flavonoid contents in the extracts were determined using protocols reported by Zhishen et al. (1999) with slight modifications. For determination of TFC, Quercetin and Catechin (+) were used as standards. Different concentrations of Quercetin and Catechin (10, 50, 100, 150 and 200  $\mu\text{g/ml}$ ) were dissolved with 99.5% ethanol and used as a standard for TFC determination. The lyophilized extract was dissolved with distilled water different at concentrations. According to the method, 20  $\mu\text{l}$  standard and sample were added to microplate wells containing 80  $\mu\text{l}$   $\text{dH}_2\text{O}$ , then 6  $\mu\text{l}$  of 5%  $\text{NaNO}_2$  were added. After 5 minutes, 6  $\mu\text{l}$  of 10% aluminium chloride ( $\text{AlCl}_3$ ) was added to the wells and after 6 minutes, 40  $\mu\text{l}$   $\text{NaOH}$  (1 M) was added. The total volume was made 200  $\mu\text{l}$  with distilled water. The absorbance was read at 510 and 415 nm using microplate reader. Results were expressed as the quercetin equivalent (QE) and catechin equivalents (CE).

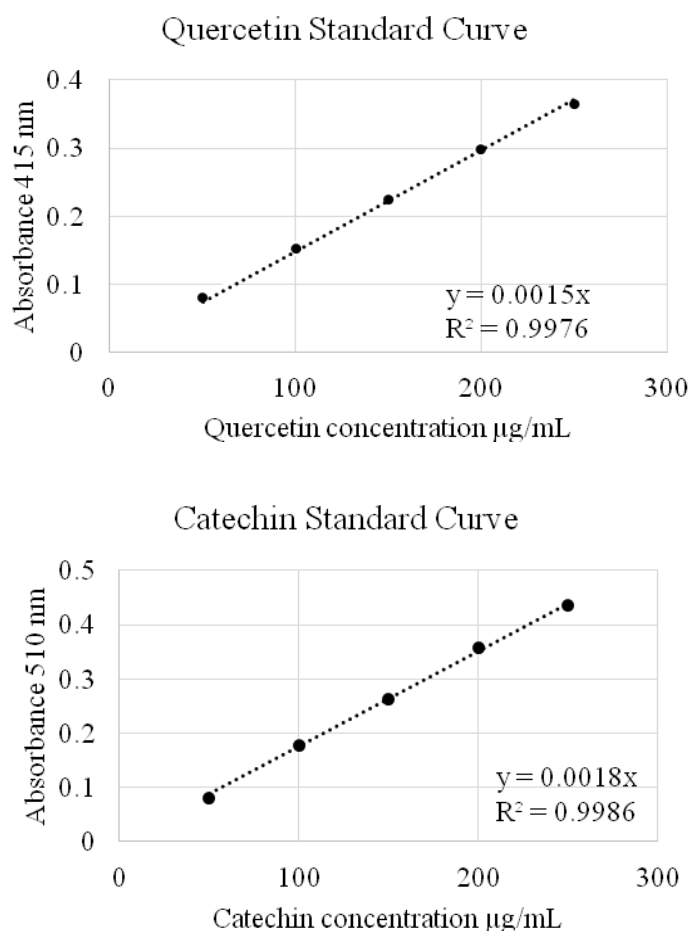


Figure 4. Quercetin and Catechin standard curve used in TFQ/C analysis.

## 2.5. Cytotoxicity

HepG2 (liver cancer cell line) was purchased from ATCC (American Type Culture Collection, LGC Promochem, UK). The cell line was grown in DMEM medium containing 10% FBS (fetal bovine serum) and 0.1% (100 mg ml<sup>-1</sup>) Penicillin/Streptomycin (Pen-Strep), 1% L-Glutamine and 1% Na-Pruvate. The medium is changed every 2-3 days. Cells were grown at 37°C, 95% humidity and 5% CO<sub>2</sub>.

The cytotoxic effects of Chicory (*Cichorium intybus* L.) extracts on the cell line were examined using the Cell Proliferation XTT Kit. In metabolically active cells, the XTT tetrazolium salt is converted to water-soluble, orange formazan with mitochondrial dehydrogenase activity. It is essential to measure the amount of formazan to be formed in this technique. After 24 hours of incubation in the CO<sub>2</sub> incubator, the wells were washed with 50 PBS and the medium was washed twice.

50 µl of fresh medium was added to the wells. 50 µl growth medium was added again for the first row and 50 µl 0.2% DMSO medium was added as control for the second row. With the serial dilution technique, the extracts were diluted in total medium and applied to the cells over 50 µl. It was applied to XTT chemical cells after 48 hours of standing. Six hours after treatment with XTT, the absorbance levels at 415 nm were read. % cell viability was calculated according to the formula below:

$$\text{Total Cells/mL} = (\text{Total Cell Counted} \times \text{Dilution Factor} \times 104) \times \text{number of Squares}$$

## 2.5. Statistical analysis

Statistical analyses were carried out using Graphpad Prism 6. All results are expressed as mean with standard deviations (SD). In the analysis, multiple comparisons were made to create graphics and One-way ANOVA was used. Pairwise comparisons of the plants were analysed using t-test at the 0.05 significance level.

## 3. Results

### 3.1 Extraction

Extraction of different organs of *Cichorium intybus* L. was carried out with methanol and water. The highest extraction yield was observed in the flower organ. The flower was more efficient than the other organs in terms of the water and methanol extract's extraction yield. The yield of the root water and methanol extracts was approximately the same (Table 1).

Table 1. Extraction efficiency of different organs of *Cichorium intybus* L.

Extraction		% Yield
Water Extracts	Root	10
	Shoot	7.95
	Leaf	8.2
	Flower	22.06
Methanol Extracts	Root	9.69
	Shoot	6.56
	Leaf	6.64
	Flower	17.53

### 3.2 Determination of Total Phenolic Content

Gallic acid standard curve was generated for total phenolic analysis. The highest total phenolic content was obtained from the flower methanol extracts. The leaf and stem methanol and water extracts were also found to have high total phenolic content. Both the water and methanol extracts of the root have been shown to contain lower phenolic content than the other organs (Table 2).

Table 2. Total phenolic content (TPC) of *Cichorium Intybus* L. extracts

	Different Plant Extracts TPC ( $\mu\text{g GAE/mg}$ )			
	Root	Shoot	Leaf	Flower
Water	34.14 $\pm$ 0.4754	148.2 $\pm$ 0.7953****	143.9 $\pm$ 0.559****	123.8 $\pm$ 0.8727****
Methanol	96.67 $\pm$ 1.711	144.4 $\pm$ 0.8804****	168.3 $\pm$ 0.7635****	186.3 $\pm$ 3.281****

\*The results are the mean of the triple measurements obtained from three different experiments (n = 3). Comparisons were made between the root and different organs in the same solvent. \* p <0.05, \*\* p <0.01, \*\*\* p <0.001, \*\*\*\* p <0.0001

### 3.3 Determination of Total Flavonoid Content

Quercetin and catechin were used as the standards for the determination of total flavonoid content. In both quercetin and catechin standards, total flavonoid contents of methanol extracts were higher than water extracts. Total flavonoid contents of flower, stem and leaf methanol extracts were found to be higher than the root, especially in the flowers at the highest rate.

Table 3. Quercetin equivalent total flavonoid content of *Cichorium Intybus* L. extracts

Different Plant Extracts TFQ (µg QE/mg)				
Quercetin	Root	Shoot	Leaf	Flower
Water	211.1±2.222	897.8±34.92****	888.9±2.222****	730±5.092****
Methanol	516.7±1.92	1200±42.56****	1171±2.222****	1248±2.94****

\*The results are the mean of the triple measurements obtained from three different experiments (n = 3). Comparisons were made between the root and different organs in the same solvent. \* p <0.05, \*\* p <0.01, \*\*\* p <0.001, \*\*\*\* p <0.0001

Table 4. Catechin equivalent total flavonoid content of *Cichorium Intybus* L. extracts

Different Plant Extracts TFC (µg CE/mg)				
Catechin	Root	Shoot	Leaf	Flower
Water	100±3.208	654.4±10.6****	578.5±4.271****	388.3±5.357****
Methanol	575.6±9.686	680.7±10.45**	891.1±2.222****	550±14.53 <sup>ns</sup>

\*The results are the mean of the triple measurements obtained from three different experiments (n = 3). Comparisons were made between the root and different organs in the same solvent. \* p <0.05, \*\* p <0.01, \*\*\* p <0.001, \*\*\*\* p <0.0001

### 3.3 Determination of Antioxidant Activity

Antioxidant capacity of the plant was determined by DPPH method. The highest antioxidant scavenging activity was observed in the methanol extract of the flower. The flower methanol extract showed two times more antioxidant effect than the water extract. The methanol extracts of the stem, leaf and root are also extracts with high antioxidant scavenging capacity. The root water extract was the least antioxidant organ and solvent. In general, methanol extracts showed higher antioxidant effect than water extracts.

Table 5. IC50 values of *Cichorium Intybus* L. extracts

Different Plant Extracts Antioxidant Activity (mg ml <sup>-1</sup> )				
	Root	Shoot	Leaf	Flower
Water	25.62 ± 0.1009	7.267 ± 0.04509****	15.18 ± 0.7059***	7.5 ± 0.247****
Methanol	6.014 ± 0.4352	4.653 ± 0.061*	6.143 ± 0.5345 <sup>ns</sup>	3.593 ± 0.1849**

\*The results are the mean of the triple measurements obtained from three different experiments (n = 3). Comparisons were made between the root and different organs in the same solvent. \* p <0.05, \*\* p <0.01, \*\*\* p <0.001, \*\*\*\* p <0.0001

### 3.4 Determination of Cytotoxicity

In contrast to the flower organ, leaf and shoot extracts had little difference in phytochemical results in water and methanol extracts that made leaf and shoot preferred for in vitro cytotoxicity studies. Extract concentrations required to kill 50% of cancer cells were determined. The shoot and leaf methanol extracts showed high cytotoxicity in HepG2, hepatocellular carcinoma cell line. The methanol extracts of the mentioned plant parts showed about 4 times more antiproliferative effect than the water extracts. The success of alcoholic extracts with IC50 values below zero was demonstrated in each analysis.

Table 6. Cytotoxic effects of *Cichorium Intybus* L. extracts

Different Plant Extracts Cytotoxic Effects (mg ml <sup>-1</sup> )		
	Shoot	Leaf
Water	2.44	2.58
Methanol	0.64	0.69

## 4. Discussion and Conclusion

The high phenolic and flavonoid content in medicinal plants is associated with their antioxidant activity, and they are particularly involved in the prevention of age-related diseases caused



by oxidative stress. The world market for plant-based chemicals (medicines, perfumes, flavours and colorants) alone exceeds several billion dollars per year (Singh, 2015). The beneficial phytochemicals of medicinal plants, as well as the demand for natural products in the pharmaceutical and cosmetic industries, make research on medicinal plants as essential and important as research on traditional medicines (Azwanida, 2015).

Extraction is an important process for obtaining valuable secondary products in plants. The process can be affected from solid-liquid ratio, particle size, extraction time and solvent type used in the experiment. In current study, solid/liquid extraction technique was used. The highest extraction yield was obtained from the flower methanol extracts. The lowest yield was obtained from the methanol shoot extracts. Most extraction is carried out in alcohol. Phytochemical profile of alcohol extracts was higher than water extracts in the study. A similar trend has been demonstrated in the phytochemical profile of the plant in previous studies (Jasim, 2018).

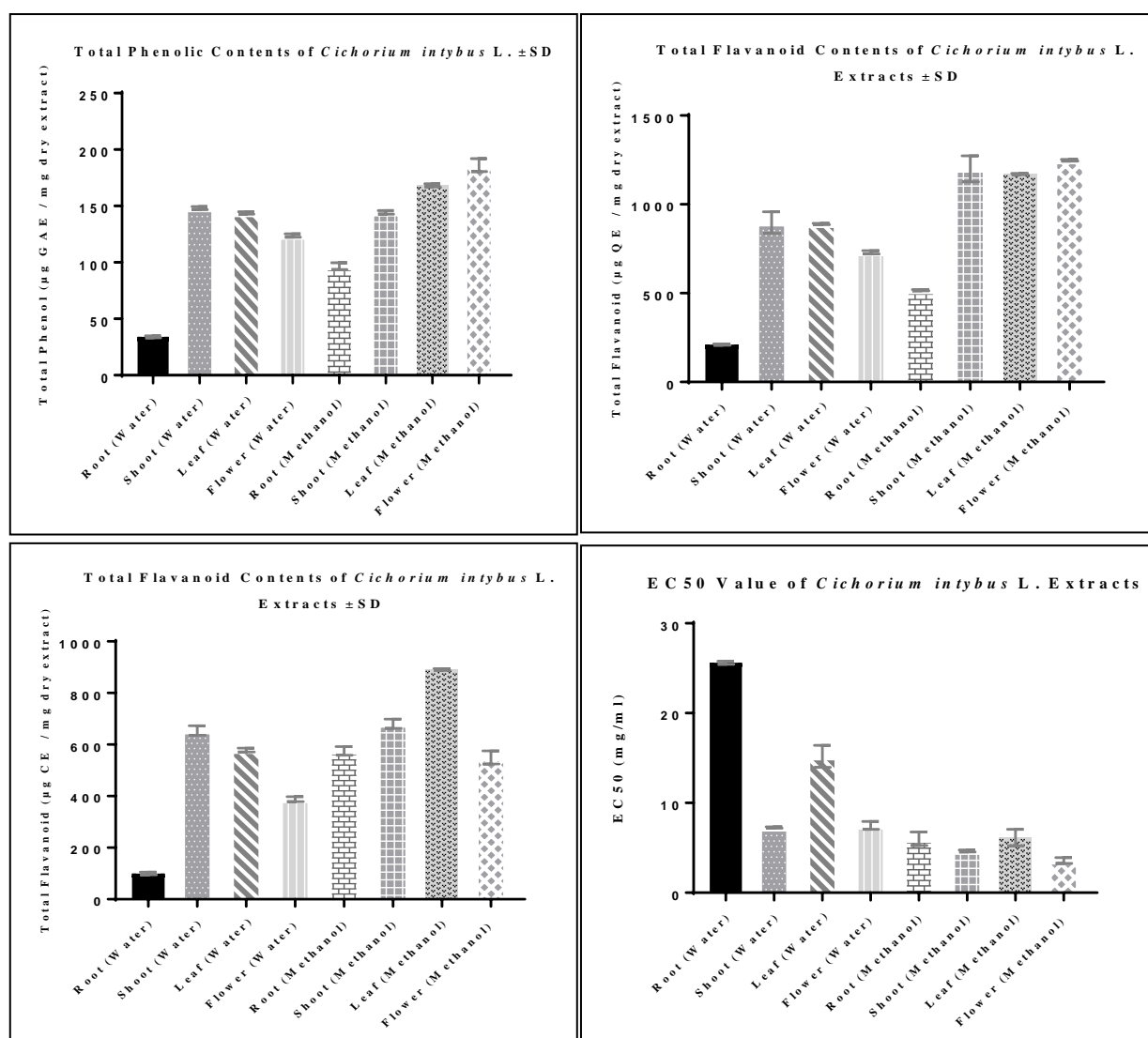


Figure 5. Phytochemical analysis graphs of different organs of *Cichorium intybus* L.

Phenolics are multifunctional because they act as reducing agents, hydrogen atom donors and also singlet oxygen scavengers. In addition, some phenolic compounds have the ability to chelate against transition metals to stimulate free Fenton reactions (Karaman et al., 2010). The antioxidant effects of natural products often arise from the phenolic compounds they contain (Singh, 2015). Therefore, total phenol analysis may also reflect the antioxidant capacity of the substances. In our

study, the plant part with the highest phenolic content was the flower methanol extract. At the same time, the flower methanol extracts had the most antioxidant activity with an IC<sub>50</sub> value of 3.593±0.1849 mg ml<sup>-1</sup>. The results obtained are consistent with the literature. The phenolic content of the stem, leaf and flower were higher in both water and methanol extracts than the root. This is explained by the fact that the secondary metabolites were stored different organs in the plant (Babaoğlu et al., 2001).

Total phenolic, flavonoid, and antioxidant experiments results were inefficient in the root extracts of the plant in the current study. The solvent type and concentration used in the studies effect the extraction process and thus the results. Previous studies also confirmed the insufficiency of the root in terms of phenolic contents and antioxidant effects (Dalar and Konczak (2014). Dalar and Konczak (2014) examined the antioxidant scavenging activity of *Cichorium intybus* L. by FRAP method and showed that the antioxidant activity of the leaves and flower parts were higher than the stem and root.

The water extracts of Chicory plant have been reported to contain tannin, saponin, alkaloid, flavonoid (Nandagopal and Kumari, 2007). Anticancer activities of tannins and saponins have been demonstrated (Yıldırım and Kutlu, 2015) which makes the plant valuable in cancer studies. Cytotoxic effects of water and methanol extracts of leaves and stems were investigated *in vitro* by considering the valuable metabolites of the plant.

*Cichorium intybus* L. caused differentiation into monocyte-macrophage-like cells in human U-937 and HL-60 leukemia cell lines (Lee et al., 2000). Hexane extracts of the aerial parts of the plant showed cytotoxic effect against Jurkat cells (human leukemia cancer cell line) (Saleem et al., 2014). Ethanolic extracts of the plant have been shown to reduce the viability of human breast cancer cell line (MCF7) by 17% (Gospodinova and Krasteva, 2015). In our study, IC<sub>50</sub> values for the stem and leaf methanol extracts on cell viability in HepG2 cell line were determined as 0.64 mg ml<sup>-1</sup> and 0.69 mg ml<sup>-1</sup>, respectively, whereas water extracts of shoot and leaf were found to be 2.44 mg ml<sup>-1</sup> and 2.58 mg ml<sup>-1</sup>, respectively. The smaller IC<sub>50</sub> value, the greater antiproliferative effect of the plant on the cancer cell line. The IC<sub>50</sub> values of water extracts was about 4 times higher than the methanol extracts, indicating the efficiency of methanol extracts on the cancer cell line.

These ratios mean that the plant's stem methanol extract has a cytotoxic effect at a concentration of 0.64 mg ml<sup>-1</sup> and the leaf methanol extract at a concentration of 0.69 mg ml<sup>-1</sup> in 50% of HepG2 cells, In water extracts, the IC<sub>50</sub> value was about 4 times higher. Again, the efficiency of methanol extracts was revealed.

As a result, the different organs of the plant were evaluated phytochemically and it was observed that methanol and water extracts of leaves, stems and flowers contained higher total phenol and flavonoid and showed higher antioxidant activity than the root. Contrary to the flower organ, the difference in phytochemical results of the leaf and stem extracts in water and methanol extracts, made the leaf and stem preferred for *in vitro* cytotoxicity studies. In this respect, the cytotoxic effects of the leaf and stem extracts were investigated. In our study methanol extracts showed cytotoxic effect on cancer cells at a very low concentration. The results needed *in vivo* evaluation of the plant in cancer studies. In the present study, which organs would be more beneficial for human health have been demonstrated. It has been concluded that, due to the different chemical contents of the organs selected in the consumption of medicinal plants, it is important to choose the right organ for seeing the expected pharmaceutical effect.

## Acknowledgment

This work was supported by the Scientific Research Projects Unit of Yuzuncu Yil University (project no: FBG-2018-6165).

## References

- Al-Snafi, A.E. (2016). Medical importance of *Cichorium intybus* – A review. *IOSR Journal Pharmacy*, 6, 41-56.
- Azwanida, N.N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Med. Aromat. Plants*, 4, 1–6.

- Babaoğlu, M., Ekrem, G., & Sebahattin, Ö. (2001). *Bitki Biyoteknolojisi I: Doku Kültürü ve Uygulamaları*. Selçuk Üniversitesi Yayınları, Konya, 374s.
- Bais, H.P., & Ravishankar, G.A. (2001). *Cichorium intybus* L. cultivation, processing, utility, value addition and biotechnology, with an emphasis on current status and future prospects *J. Sci. Food Agric.*, 81 pp. 467-484
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Dalar, A., & Konczak, I. (2014). *Cichorium intybus* from Eastern Anatolia: Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities. *Ind Crop Prod.*; 60, 79–85.
- Gospodinova, Z., & Krasteva, M. (2015). *Cichorium intybus* L from Bulgaria inhibits viability of human breast cancer cells in vitro. *Genet. Plant Physiol.* 5, 15–22.
- Jasim, S.R. (2018). Antioxidant, antimicrobial activities and phytochemical constituents of *Cichorium intybus* L. aerial parts. *International Journal of Botany*, vol. 14, N 1, pp. 24–29.
- Karaman, Ş., Tütem, E., Sözgen, B.K., & Apak, R. (2010). Comparison of Total Antioxidant Capacity and Phenolic Composition of Some Apple Juices with Combined HPLC-CUPRAC Assay. *Food Chem.*, 120(4), 1201–1209.
- Lee, K.T., Kim, J.I., Park, H.J., Yoo, K.O., Han, Y.N., & Miyamoto, K.I. (2000). Differentiation-inducing effect of magnolialide, a 1 $\beta$ -hydroxyeudesmanolide isolated from *Cichorium intybus*, on human leukemia cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*; 23(8), 1005-1007.
- Nandagopal, S. & Kumari, B.D.R. (2007). Phytochemical and antibacterial studies of Chicory (*Cichorium intybus* L.)-A multipurpose medicinal plant. *Advan. Biol. Res.*, 1(1-2), 17-21.
- Saleem, M.K., Abbas, F., Naseer, M., Ahmad, N., Syed, F., Javed, K., Hussain, & S., Asima. (2014). Anticancer activity of n-hexane extract of *Cichorium intybus* on lymphoblastic leukemia cells (Jurkat cells). *African Journal of Plant Science*, 8, 315–319.
- Singh, R. (2015). Medicinal plants: A review. *J Plant Sci.*, 3(1- 1), 50-5.
- Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Street, R.A., Sidana, J., & Prinsloo, G. (2013). *Cichorium intybus*: traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine*,
- Wattenberg, L.W. (1978). Inhibitors of chemical carcinogenesis. *Adv. Cancer Res.* 26, 197–226.
- Wiseman MJ. (2018) Nutrition and cancer: prevention and survival. *Br J Nutr*, 1–7.
- Venugopal, R., & Liu, R.H. (2012). Phytochemicals in Diets for Breast Cancer Prevention: The Importance of Resveratrol and Ursolic Acid. *Food Sci Hum Wellness*, 1, 1-13.
- Yildirim, I. & Kutlu, T. (2015). “Anticancer agents: saponin and tannin,” *International Journal of Biological Chemistry*, vol. 9, no. 6, pp. 332–340.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

**Bazı Ağaç Yapraklarının *in Vitro* Gaz Üretim Tekniğiyle Yem Değerlerinin Belirlenmesi\*\***

**Özlem ÖZDEMİR<sup>1</sup>, Adem KAYA\*<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye

<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-0086-4741> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-7726-6865>

\*Sorumlu yazar e-posta:akaya@atauni.edu.tr

**Makale Bilgileri**

Geliş: 17.04.2020  
Kabul: 07.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.721969

**Anahtar kelimeler**

Gaz üretimi,  
Metan,  
Tanen,  
Yaprak,  
Yem değeri.

**Öz:** Erzurum ilinde doğal olarak yetişen, akasya (*Robinia pseudocacia* L), kayın (*Fagos adsidue*), meşe (*Quercus* L), salkım söğüt (*Salix alba*) ve kavak (*Populus* L) ağaçlarına ait gazel formundaki yaprakların *in vitro* gaz üretim tekniği ile yem değerlerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmada, *in vitro* gaz üretim tekniğinde kullanılan rumen sıvısı 2 yaşlı 2 baş İvesi koçtan temin edilmiştir. Kimyasal kompozisyonlarına ait ortalama değerler bakımından ağaç yaprakları arasındaki farklar önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). En yüksek HP içeriği ve en düşük NDF, ADF ve ADL değerleri akasya yaprağında saptanmıştır. Mevcut çalışmada, ağaç yapraklarına ait 24 saatlik gaz üretimi, ME, NEL, OMS ve metan üretim değerleri sırasıyla 17.33-31.00 ml/200 mg KM, 4.61- 7.03 MJ/kg KM, 3.18-4.53 MJ/kg KM, %35.43-50.02 ve 2.70-3.01 ml/200 mg KM arasında belirlenmiştir. En yüksek ME, NEL ve OMS ile gaz üretimi değerlerine ve en düşük tanen içeriğine kayın yaprağının sahip olduğu belirlenmiştir. En düşük metan ve *in vitro* gaz üretimi meşe yaprağında saptanmıştır. Ağaç yapraklarına ait nisbi yem değerlerinin (NYD) 138.88-278.04 arasında değiştiği ve meşe yaprağı hariç incelenen diğer yaprakların en iyi kaliteye sahip oldukları tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen *in vitro* verilere dayanarak; yeterli miktar ve kalitede kaba yemin temin edilemediği dönemlerde yüksek kondanse tanen içeriğine sahip olan akasya, söğüt ve kavak yapraklarının kaba yem rasyonlarının belli bir kısmını oluşturabileceği, özellikle kayın yaprağının ruminantların beslenmesi açısından iyi bir alternatif yem kaynağı olabileceği belirlenmiştir Ancak, ruminant hayvan beslemede ağaç yapraklarının gerçek besleyici değerlerini belirlemek için *in vitro* çalışmaların yanı sıra *in vivo* çalışmaların da yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

**Determination of Feed Values of Some Tree Leaves by *in vitro* Gas Production Technique**

**Article Info**

Received: 17.04.2020  
Accepted: 07.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.721969

**Abstract:** This study was conducted to determine the feed values of tree ghazel leaves obtained from acacia (*Robinia pseudocacia* L), beech (*Fagos adsidue*), oak (*Quercus* L), bunch willow (*Salix alba*) and poplar (*Populus* L) naturally grown in Erzurum province using *in vitro* gas production technique. In present study, rumen cannulated two Awassi Rams, two years old, were used to get rumen fluid for gas production technique. Differences in terms of chemical compositions among the tree leaves were found to be significant ( $p<0.01$ ). The highest CP and the lowest NDF, ADF and ADL contents were obtained from acacia leaves. In this study, *in vitro* gas production (GP), ME, NEL, OMD and

## Keywords

Gas production,  
Methane,  
Tannin,  
Tree leaves,  
Feed value.

methane gas production values determined at 24 h of incubation of tree leaves were found as 17.33-31.00 ml/200 mg DM, 4.61-7.03 MJ/kg DM, 3.18-4.53 MJ/kg DM, 35.43-50.02% and 2.70-3.01 ml/200 mg DM, respectively. The highest ME, NE<sub>L</sub>, OMD and GP values, and the lowest tannin content were determined for beech leaves. The lowest methane and *in vitro* gas production was determined in oak leaf. Relative feed values of tree leaves (RFV) ranged between 138.88 and 278.04 and it was found that other leaves examined with the exception of oak leaf were of the best quality. As a result, based on the *in vitro* data obtained from this study; acacia, bunch willow and poplar leaves, which have high condensed tannin content, can form a certain part of the roughage rations at times when sufficient amount and quality roughage cannot be obtained, and especially beech leaves may be used in ruminant rations as an alternative feed source to roughage. But, more *in vivo* studies together with *in vitro* researches are required to determine the actual nutritive value of tree leaves for ruminant animals.

\*\*The article was extracted from the master thesis prepared by Özlem ÖZDEMİR under the guidance of Assoc. Prof. Dr. Adem KAYA

## 1. Giriş

Ülkemizde hayvancılıkla ilgili olarak en önemli problem ucuz ve kaliteli yem ihtiyacının karşılanmasıdır (Gemalmaz ve Bilal, 2016). Dünyada ve ülkemizde hayvancılık işletmelerindeki giderlerin büyük bir kısmını yem giderleri oluşturduğundan karlı bir hayvancılık için ucuz yem kaynaklarının kullanımı büyük önem kazanmış ve alternatif olabilecek kaba yem kaynaklarının kullanımı gündeme gelmiştir. Bu nedenle ruminantların beslenmesinde önemli bir yeri olan çayır ve meralar ön plana çıkmaktadır (Dökülgen ve Temel, 2015). Ülkemizde tarıma açılmış olan çayır ve mera alanları 1950'lilerde 40 milyon hektar iken günümüzde 12 milyon hektar civarındadır. Diğer taraftan da azalan çayır mera alanları aşırı ve düzensiz bir şekilde otlatılmaları sonucu ağır tahribata uğramış, verimliliğini kaybederek erozyona maruz kalması sonucu ülke hayvancılığı için gerekli olan kaba yem ihtiyacını karşılayamayacak duruma geldiği bildirilmektedir (Anonim, 2018). Özellikle ruminant hayvanların beslenmesinde kullanılan kaba yemler, rumendeki mikrobik ekosistemin dengede kalabilmesi ve devamlılığı için gerekli olan besin maddelerini ihtiva etmektedir. Kaba yemler sindirim sistemi fonksiyonlarının devamlılığı ve beslemeyle ilgili çok sayıda metabolik hastalıkların önüne geçilmesi için gereklidir. Ayrıca hayvanların performansını olumlu anlamda etkileyerek hayvansal ürünlerin kalitesini artırması ve ucuz bir yem materyali olması gibi özelliklerinden dolayı ruminant rasyonlarında mutlaka kullanılması gereken yem hammaddeleridir (Alçıçek ve Karaayvaz, 2003). Gelecekte çevresel değişikliklere bağlı olarak yem kaynaklarının kısıtlanacağı, bu dönemlerde hayvanların beslenmesinde kültürü yapılan yem bitkileri yerine ormanlık alanlar, çalı ve ağaç türleri gibi doğal kaynakların kullanılabilmesi bildirilmektedir (Atasoglu ve ark., 2010). Özellikle kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde ruminant hayvanların beslenmesinde kullanılan ve sindirim fonksiyonlarının normal işleyişi için zorunlu olan kaba yemlerin yetersiz olduğu durumlarda, çalı ve ağaç türlerinden sağlanan yapraklar ilave besin ve kaba yem kaynağı olarak kullanılabilmesi çok sayıda araştırmacı tarafından vurgulanmıştır (Temel ve Kır, 2015).

Kaba yemler sınıfında yer alan ağaç yaprakları hayvancılık işletmelerinin bünyesinde veya etrafında yetişen çeşitli ağaçlardan sağlanabilecek materyallerdir. Özellikle koyun ve keçiler ağaç yapraklarını çok severek tüketmektedirler. Ağaç yapraklarında mevcut tanen içeriğinin yüksek olması nedeniyle zehirlenmelere yol açabileceği, bu yüzden yem kaynağı olarak kullanılırken bu bağlamda dikkatli olunması gerektiği bildirilmektedir (Balıkcı ve Gürdoğan, 2003). Tanen ve saponin gibi fenolik madde içeriği yüksek bazı ağaç dal, yaprak ve meyvelerinin rumende azot metabolizmasını olumlu yönde etkilediği, tanenlerin rumende metan oluşumunu azalttığı ve proteinleri yıkıma karşı koruduğu bildirilmiştir (Kutlu ve Serbester, 2014).

Bu çalışma, Erzurum ilinde doğal olarak yetişen, akasya (*Robinia pseudocacia* L), kayın (*Fagos adsidue*), meşe (*Quercus* L), salkım söğüt (*Salix alba*) ve kavak (*Populus* L) ağaçlarına ait gazel formundaki yaprakların *in vitro* gaz ve metan üretim değerleri ile ME, NEL, OMS ile tanen içeriklerinin belirlenmesi ve söz konusu ağaç yapraklarının yem değeri ve tanen içerikleri de dikkate

alınarak ruminant beslemede kaba yemlere alternatif kaynak olup olmayacaklarının tespit edilmesi amacıyla yürütülmüştür.

## 2. Materyal ve Yöntem

Bu araştırma için gerekli etik kurul onayı Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan alınmıştır (29.12.2017 tarih ve 2017/6 sayılı karar).

Araştırmada kullanılan gazel formundaki ağaç yaprakları Erzurum ili Yakutiye merkez ilçesinde doğal olarak yetişen akasya (*Robinia pseudocacia* L), kayın (*Fagos adsidue*), meşe (*Quercus* L), salkım söğüt (*Salix alba*) ve kavak (*Populus* L) ağaçlarından Ekim ayı sonunda her biri için beşer ağaçtan olacak şekilde temin edilmiştir. *In vitro* gaz üretim tekniği için gerekli rumen sıvısı, ortalama 55 kg ağırlığında, yaklaşık 24 aylık yaşta, rumen kanülü takılmış iki adet İvesi koçtan temin edilmiştir. Rumen sıvısının niteliğinin belirli sınırlar içerisinde tutulması için deneme hayvanları 15 gün önceden başlanarak kaba/kesif yem oranı % 60/40 olacak şekilde ayarlanmış, 600 gr kuru yonca (%17.8 HP, 1.98 Mcal/kg KM) ve 400 gr arpadan (%12.4 HP, 2.92 Mcal/kg KM) oluşan rasyonlarla yaşama payının 1.25 katı düzeyinde beslenmişlerdir. Hayvanlara içme suyu ad-libitum olarak sağlanmış, yemleme ise sabah 08:00 ve akşam 16:00'da olmak üzere günde iki öğün şeklinde yapılmıştır.

### 2.1. Kimyasal analizler ve *in vitro* gaz üretim tekniği

Toplanan yaprak örnekleri laboratuvar şartlarında 1 hafta süreyle kurutulduktan sonra etüvide 60°C sıcaklıkta 24 saat bekletilmiş ve daha sonra kimyasal analizler ve *in vitro* gaz üretim parametrelerinin belirlenmesi amacıyla 1 mm elekten geçecek şekilde öğütülmüştür. Ağaç yapraklarında kuru madde (KM), ham kül (HK), ham selüloz (HS), ham protein (HP), ham yağ analizleri AOAC (2005)'e, nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF), asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF) ve asit deterjan lignin (ADL) içerikleri ise Van Soest ve ark. (1991) tarafından bildirilen yöntemle göre ANKOM 200 Fiber Analyzer cihazında belirlenmiştir. Ağaç yapraklarının kondense tanin içerikleri Makkar ve ark. (1995)'nin bildirdiği yöntemle göre saptanmıştır.

Ağaç yapraklarına ait Nisbi yem değeri, kuru madde alım yüzdesi (%KMA) ve kuru madde sindirilebilirliği (KMS) aşağıdaki eşitlikler yardımıyla hesaplanmıştır.

$$NYD = \% SKM \times \% KMA \times 0.775$$

$$\% KMS = 88.9 - (0.779 \times \% ADF)$$

$$\% KMA = 120 / NDF$$

Araştırmada, Menke ve Steingass (1988)'nin bildirdiği gaz üretim tekniği kullanılmıştır. Bu metotta örnekler laboratuvar şartlarında 24 saat süreyle rumen sıvısında inkübasyona bırakılarak gaz üretim miktarları belirlenmiştir. Gaz üretimi üç tekerrürlü olarak yapılmıştır. Gaz üretimi sonucu elde edilen 24 saatlik gaz üretim değerleri ile yemlerin besin madde kompozisyonları kullanılarak metabolik enerji (ME), net enerji laktasyon (NEL) değerleri ve *in vitro* organik madde sindirimi (İVOMS) aşağıdaki eşitlikler kullanılarak saptanmıştır.

$$ME (MJ/kg KM) = 2.20 + 0.136GP + 0.0057HP + 0.00029HY2$$

$$NEL (MJ/kg KM) = 0.101 GÜ + 0.051 HP + 0.112 HY$$

$$OMS (\%) = 14.88 + 0.889GÜ + 0.45HP + 0.0651HK$$

OMS: Organik Madde Sindirim Derecesi(%)

GÜ: 24 saatte üretilen Gaz miktarı (ml); HP: Yem örneklerindeki ham protein (g/kg KM); HY: Yem örneklerindeki ham yağ (g/kg KM); HK: Yem örneklerindeki ham kül içeriği (g/kg KM).

İnkübasyon sonunda oluşan gaz içerisindeki metan yüzdeleri bilgisayar destekli metan gazı ölçüm cihazıyla (Sensors Europe Analysentechnik GmbH, Erkath, Germany) tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmadan elde edilen veriler SPSS 13.0 (2004) paket programında varyans analizine tabi tutulmuştur. Gruplara ait ortalamaların karşılaştırılmasında ise Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

### 3. Bulgular

Araştırmada kullanılan akasya (*Robinia pseudocacia* L), kayın (*Fagos adsidue*), meşe (*Quercus* L), salkım söğüt (*Salix alba*) ve kavak (*Populus* L) yapraklarının besin madde kompozisyonları ve kondanse tanen içerikleri Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Ağaç yapraklarının kimyasal bileşimi (Kuru Maddede %) ve kondanse tanen (KT %) içerikleri

	KM	HK	HP	HY	ADF	NDF	ADL	KT
Akasya	92.09 <sup>b</sup>	12.17 <sup>b</sup>	10.43 <sup>a</sup>	4.31 <sup>a</sup>	16.15 <sup>c</sup>	25.53 <sup>d</sup>	6.06 <sup>c</sup>	13.87 <sup>a</sup>
Kavak	91.47 <sup>c</sup>	15.98 <sup>a</sup>	5.37 <sup>c</sup>	3.09 <sup>c</sup>	19.42 <sup>b</sup>	32.73 <sup>c</sup>	7.04 <sup>bc</sup>	12.21 <sup>a</sup>
Kayın	95.40 <sup>a</sup>	10.64 <sup>c</sup>	6.75 <sup>bc</sup>	3.85 <sup>ab</sup>	24.99 <sup>a</sup>	38.22 <sup>b</sup>	9.19 <sup>ab</sup>	1.38 <sup>b</sup>
Meşe	79.21 <sup>d</sup>	8.09 <sup>d</sup>	10.26 <sup>a</sup>	3.34 <sup>bc</sup>	26.45 <sup>a</sup>	45.88 <sup>a</sup>	11.24 <sup>a</sup>	2.63 <sup>b</sup>
Söğüt	91.44 <sup>c</sup>	12.49 <sup>b</sup>	7.88 <sup>b</sup>	3.25 <sup>bc</sup>	19.94 <sup>b</sup>	37.87 <sup>b</sup>	10.51 <sup>a</sup>	12.91 <sup>a</sup>
SEM	0.40	0.44	0.65	0.20	0.46	1.55	0.84	0.73
P	0.000	0.000	0.001	0.009	0.000	0.000	0.006	0.000

<sup>a,b,c,d</sup>; Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir. P<0.05. KM: kuru madde (%), HK: Ham kül (%), HP: Ham protein (%), HY: Ham yağ (%), NDF: Nötral deterjan fiber (%), ADF: Asit deterjan fiber (%), ADL: Asit deterjan lignin(%), KT: Kondanse tanen (%).

Çalışmada ele alınan ağaç yapraklarının söz konusu parametrelere ait ortalama değerleri önemli derecede farklı bulunmuştur. Rumen sıvısıyla inkübasyona bırakılan ağaç yapraklarının 24 saatlik gaz üretim değerleri incelendiğinde en fazla gaz üretiminin (35.33 ml/200 mg KM) kayın yapraklarında meydana geldiği bulunmuştur. En düşük gaz değeri ise (17.33 ml/200 mg KM) meşe yapraklarında tespit edilmiştir (P<0.05). Bunu sırasıyla kavak > söğüt > akasya takip etmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Ağaç yapraklarına ait *in vitro* gaz ve metan üretimleri ile *in vitro* organik madde sindirilebilirlik, metabolik enerji ve net enerji laktasyon içerikleri

	Gaz ml/ 200mg KM	Metan (%)	Metan ml	ME MJ/kg KM	NE <sub>L</sub> MJ/kg KM	İVOMS (%)
Akasya	20.33 <sup>d</sup>	14.83 <sup>ab</sup>	3.01 <sup>c</sup>	5.02 <sup>cd</sup>	3.90 <sup>b</sup>	38.45 <sup>c</sup>
Kavak	31.00 <sup>b</sup>	14.73 <sup>ab</sup>	4.57 <sup>b</sup>	6.44 <sup>b</sup>	3.99 <sup>b</sup>	45.89 <sup>b</sup>
Kayın	35.33 <sup>a</sup>	15.30 <sup>a</sup>	5.41 <sup>a</sup>	7.03 <sup>a</sup>	4.53 <sup>a</sup>	50.02 <sup>a</sup>
Meşe	17.33 <sup>e</sup>	15.53 <sup>a</sup>	2.70 <sup>c</sup>	4.61 <sup>d</sup>	3.18 <sup>c</sup>	35.43 <sup>d</sup>
Söğüt	23.33 <sup>c</sup>	14.07 <sup>b</sup>	3.28 <sup>c</sup>	5.41 <sup>c</sup>	3.93 <sup>b</sup>	39.98 <sup>c</sup>
SEM	0.94	0.29	0.19	0.13	0.08	0.89
P	0.000	0.036	0.000	0.000	0.000	0.000

<sup>a-c</sup>; Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). ME: Metabolik enerji, NEL: Net enerji laktasyon, İVOMS: İn vitro organik madde sindirimi.

Yemin NDF içeriğinden hesaplanan ve 100 indeksini baz alan nispi yem değeri (Relative Feed Value, RFV) indeksine göre 150’nin üzerinde hesaplanan yemler en iyi kalite, 125-150 arasında hesaplanan yemler 1. kalite, 103-124 arasında hesaplanan yemler 2. kalite, 87-102 arasında hesaplanan yemler 3. kalite, 75-86 arasında hesaplanan yemler 4. kalite ve 75’in altında hesaplanan yemler 5. kalite olarak kabul edilmektedir (Redfearn ve ark., 2006). Ancak bu indekste kaba yemlerin sindirilebilir kuru madde yüzdesi (SKM) ve kuru madde alım yüzdesinin (KMA) aynı kabul edilmesi, NYD’nin hesaplanmasında sadece ADF ve NDF değerlerinin dikkate alınması ve NYD indeksinin rasyon hesaplamalarında veya değerlendirilmesinde kullanılmaması gibi dezavantajlara sahiptir (Gürsoy ve Macit, 2017). Gazel formdaki ağaç yaprakların sindirilebilir kuru madde yüzdesi, kuru madde alımı ve NYD değerleri Çizelge 3’te verilmiştir. Relative Feed Value indeksine göre ağaç yapraklarından meşe yaprağının 1. kalite, diğerlerinin ise en iyi kalite sınıfına girdiği tespit edilmiştir. En yüksek ortalama kuru madde alımı (KMA) ve sindirilebilir kuru madde yüzdesi (SKM) akasya yapraklarında, en düşük değer ise meşe yapraklarında tespit edilmiştir (P<0.05).

Çizelge 3. Ağaç yapraklarına ait kuru madde sindirimi, kuru madde alımı ve nispi yem değerleri

	KMA	SKM	NYD
Akasya	4.70 <sup>a</sup>	76.32 <sup>a</sup>	278.04 <sup>a</sup>
Kavak	3.67 <sup>b</sup>	73.77 <sup>b</sup>	209.78 <sup>b</sup>
Kayın	3.14 <sup>c</sup>	69.43 <sup>c</sup>	168.97 <sup>c</sup>
Meşe	2.62 <sup>c</sup>	68.29 <sup>c</sup>	138.88 <sup>d</sup>
Söğüt	3.21 <sup>b</sup>	73.37 <sup>b</sup>	182.48 <sup>c</sup>
SEM	0.13	0.36	8.03
P	0.000	0.000	0.000

<sup>a-d</sup>: Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). KMA: Kuru madde alımı, SKM: Sindirilebilir kurumadde, NYD: Nispi yem değeri.

Araştırma da kullanılan gazel ağaç yapraklarının kimyasal kompozisyon ile OMS, ME, NEL, KMS, KMT, NYD, metan ve gaz üretimi arasındaki korelasyonlar Çizelge 4'te verilmiştir. Gazel formda toplanan ağaç yapraklarının HP seviyelerindeki azalma ve 24. saatte ürettikleri gaz miktarının artması nedeniyle ME, OMS, SKM, KMA arasında negatif korelasyon saptanmıştır (P<0.05). Çalışmada kullanılan yapraklarda NDF, ADF ve ADL ile ME, NEL, İVOMS, KMA ve NYD arasında negatif bir korelasyon belirlenmiştir (P<0.05). Bazı ağaç yapraklarında tanen miktarının yüksek olmasından dolayı gaz üretimi, metan üretimi, İVOMS ve ME arasında negatif ilişki saptanmıştır.

Çizelge 4. Ağaç yapraklarına ait kimyasal kompozisyon ile İVOMS, ME, NEL, SKM, KMA, NYD, metan ve gaz üretim değerleri arasındaki korelasyonlar

	KM	HK	HP	HY	ADF	NDF	ADL	KT
İVOMS	0.707**	0.405	-0.706**	-0.009	0.096	-0.124	-0.197	-0.231
ME	0.689**	0.422	-0.769**	-0.074	0.101	-0.110	-0.191	-0.216
NEL	0.913**	0.388	-0.502	0.281	-0.181	-0.365	-0.322	-0.012
SKM	0.507	0.672**	-0.027	0.257	-1.000**	-0.904**	-0.720**	0.934**
KMA	0.528*	0.485	0.068	0.523*	-0.893**	-0.979**	-0.870**	0.713**
NYD	0.516*	0.503	0.078	0.500	-0.917**	-0.976**	-0.854**	0.751**
GÜ ml	0.689**	0.425	-0.774**	-0.078	0.100	-0.111	-0.192	-0.214

ME: Metabolik enerji (MJ kg KM); NEL: Net enerji laktasyon (MJ kg KM); İVOMS: İn vitro organik madde sindirimi (%); SKM: Sindirilebilir kuru madde yüzdesi (%); KMA: Kuru madde alımı (kg), NYD: Nispi yem değeri, GÜ:24 saatlik *in vitro* toplam gaz üretimi (200 mg/ml) ; \*:P<0.05; \*\*: P<0.01.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Sevim ve Sarı (2014) meşe yaprağının HP oranını %8.38 olarak rapor ettiği çalışma sonuçları mevcut çalışmadan meşe ağacı yaprağıyla ilgili elde edilen HP değerleri benzerlik göstermektedir. Zebari (2015) söğüt, akasya ve meşe ağaç yapraklarının HP ve HK değerlerini sırasıyla %15.82 ve 6.06, %19.93 ve 14.74, %10.32 ve 8.16 olarak bildirmiştir. Meşe yaprağı için tespit edilen HP ve HK değerleri Zebari (2015)'in meşe yaprağı için bildirdiği değerlerle benzer, söğüt ve akasya yaprakları için bildirdiği HP değerlerinden düşük, HK değerlerinden ise yüksek bulunmuştur. Genel olarak 100-120 g HK / kg KM içeren akasyaların, ham kül içeriklerinin normal düzeyde olduğu, ham kül içeriğinin %17'nin üzerinde olması durumunda ise herhangi bir nedenden dolayı kirlenmiş olabileceği bildirilmiştir (Kılıç ve Sarıççek, 2006). Denek ve ark. (2014) akasya yaprağı için, %94.29 KM, %39.31 HP, %15.48 ADF, %22.71 NDF değerlerini bulmuşlardır. Mevcut çalışmadan elde edilen bulguların KM, ADF ve NDF değerleriyle benzer, HP değerinden ise düşük olduğu görülmüştür. Yemlerin içerisinde bulunan hücre duvarı unsurlarından NDF, ADF ve ADL'nin düşük olması istenmektedir. Yüksek verimli süt sığırlarından optimum düzeyde verim alabilmek için kuru madde esasına göre rasyonlarının %25-32 arasında NDF, %19-25 arasında da ADF içermesi gerektiği, bu oranların üzerine çıkılması durumunda rumendeki ortamın selülotik mikroorganizmalar yönüne doğru kayarak metan üretiminin artacağı bildirilmektedir (Tekce ve Gül, 2014). Mevcut çalışmada kullanılan ağaç yapraklarına ait ADF ve NDF değerlerinin, süt sığırı rasyonlarında arzu edilen düzeyde ADF ve NDF sağlayabilecek miktarlarda olduğu tespit edilmiştir.

Tanenlerin enterik metan oluşumunu azaltıcı etkisinin, selülozu parçalayan rumen mikroorganizmalarının gelişimini olumsuz yönde etkileyerek asetik asit üretimini azaltmak suretiyle



metan üretimi için gerekli olan karbondioksit ve hidrojen iyonu üretimini sınırlayıcı etki göstermesinden dolayı olduğu ifade edilmektedir (Patra ve Saxena, 2009). Mevcut çalışmada ele alınan ağaç yapraklarından özellikle akasya ve söğüte ait yüksek tanen içeriklerinin bu ağaç yapraklarının *in vitro* gaz ve metan (ml) üretimi ile İVOMS değerlerinin düşmesine neden olduğu söylenebilir. Ayrıca, selülozu parçalayan mikroorganizmalar üzerinde baskılayıcı etki oluşturarak asetatin meydana gelişini de düşürürler. Bu da metan gazının oluşumu için gerekli olan hidrojen iyonları ile karbondioksitin üretimini sınırlamaktadır (Goel ve ark., 2008). Carulla ve ark. (2005), bitkilerde bulunan tanenleri yeterli düzeyde kullanıldığında rumende yıkımlanan protein miktarında azalma, duodona geçen protein miktarında ise artışın olduğunu tespit etmişlerdir. Denek ve ark. (2014) akasya yaprağında tanen miktarının (174.03 g/kg KM) fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Kamalak ve ark. (2015) meşe yaprağının tanen miktarını %9.22 olarak bildirirken, Sevim ve Sarı (2014) bu değeri %9.61 olarak rapor etmiştir. Oruç ve Avcı (2018) ise söğüt yapraklarının tanen miktarını 105 g/kg KM olduğunu bildirmişlerdir. Bu farklılıklar yaprağın türü, hasat formu (yeşil veya gazel), ağaç yapraklarının temin edildiği lokasyonun coğrafik yapısından veya yapraklara uygulanan fiziksel muamelelerden kaynaklanmış olabilir.

Gaz üretim tekniği çalışmalarında rumen sıvısının alındığı hayvanlara verilen yemler ve yemleme şekilleri ile açlık süresi rumen aktivasyonunu etkilememekte, fakat oluşan gaz üretimi üzerinde etkili olmaktadır. Kayın ağacı yapraklarında metan üretimindeki artışın gaz üretimindeki artıştan ve düşük tanen içeriğinden ileri geldiği düşünülmektedir. Daha önce yapılmış farklı bir çalışmada Soltan ve ark. (2012) metan üretimini üzerine sadece tanenlerin değil aynı zamanda yem maddelerinin NDF içeriğinin de etkili olduğunu, ayrıca NDF içeriklerinin yüksek veya düşük olmasının gaz üretimini artırıp azaltacağıyla ilgili bir şey söylemenin her zaman mümkün olamayacağını bildirmişlerdir.

Gazel formdaki yaprak örneklerinde en yüksek CH<sub>4</sub> gazı üretimi (5.41 ml/g KM) kayın yapraklarında tespit edilmiştir. Bunu kavak>söğüt=akasya=meşe izlemiştir. Toplam gaz içerisindeki oranlarına göre metan üretim değerleri en yüksek meşe ve kayın yapraklarında (%15.53 ve 15.30) tespit edilmiştir. Kamalak ve ark. (2015)'nin, meşe yaprağının *in vitro* gaz ve metan üretim miktarlarıyla ilgili bildirdikleri sonuçlarla mevcut araştırmadan elde edilen bulgular uyum içerisinde.

Denek ve ark. (2014) akasya, biberiye, okaliptüs ve asma yapraklarıyla yürüttükleri çalışmalarında, 24 saatlik *in vitro* toplam gaz oluşumundaki en düşük metan oranını biberiye yapraklarında tespit etmişler ve bunu sırasıyla okaliptüs ve akasya yapraklarından elde edilen değerlerin takip ettiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca, Oruç ve Avcı (2018) söğüt yaprağının içerdiği tanen seviyesi metan üretimini düşürebilecek seviyede olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarında rasyona ekledikleri farklı seviyelerde söğüt yapraklarının düzeyine bağlı olarak toplam gaz içerisindeki metan oranının %14.51 ile 27.70 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Bildirişler mevcut çalışmada söğüt yapraklarından elde edilen sonuçla benzerlik göstermiştir. Söğüt yapraklarının bünyesinde bulunan tanenlerin ve aktif bileşenlerinin antimikrobiyel etkisi ile metan gazı ve *in vitro* gaz üretimini sınırladığı bildirilmektedir (Benchaar ve ark., 2007). Söğüt yaprağına ait *in vitro* metan üretimi ve içerdiği tanen miktarıyla ilgili değerler Zebari (2015) ile Oruç ve Avcı (2018)'nin bildirdiği bulgularla benzerlik göstermiştir. Gaz üretim tekniği ile üretilen gaz miktarlarından faydalanarak hesaplanan gazel formdaki ağaç yapraklarının organik madde sindirilebilirliği (OMS), metabolik enerji (ME) ve net enerji laktasyonu (NEL) için en düşük değer (%35.43, 4.61, 3.18) meşe yapraklarında tespit edilirken, en yüksek değer (%50.02, 7.03, 4.53) kayın yaprağında belirlenmiştir.

Denek ve ark. (2014) akasya yaprağı için ME değerini 7.25 MJ/Kg KM olarak tespit etmişlerdir. Oruç ve Avcı (2018) bazı rasyonlara söğüt yaprağı ilavesinin ME seviyesini artırdığını tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmadan elde edilen bulgular, Kamalak ve ark. (2015)'nin meşe yapraklarında ME ve OMS için bildirdikleri 6.65 MJ/kg KM ve %47.05 sonuçlardan düşük, Ventura ve ark. (2004)'nin akasya yapraklarında OMS ve NEL için tespit ettikleri %33.0-47.6 ve 2.9-4.0 MJ/kg KM arasında değişen değerlerle uyum içerisinde olmuştur.

Ağaç yapraklarının SKM, KMA ve NYD içerikleri incelendiğinde, akasya yaprağı en düşük İVOMS'ne sahip olmasına rağmen, nispi yem değeri bakımından en yüksek kaliteyi göstermiştir. Bu durum nispi yem değerinin hesaplanmasında sadece NDF ve ADF değerlerinin dikkate alınmasından kaynaklanmıştır. Kuru madde tüketimi ve sindirimi üzerinde ADF ve NDF değerinin etkisi bulunduğu ADF değerinin düşük olması SKM yüzdesini arttırmıştır. Ağaç yapraklarının NYD ile

ilgili elde edilen bulgular, Dökülgen ve Temel (2015)'in karaçalı yaprakları için bildirdiği değerlerden yüksek olarak tespit edilmiştir. Yemler arasında ham protein (HP), ham selüloz (HS), ham kül (HK), nitrojensiz öz maddeler (NÖM) gibi besin maddeleri bakımından meydana gelen farklılıklar *in vitro* gaz üretimini ve bunlardan yararlanılarak hesaplanan parametreleri önemli düzeyde etkilediği bildirilmektedir. Yemlerin gaz üretiminde meydana gelen azalma HP ve HY içeriklerinin artmasından ileri geldiğine atfedilmektedir (Menke ve Steingass 1988). Mikrobiyal ekosisteme ait faaliyetlerin normal olarak devamlılığı için gerekli olan HP seviyesinin altında HP ihtiva eden yemler, mikrobiyal ekosistemin dengesini bozarak mikrobik aktivitenin azalmasına sebep olacak ve böylelikle gaz üretiminde bir düşme meydana gelecektir. Mevcut çalışmada, NDF, ADF ve ADL gibi rumende çözünmesi zor besin maddelerinin, mikrobik fermentasyonu sınırlayarak OMS düzeyini düşürdüğü düşünülmektedir. Yemlerin ADF ve NDF düzeyleri ile gaz üretimi arasında, mikrobiyal faaliyetin azalması nedeniyle negatif bir ilişki olduğu bilinmektedir (Abdulrazzak ve ark. 2000). Ayrıca başka bir çalışmada, gaz üretimi ile HP arasında pozitif, NDF, ADF ve ADL arasında negatif korelasyonlar bulunduğu bildirilmiştir (Aydın ve ark. 2007). Gazel formdaki ağaç yapraklarının OMS, ME ve NEL değerleri arasındaki farklılıklar yaprakların HP ve 24 saatlik *in vitro* gaz üretimindeki farklılıklardan meydana gelmektedir. Ruminant hayvanların rasyonlarında %5'ten fazla taneni tolere edemedikleri bilinmektedir. Akasya, süğüt ve kavak yapraklarında KM alımı ve %SKM değerleri yüksek bulunması yanında kondanse tanen içeriklerikleri de yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen *in vitro* verilere dayanarak; yeterli miktar ve kalitede kaba yemin temin edilemediği dönemlerde yüksek kondanse tanen içeriğine sahip olan akasya, söğüt ve kavak yapraklarının kaba yem rasyonlarının belli bir kısmını oluşturabileceği, özellikle kayın yaprağının ruminantların beslenmesi açısından iyi bir alternatif yem kaynağı olabileceği, bu yem kaynaklarının hayvansal üretim ve performansa etkisini tam olarak ortaya çıkarmak açısından *in vivo* hayvan denemelerinin de yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

## Kaynakça

- Abdulrazzak, S.A., Fujihara, T., Ondilek, J.K., & Ørskov, E.R. (2000). Nutritive evaluation of some Acacia tree leaves from Kenya. *Anim. Feed Sci. Technol.* 85, 89-98.
- Alçıçek, A. & Karaayvaz, K. (2003). Sığır Besisinde Mısır Silajı Kullanımı. *Animalia* 20 (3), 18-76.
- Anonim. (2018). TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Hayvancılık Raporu, Türkiyede Hayvan Varlığı. [http://zmo.org.tr/genel/bizden\\_detay.php?kod=29946&tipi=38&sube=0](http://zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=29946&tipi=38&sube=0) Erişim tarihi: 02.04.2020
- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. (17th Ed.). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Atasoglu, C., Canbolat, O., Sahin, S., & Baytekin, H. (2010). Potential nutritive value of browse foliages from pinus pinaster, prunus amygdalus and ulmus glabra. *J. Anim. Product.*, 51, 1-7.
- Aydın, R., Kamalak A., & Canbolat, O. (2007). Effect of maturity on the potential nutritive value of Bur Medic (Medicago polymorpha) hay. *Journal of Biological Sciences* 7 (2), 300-304.
- Balıkçı, E., & Gürdoğan F., (2003). Kurutulmuş meşe yaprağı ile beslenen sığırlarda bazı klinik, hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin tespiti. *Veteriner Bilim Dergisi*, 19 (1-2), 27-32.
- Benchaar, C., Petit, H.V., Berthiaume, R., Ouellet, D.R., Chiquette, J., & Chouinard, P.Y. (2007). Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J Dairy Sci*, 90, 886-897.
- Carulla, J.E., Kreuzer, M., Machmüller, A., & Hess, H.D. (2005). Supplementation of Acacia mearnsii tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 56, 961-970.
- Denek, N., Avcı, M., Can, A., Daş, B., Aydın, S.S., & Savrunlu, M. (2014). Kimi kaba yemlerde farklı bitki yapraklarının *in vitro* metan üretimi üzerine etkisi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 3(2), 59-66.
- Dökülgen, H., & Temel, S. (2015). Yaprakını döken karaçalı (Palirus spina-christi Mill.) türünde yaprak ve yaprak + sürgünlerinin mevsimsel besin içeriği değişimi. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(3), 57-65.

- Gemalmaz, E., & Bilal, T. (2016). Alternatif yem kaynakları. *Lalahan Hay. Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 56 (2), 63-69.
- Goel, G., Makkar, H.P.S., & Becker, K. (2008). Changes in microbial community structure, methanogenesis and rumen fermentation in response to saponin-rich fractions from different plant materials. *Journal of Applied Microbiology*, 105(3), 770-777.
- Gürsoy, E., & Macit, M. (2017). Erzurum ili çayır ve meralarında doğal olarak yetişen bazı buğdaygil yem bitkilerinin nispi yem değerleri bakımından karşılaştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(3), 309-317.
- Kamalak, A., Hassan, K.G., Ameen, S., Zebari, H.M., Hasan, A.H., & Aslana, F. (2015). Determination of chemical composition, potential nutritive value and methane emission of oak tree (*Quercus coccifera*) leaves and nuts. *H.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*, 4(1),1-5.
- Kılıç, Ü., Sarıççek, B.Z., (2006). *In vitro* gaz üretim tekniğinde sonuçları etkileyen faktörler. *Hayvansal Üretim*, 47(2), 54-61.
- Kutlu, H.R., & Serbest U. (2014). Ruminant Beslemede Son Gelişmeler. *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(1), 18-37.
- Makkar, H.P.S., Blummel, M., & Becker, K. (1995). Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and their implication in gas production and true digestibility *in vitro* techniques. *Br J Nutr*, 73, 897-913.
- Menke, K.H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gaz production using rumen fluid. *Anim. Res. Devel.* 28, 7-55.
- Oruç, A., & Avcı, M. (2018). Bazı kaba yemlere farklı seviyelerde ilave edilen söğüt ağacı (*salix alba*) yaprağının *in vitro* sindirim ve metan oluşumu üzerine etkisi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7 (1), 60-66.
- Patra, A.K., & Saxena, J. (2009). Dietary phytochemicals as rumen modifiers. A review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 96, 363-375.
- Redfearn, D. D., Zhang, H., & Caddel, J.L. (2004). Forage quality interpretations. division of agricultural sciences and natural resources, oklahoma state university. <http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-2557/F-2117web.pdf> Erişim tarihi: 11.02.2019.
- Sevim, Ö., & Sarı, M. (2014). Keçi rasyonlarında farklı düzeylerde meşe yaprağı kullanılmasının sindirilebilirlik ile bazı rumen ve kan parametreleri üzerine etkisi. *Animal Health Prod and Hyg* 3(1), 253-257.
- Soltan, Y.A., Morsy, A.S., Sallam, S.M.A., Louvandini, H., & Abdalla, A.L. (2012). Comparative *in vitro* evaluation of forage legumes (prosopis, acacia, atriplex, and leucaena) on ruminal fermentation and methanogenesis. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2, 759-772.
- SPSS. (2004). Windows User's Guide. Version 13.0, SPSS Inc., Michigan Ave., Illinois, USA., Chicago.
- Tekce, E., & Gül, M. (2014). Ruminant beslemede NDF ve ADF'nin önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 9(1), 63-73.
- Temel, S., & Kır, A.E. (2015). Bazı çalı ve ağaç türlerinin mevsimsel dönem ve hayvan gruplarına göre otlamada tercih durumlarının belirlenmesi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 1(1), 31 - 39.
- Tuncel, E., Koyuncu, M., Şahan, Ü., Ak, İ., & Okuyan, M.R. (1995). *Zootekni*, Anadolu Üniversitesi, Yayın No: 905 s:394.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.
- Ventura, M.R., Castanon, J.I.R., Pieltain, M.C., & Flores, M.P. (2004). Nutritive value of forage shrubs: *Bituminaria bituminosa*, *Rumex lunaria*, *Acacia salicina*, *Cassia sturtii* and *Adenocarpus foliosus*. *Small Ruminant Research* 52, 13-18.
- Zebari, H.M.Z. (2015). *Potential nutritive value, methane production and tannin contents of some tree leaves*. (Yüksek Lisans Tezi), Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, Türkiye.



## Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Research Article(Araştırma Makalesi)

### **Cassava Farmers' Attitude Towards Participation in Root and Tuber Expansion Programme in Delta State, Nigeria**

**Ogheneakpobor OYIBO\*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Federal College of Education (Technical), School of Vocational Education, Department of Agricultural Education, Asaba, Nigeria.

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-5719-3486>

\*Corresponding author e-mail: ooyibo3176@stu.ui.edu.ng, oyiboakpos@yahoo.com

#### Article Info

Received: 07.02.2020  
Accepted: 06.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.686519

#### Keywords

Cassava farmers,  
Expansion programme,  
Income,  
Participation,  
Root and tuber.

**Abstract:** This study ascertained cassava farmers' attitude towards participation in Root and Tuber Expansion Programme (RTEP) in Delta State, Nigeria. Multistage sampling procedure was used to select 120 respondents from the 3 Agricultural Development Programmes (ADPs) zones in the study area. The study was conducted from June to November 2018. Data on respondents' socio-personal characteristics, income earned from cassava production and attitude towards participation in RTEP were generated using structured interview schedule. Frequency count, percentage, mean, Chi-square, Pearson Product Moment Correlation (PPMC) and multiple regressions were used to analysed data at  $p \leq 0.05$ . The mean age, years of formal education and household size were 46 years, 9 years and 6 persons, respectively. Majority (85.8%) of the respondents were married with formal education (73.3%) and using family labour (37.5%). Most (60.0%) of respondents were cosmopolitan with more than once a week visit to urban centres, while 79.2% earned an average annual income of ₦234,641.67 from cassava production. A little above average (51.7%) had unfavourable attitude towards participation in RTEP. Age ( $\beta=-0.08$ ), household size ( $\beta= 0.37$ ) and income earned from cassava production ( $\beta= 5.47$ ) were significant contributors to attitude towards participation in RTEP. This study concluded that the attitude of cassava farmers towards participation in RTEP in Delta State is marginally unfavourable and determined by age, household size and income. Therefore, it is recommended that government, development organisations and other stakeholders implementing the RTEP should organize intervention to increase income earned from cassava production, this will enhance favourable attitude towards towards RTEP.

### **Nijerya Delta Eyaleti, Manyok Çiftçilerin Kök ve Yumru Genişletme Programına Katılım Yönündeki Tutumu**

#### Makale Bilgileri

Geliş: 07.02.2020  
Kabul: 06.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.686519

#### Anahtar kelimeler

Manyok çiftçileri,  
Genişletme Programı,

**Öz:** Bu çalışma manyok çiftçilerin Nijerya'daki Delta Eyaleti'nde Kök ve Yumru Genişletme Programına (KYGP) katılım konusundaki tutumunu tespit etmektedir. Çalışma alanındaki 3 Tarımsal Kalkınma Programı bölgesinden 120 katılımcı seçmek için çok aşamalı örnekleme prosedürü kullanılmıştır. Çalışma Haziran - Kasım 2018 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Katılımcıların sosyo-kişisel özellikleri, manyok üretiminden elde edilen gelir ve RTEP'e katılım konusundaki tutum, yapılandırılmış görüşme programı kullanılarak oluşturulmuştur. Verileri  $p \leq 0.05$ 'te analiz etmek için frekans sayısı, yüzde, ortalama, Ki-kare, Pearson Ürün Moment Korelasyonu ve çoklu regresyonlar kullanılmıştır. Ortalama yaş, örgün eğitim ve hane halkı büyüklüğü sırasıyla 46 yaş, 9 yaş ve 6 kişidir. Anket

Gelir,  
Kök ve yumru,  
Katılım.

katılanların çoğunluğu (% 85.8) evli, örgün eğitilmiş (% 73.3) ve aile işçiliği (% 37.5) şeklindedir. Ankete katılanların çoğu (% 60.0) şehir merkezlerine haftada bir defadan fazla ziyaret ile kozmopolitken, % 79.2'si manyok üretiminden yıllık ortalama 234.641,67 ₦ gelir elde etmektedir. Ortalamanın biraz üzerinde (% 51.7) KYGP'e katılım konusunda olumsuz tutum bulunmaktadır. Yaş ( $\beta = -0.08$ ), hane halkı büyüklüğü ( $\beta = 0.37$ ) ve manyok üretiminden elde edilen gelir ( $\beta = 5.47$ ) KYGP'e katılım tutumuna önemli katkıda bulunmuştur. Bu çalışma, manyok çiftçilerin Delta Eyaletinde KYGP'e katılım konusundaki tutumunun marjinal olarak elverişsiz olduğu ve yaş, hanehalkı büyüklüğü ve gelirine göre belirlendiği sonucuna varmıştır. Bu nedenle, KYGP'i uygulayan hükümet, kalkınma organizasyonları ve diğer paydaşların manyok üretiminden elde edilen geliri artırmak için müdahale düzenlemeleri yapması önerilmektedir; bu KYGP'e karşı olumlu tutumu geliştirecektir.

## 1. Introduction

Cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) is among the most important sources of carbohydrate in the world (Akinpelu et al., 2011). It is also of major economic importance as food crop for approximately 200 million people in sub-Saharan Africa countries, including Nigeria (Afolami et al., 2015).

In Nigeria, cassava is a major staple food crop (Ajala et al., 2014). Its root and leaves are valuable and a major source of calories and income for rural households in the country (Afolami et al., 2015). Its cultivation by farmers has provided income to about 30 million low-income farmers as well as large numbers of processors and traders in the country (Abdoulaye et al., 2014). In the country, its economic benefits as well as ease of cultivation, low input cost, high adaptability to traditional farming systems and usefulness in ensuring food security has made it to resonate and towers highest among staple food and cash crops with respect to area cultivated and total production (Ajala et al., 2014; Okosun and Aihie-Ezomo, 2017).

In view of the usefulness of cassava in combating hunger, enhancing income generation and reducing poverty in the country, the Nigeria government has since independence, implemented diverse agricultural development projects and programmes in order to sustain increase in its productivity as well as total production. The Root and Tuber Expansion Programme (RTEP) initiated in 1999 is one among the several implemented projects and programmes that is still in existence in the country.

Root and Tuber Expansion Programme was designed by the Food and Agricultural Organization in conjunction with the Federal Government of Nigeria (FGN) and negotiated by the International Fund for Agricultural Development (IFAD), following the completion of cassava multiplication project (CMP). Its main thrust was to consolidate gains made under the CMP in order to improve income for poor farmers and national food security. Capitalising on lesson learnt from CMP, RTEP was conceived as a follow-up phase that extend support to other roots and tubers (such as yam, sweet potato, potatoes and cocoyam), placing additional emphasis on processing and marketing (IFAD, 2001). The programme used the existing extension service system of the Agricultural Development Programme (ADPs) to introduce improved varieties of roots and tubers and better cultivation techniques. The RTEP long term objective among others include commercialising root and tuber production to improve the income of the smallholder households in the programme through increase in the production of its mandate crops as well as processing and marketing of their end-products (Nasarawa Agricultural Development Programme, 2001). Other objectives of RTEP include multiplying improved planting material; development of improved root and tuber crops production technologies to increase productivity; stimulating the movement of farmers from small holders to medium holders with respect to hectareage; and collaborating with NGOs to provide training to farmers. To attain the objectives of RTEP, IFAD approved a credit of 23.05 million U.S. Dollars to the Nigeria government for RTEP Phase I, which spanned between 2000 and 2010 (Oyibo, 2014).

Presently, following the completion of Phase I, the Government of Nigeria (both Federal and State Governments) in partnership with donor agencies are implementing Phase II of the RTEP. However, despite RTEP implementation by government, cassava productivity is still quite low in Nigeria. According to Donkor et al. (2017), small- and medium-scale farmers who are responsible for

majority of the cassava output in the country, are still producing below the potential yield of 25 tons per hectare. Afolami et al. (2015) opined that farmers have only been able to achieve about 50 per cent of cassava potential yield at 12 tons per hectare. Empirical analysis has shown that average cassava yield in the country in 2013 was 14 tons per hectare in contrast to 16.7, 35 and 21 tons per hectare for Ghana, India and Thailand, respectively (FAO, 2013). These statistics suggest a need to investigate into the successes or otherwise of RTEP.

According to Ayoade (2012), the success of any agricultural programme depends largely on the attitude of the farmers. The author further opined that one major approach to determine the success of agricultural projects and programmes is to begin with the farmers' attitude toward the particular project and programme. Oyibo (2014) stated that farmers' attitude had tremendous effect on success and failure of various agricultural development programmes implemented by the Nigeria government and non-governmental organizations to enhance agricultural productivity, since the post-independence era. Ovwigho and Ifie (2009) stated that attitude could be described as a response to stimuli which is usually noticeable in the form of hatred and likeness. Like and hate could be viewed as positive and negative attitudes, respectively. Ayoade (2012) viewed attitude as the degree of positive or negative effects associated with psychological objects. The author further stated that for agricultural programme to be more successful and effective, effort should be made at creating the right attitude within and/or among the programme beneficiaries or participants.

Several studies have been carried out on farmers' attitude in Nigeria. For example, Ovwigho (2014) assessed effects of advisory services on attitude to innovations and fatalism among fadama III participants in Delta-Central Senatorial District of Delta State, Nigeria. Ayoade (2012) ascertained attitude of women farmers towards agricultural extension services in Ifelodun local government area, Osun State. Ovwigho and Ifie (2009) assessed the attitude of youth to agricultural development programmes in Ughelli South Local Government Area of Delta State. However, there is dearth of information on cassava farmers' attitude towards root and tuber expansion programme. Therefore, this study was carried out to investigate cassava farmers' attitude towards root and tuber expansion programme. The main objective of this study was to ascertain the attitude of cassava farmers towards participation in RTEP in Delta State, Nigeria. The specific objectives were to: describe the socio-demographic characteristics of the Programme Participants (PPs) in the study area; ascertain the income earned from cassava production by PPs in the study area; and determine the attitude of the PPs towards participation in RTEP in the study area. Based on the objectives of the study, the following hypotheses were tested: there is no significant relationship between the socio-demographic characteristics of PPs and their attitude towards participation in RTEP in the study area; there is no significant relationship between the income earned from cassava production by PPs and their attitude towards participation in RTEP in the study area; there is no significant contribution of income earned from cassava production, age, marital status, educational status, sex of household head, household size and source of labour to attitude towards participation in RTEP in the study area.

## 2. Material and Methods

### 2.1. Study area

The study area was Delta state of Nigeria. Delta state was carved from the defunct Bendel State on the 27<sup>th</sup> of August 1991. The area lies within latitude 5° 00' and 6° 30' North of the equator and longitude 5° 00' and 6° 45' East of the Greenish Meridian. The area covers a land mass of approximately 17,698km<sup>2</sup> and comprise of 25 Local Government Areas (LGAs) with the capital at Asaba. The major ethnic groups are Urhobo, Isoko, Aniocha, Ika, Ndokwa, Itsekiri and Ijaw. The study area is basically a tropical climate; rainy season starts from late March and end in October with a brief dry spell in August, known as "August break", while the dry season starts in November and end in early March and is characterized by hot, dry and dusty Eastern Harmathan inducing wind. The average annual rainfall in this area is approximately 266.5mm in the coastal areas and 190.5mm in the Northern fringes of the state, with the heaviest rainfall in the month of July. The temperature fluctuations are between 21°C - 35°C, with an average temperature of 30°C (80°F). The vegetation cover in this area varies from one ecological zone to the other; it is Mangrove Swamp Forest along the coast in the southern part of the area, to Fresh Water Swamp and Evergreen Rainforest in the central

part of the area and the Derived Savannah in the northern part of the area. The main livelihood of majority of the inhabitants of the study area is agriculture; farming and fishing. The important agricultural crops grown in the area include cassava, yam, maize, plantain, groundnut, cocoyam, pineapple, melon, sweet potato, rice, rubber, oil palm, okro, tomatoes, pepper, fruits and vegetables. Rearing of livestock such as cattle, goats, sheep, pigs and poultry is a common practice, while aquaculture and artisanal fisheries activities are also common practice in the study area.

## 2.2. Population and sampling procedure

The population of this study comprised of all cassava farmers participating in RTEP in DADPs of Delta State. Multistage sampling procedure was used to select respondents for the study. Delta state has 3 ADPs zones, namely: Delta-Central, Delta-North and Delta-South zones. Delta-Central, Delta-North and Delta-South zones have 10, nine and six extension blocks, respectively. Altogether, 20% (5) of the blocks in the zones were randomly selected using proportionate sampling technique. These were Ughelli-South and Ethiope-East from Delta-Central zone; Ika-North and Oshimili-North from Delta-North zone; and Patani from Delta-South zone. An average of 8 cells is in each block. Forty per cent (3) cells in each selected blocks were purposively sampled based on high predominance of cassava production, which were: Ewu, Egbourhe and Oginibo cells from Ughelli-South block; Oria Abraka, Okpara-Inland and Isiokolo cells from Ethiope-East block; Umunedede, Igbodo and Ute-okpu cells from Ika North-block; Ebu, Okpanam and Achalla cells from Oshimili-North block; and Abare, Koloware and Patani cells from Patani block. From the list of RTEP cassava registered farmers in the selected cells, 20% RTEP participants' cassava farmers were randomly selected from each of the selected cells for analysis using proportionate sampling technique, making a sample size of 120 respondents. The summary of sampling procedure is presented in Table 1.

Table 1. Summary of sampling procedure and sample size

ADPs zones in Delta state	Blocks in each zone	20% of blocks in the zones	Cells in selected blocks	Purposive selection of 40% cells per block	Number of cassava farmers	Number of RTEP registered farmers	20% of RTEP participant cassava farmers
Delta-Central	10	Ughelli-South	8	Ewu	40	8	8
				Egbourhe	40	8	8
				Oginibo	38	8	8
	Ethiope-East	8	8	Oria Abraka	42	8	8
				Okpara-Inland	42	8	8
				Isiokolo	40	8	8
Delta-South	6	Patani	8	Abare	38	8	8
				Koloware	39	8	8
				Patani	38	8	8
Delta-North	9	Ika-North	8	Umunedede	39	8	8
				Igbodo	39	8	8
				Ute-okpu	41	8	8
	Oshimili-North	8	8	Ebu	41	8	8
				Okpanam	42	8	8
				Achalla	41	8	8
Total	25	5	40	15	600	120	120

Source: Delta Agricultural Development Programme (2018).

## 2.3. Data collection

The study was conducted from June to November 2018. Data were collected using interview schedule. The interview schedule captured information on demographic characteristics, income earned from cassava production and attitude toward participation of respondents.

## 2.4. Measurement variables

Income earned from cassava production was measured by asking respondents to state the actual amount in Naira value earned from cassava production with respect to 2017/2018 farming

season. The highest income was ₦800,000.00, while the minimum was ₦50,000.00. Respondents' income earned from cassava production was categorised using the mean score (₦234,641.67) and standard deviation-SD (₦138,886.68) into: high income, scores between mean + 1 SD and maximum (₦373,528.36-₦800,000.00); average income, scores between mean - 1 SD and mean + 1 SD (₦95,755.00-₦373,528.35); and low income, score between minimum and mean - 1 SD (₦50,000.00-₦95,754.99). Respondents' cosmopolitanism was measured by asking them to indicate how frequently they visit urban centres from the options of more than once a week, weekly, more than once a month, once in a month, once in several months, annually/yearly and never. The ordinary frequency numbers of the list of options were standardised by mathematical procedures (using sigma scoring method) to obtain normalised standard scores (Table 2) before using them in parametric statistical analysis. This is based on a methodology similar to that of Agbamu (1995). Based on the normalisation of score in Table 2, the options of more than once a week, weekly, more than once a month, once in a month, once in several months, annually/yearly and never were assigned scores of 5, 3, 2, 1, 0, 0 and 0, respectively. The highest score was 5, while the minimum was 1. Respondents' cosmopolitanism was categorised into cosmopolitan and non-cosmopolitan, using the mean score (3.89) as the benchmark, cosmopolitan (3.90-5) and non-cosmopolitan (1-3.89). Attitude towards participation was measured by presenting ten (10) attitudinal statements, which consist of both positively and negatively worded statements. This was measured on a 4 Point rating scale of Strongly Agree (SA), Agree (A), Disagree (D) and Strongly Disagree (SD) with scores of 4, 3, 2 and 1 assigned respectively for positively worded attitude statements and the reverse for negatively worded statements. The highest score was 40, while the minimum was 24. Respondents' attitude toward participation was categorised using the mean (31.88) into favourable (31.88-40) and unfavourable (24-31.87).

Table 2. Normalised standard scores for cosmopolitanism options (N = 120)

Graduations	Freq.	Cum. Freq.	Cum. Freq. to midpoint	Cum. Proportion to midpoint	Z*	(Z+2) <sup>2</sup>	Approx. Standard Score**
Never	0	0	0	0	0	0	0
Annually/yearly	0	0	0	0	0	0	0
Once in several month	0	0	0	0	0	0	0
Once in a month	11	11	5.5	0.046	-1.685	0.63	1
More than once a month	15	26	18.5	0.154	-1.019	1.962	2
Weekly	22	48	37	0.308	-0.502	2.996	3
More than once a week	72	120	84	0.7	0.524	5.048	5

\* = values obtained from normal probability table, Z.; \*\* = Normalized Standard scores.

## 2.5. Data analysis

The data collected were entered into Statistical Package for Social Sciences (SPSS). Descriptive statistics carried out included frequencies, mean and standard deviation. Inferential statistics used to test the hypotheses were t-test, Chi-Square, Pearson Product Moment Correlation (PPMC) and multiple regression.

## 3. Results

### 3.1. Socio-demographic characteristics of respondents

Results in Table 3 reveals that a preponderance (44.2%) of the respondents were between 41 and 50 years, while over half (73.4%) were above 40 years. Furthermore, the mean age of respondents was 46.37±9.24 years. This implies that most of the respondents were middle aged and in their economically active age.

The marital status of respondents as shown in Table 3 reveals that majority (85.8%) of respondents were married, while more than half (94.9%) had engaged in marriage. The implication is that respondents had family responsibilities that needed financial commitment.

The sex of household head presented in Table 3 shows that majority (57.5%) of household heads were males compared to 9.2% who were female. The high number of male-headed households is consistent with Babatunde et al. (2011) who reported that over half (80%) of household heads were



males. This is in line with the findings of Eforuoku (2018) that 7.9% of households were headed by women. The educational status distribution of respondents as shown in Table 3 reveals that 73.3% of the respondents had formal education, while 26.7% had no formal education. Also, only 17.5% had tertiary education. The mean year of formal education was  $8.98 \pm 5.09$ . The findings were suggestive of moderate level of education among the respondents. The average household size  $6.2 \pm 2.34$  persons were obtained as shown in Table 3. Results reveals that majority (56.7%) of the respondents had a household sizes of between 6 and 10 persons. It could be inferred that the average household size is relatively high when compared to the average Nigeria household size of 4.6 persons as opined by Eforuoku (2018). The implication is that cassava farmers have a large household.

Table 3 shows that 37.5 of the respondents used family labour, while 22.5% and 29.2% used family plus hired and family plus communal labour, respectively. This implies that family labour was the predominant source of farm labour in the study area.

Table 3 indicates that 60.0% of the respondents visited urban centres more than once a week, while 18.3% visited once in a week. This is an indication that respondents' visit to urban centres was high. Table 4 reveals that a larger percent (60%) of the respondents were cosmopolitan in the study area, compared to non-cosmopolitan (40%). The implication is that majority of rural cassava farmers in the study area had exposure to urban areas. The exposure could influence their attitude towards participation in root and tuber crops extension sub-programme.

Table 3. Distribution of respondents according to socio-demographic characteristics (n = 120)

Characteristics	Frequency	Percentage (%)	Mean± SD / Mode
Age (years)			
≤ 20	1	0.8	
21-30	7	5.8	
31-40	24	20.0	46.37±9.24 years
41-50	53	44.2	
> 50	35	29.2	
Marital status			
Single	6	5.0	
Married	103	85.8	Married*
Divorced	4	3.3	
Widow/widower	7	5.8	
Sex of household head			
Male	69	57.5	Male*
Female	11	9.2	
Non-head of household	40	33.3	
Educational Status			
Formal education	88	73.3	Formal education*
No formal education	32	26.7	
Years of formal Education			
None	10	8.3	
1-6	37	30.8	8.98±5.09
7-12	52	43.3	
Above 12	21	17.5	
Household Size (persons)			
1 -5 persons	47	39.2	
6 – 10 persons	68	56.7	6.24±2.34 persons
11 – 15 persons	5	4.1	
Farm labour source			
Family	45	37.5	Family*
Communal	3	2.5	
Hired	10	8.3	
Family/hired	27	22.5	
Family/communal	35	29.2	
Frequency of visiting urban centres			
More than once a week	72	60.0	More than once a week*
Weekly/once in a week	22	18.3	
More than once a month	15	12.5	
Once in a month	11	9.2	
Once in several months	0	0.0	
Annually/yearly	0	0.0	
Never	0	0.0	

Note: Values in asterisks implies mode. Source: Field survey, 2018.

Table 4. Categorization of respondents by cosmopolitan behaviour

Cosmopolitan behaviour	Frequency	Percentage (%)	Minimum	Maximum	Mean
Cosmopolitan (3.90-5)	72	60	1.00	5.00	3.89
Non-cosmopolitan (1-3.89)	48	40			

Source: Field survey, 2018.

### 3.2. Income earned from cassava production

The results on yearly income realized from cassava production by respondents (Table 5) reveals that the mean income realized from cassava production was ₦234,641.67±138,886.68 yearly; furthermore, over half (75.7%) of the respondents realized more than ₦149,000.00 yearly. This is an indication that cassava production is profitable.

Table 5. Distribution of respondents by income earned from cassava production (n = 120)

Income categories (Naira)	Frequency	Percentage (%)	Mean±SD
50,000 – 149,000	29	24.2	
149,001 – 249,000	46	38.3	
249,001 – 349,000	24	20.0	₦ 234,641.67±138,886.68
349,001 – 449,000	10	8.3	
449,001 – 549,000	7	5.8	
>549,000	4	3.3	

Source: Field survey, 2018.

### 3.3. Categorizations of respondents by income earned from cassava production

Results in Table 6 shows that a larger percent (79.2%) of the respondents had average income, while 11.7% had high income. This implies that there was moderate income earned from cassava production in the study area.

Table 6. Categorization of respondents based on income earned from cassava production

Level of income	F	%	Minimum	Maximum	Mean	SD
Low (50,000.00-95,754.99)	11	9.2	50,000.00	800,000.00	234,641.67	138,886.68
Average (95,755.00-373,528.35)	95	79.2				
High (373,528.36-800,000.00)	14	11.7				

Source: Field survey, 2018.

### 3.4. Respondents' attitude towards participation in root and tuber crops extension sub-programme

Results in Table 7 reveals that a little above average of the respondents (51.7%) had negative attitude towards participation. This implies that respondents have unfavourable attitude toward participation in RTEP. The unfavourable attitude may be due to average income realized from cassava farming (Table 6).

Table 7. Categorization of respondents' attitude towards participation in RTEP

Attitude towards participation in RTEP	Frequency	Percentage (%)	Minimum	Maximum	Mean
Favourable (31.88-40)	58	48.3	24.00	40.00	31.88
Unfavourable (24-31.87)	62	51.7			

Source: Field survey, 2018.

### 3.5. Chi-square and correlation analyses between socio-demographic characteristics of cassava farmers and their attitude towards participation in RTEP

Results in Table 8 and 9 shows that age ( $r=-0.04$ ,  $>0.05$ ), years of education ( $r=0.09$ ,  $>0.032$ ), cosmopolitanness ( $r= -0.08$ ,  $p>0.05$ ), marital status ( $X^2 =4.77$ ,  $p>0.05$ ), educational status ( $X^2 =1.03$ ,  $p>0.05$ ), sex of household head ( $X^2 = 4.74$ ,  $p>0.05$ ) and main source of farm labour ( $X^2 = 5.09$ ,  $p>0.05$ ) were not significantly related to attitude towards participation in RTEP. The Table further reveals that household size ( $r=0.26$ ,  $p<0.05$ ) was significantly related to attitude towards participation in RTEP.

Table 8. Correlation analysis of socio-demographic characteristics and attitude towards participation in RTEP

Variable	r-value	p-value
Age	-0.038	0.68
Years of formal education	0.09	0.32
Household size	0.26*	0.00
Cosmopolitanness	-0.08	0.39

\*Significant at  $p\leq 0.05$ .

Table 9. Chi-square analysis of socio-demographic characteristics and attitude towards participation in RTEP

Variable	df	$X^2$	P
Marital status	3	4.77	0.19
Educational status	1	1.03	0.31
Sex of household head	2	4.74	0.09
Source of labour	4	5.09	0.28

Significant at  $p\leq 0.05$ .

### 3.6. Correlation analyses between income earned from cassava production and attitude towards participation in RTEP

The result in Table 10 reveals a significant correlation between income realized from cassava production and attitude towards participation in RTEP ( $r = 0.27$ ,  $p<0.05$ ). It can be deduced that the income respondents earned from cassava production determined their attitude towards participation in RTEP. Hence, high income from cassava production will likely bring a change in attitude towards participation in RTEP.

Table 10. Correlation analysis of income realized from cassava production and attitude towards participation in RTEP

Variable	r-value	p-value
Income from cassava	0.27*	0.00

\*Significant at  $p\leq 0.05$ .

### 3.7. Determinants of attitude towards participation in RTEP

Table 11 shows that the  $R^2$  value was 0.16. This indicate that the independent variable explains 16% of the attitude towards participation in RTEP. The regression model was significantly good enough for predicting the attitude towards participation in RTEP ( $F=3.10$ ,  $p<0.05$ ). It further reveals that age of respondents ( $\beta= -0.08$ ,  $p<0.05$ ), household size ( $\beta = 0.37$ ,  $p<0.05$ ) and income from cassava ( $\beta = 5.47$ ,  $p < 0.05$ ) contributed significantly, to attitude towards participation in RTEP. This implies that age of respondents', household size and income from cassava were determinants of respondents' attitude towards participation in RTEP.

Table 11. Contribution of predictors to attitude towards participation in RTEP

Predictors	Beta	t-value	p-value
(Constant)	30.81	15.70	0.00
Age of respondents	-0.08*	-2.09	0.04
Marital status (Married)	1.47	1.67	0.10
Educational status (Formal education)	-0.07	-0.10	0.92
Sex of household head (Male headed)	0.20	0.27	0.79
Household size	0.37*	2.42	0.02
Source of labour (Family)	-0.03	-0.04	0.97
Income from cassava	5.47*	2.17	0.03
<b>Summary</b>			
R-value	0.40		
R <sup>2</sup>	0.16		
Adjusted R	0.11		
Standard Error of the estimated	3.28		
<b>ANOVA</b>			
p-value	0.00		
Df	7		
F	3.10		

\*Significant at  $p \leq 0.05$ .

#### 4. Discussion and Conclusion

That most of the respondents were middle-aged and in their economically active age implies that they still have the energy to meet with the labour demands of agricultural production. This corroborates the assertion of Bawa et al. (2010) that agricultural production activities are mostly carried out by the middle-aged people. The middle and older aged people among the respondents could be due to the result of rural-urban migration of the younger aged and/or youth. This support the position of Ogunbanwo (2008) that most of the young people in the rural areas have migrated to urban centre. The age distribution of respondents is likely to affect attitude towards participation in RTEP, as middle and older aged people are more likely to be highly experienced, fatalistic and conscious of acquiring and/or accepting new agricultural practices and innovations, hence, lower likelihood to participate in agricultural programmes, and thus likely to have an unfavourable attitude towards participation in RTEP. This supports the findings of Ovwigho and Ifie (2009) that youth had favourable attitude to agricultural development programmes than middle and older aged.

That most of the respondents were married implies that respondents had family responsibilities that needed financial commitment. The result supports the finding of Ifejika et al. (2008) that a high proportion of rural farmers were married. The high proportion of married respondents could be due to the high value placed on marriage as is typical of any rural setting in sub-Saharan Africa. High presence of married people could also affect attitude towards participation in RTEP as married people are likely to have high participation because of more social and family responsibilities, hence, have favourable attitude towards participation in agricultural programme.

The sex of household head is likely to influence attitude towards participation in RTEP. Households with male heads are likely to have favourable attitude towards agricultural programme, as males are often breadwinners and might be motivated to effectively participation in agricultural programme due to inward drive to improve income earned from agricultural production in other to meet more social and family responsibilities. Furthermore, the sex of household head is likely to affect attitude towards participation, as female respondents in household with male heads are more likely to have lower or no participation in agricultural development programme because of less or no decision making power by women.

That most of the respondents had formal education with maximum of secondary education suggests that the respondent were moderately educated. The educational attainment of respondents is likely to affect attitude towards participation, as moderate level of education could likely enhance understanding and internalizing of extension guide, bulletins and technical paper, hence have favourable attitude towards participation. Also, the moderate level of education might enhance the adoption of ideal and innovation disseminated in RTEP programme. Studies as Caswell et al. (2001)

and Benor et al. (1997) found that education is important in creating favourable or positive mental attitude towards acceptance and utilization of new farming practices and innovations.

The household size of the respondent was large. This is likely due to early marriage because of the need for large family size, which served as sources of labour on the farms. This is consistent with Ntege-Nanyeenya et al. (1997) who submitted that large household size is germane in providing rural farmers with farm labour required for agricultural activities, especially in Sub-Saharan Africa. Household size has implications for rural farmers' attitude towards participation in RTEP. Households with large household size are likely to have favourable attitude towards participation in agricultural programme, as large household size are often used as farm labour during utilization of new technologies disseminated during RTEP programme.

The high use of family labour in the study area could be as a result of the large household size, which serves as a readily available labour source. This is in line with the findings of Igbaifua (2018), who posited that family labour enhances quick execution of farm work due to timely accessibility to labour.

That most of the respondents had high visit to urban centre imply that cassava farmers' in the study area had exposure to urban areas. The exposure could influence their attitude towards participation in RTEP. The importance of cosmopolitanism to agricultural development is established in its relationship with utilization of innovations *vis a vis* knowledge of agricultural practices. For instance, research by Agbamu (1995) found a positive relationship between farmers' knowledge of agricultural practices, adoption rate and cosmopolitanism.

Most of the respondents earned income from cassava production, which suggests that cassava production is profitable. This might be due to its value as the most important staple food crop in the study area. It could also be due to a wide range of forms of its utilization. This corroborates Yahaya and Aina (2007) assertion, that cassava is a profitable cash crop with over 200 different uses in the world. This is also consistent with Aerni (2006) who observed that cassava is a reliable source of food and has emerged to be a very vital staple food crop that is of industrial significance in the world economy.

The level of income earned from cassava production was average among the respondents. The average income is likely due to the moderate educational attainment, which might have affected the utilization of disseminated innovation. This is in line with Agbamu (2006), who asserted that level of education is a germane factor that affects utilization of new innovation. Average income will influence participation in RTEP and affect attitude towards participation in the programme.

The respondents have unfavourable attitude towards participation in RTEP. This result disagrees with Ovwigho (2014) that Fadama III (a similar programme) participants had favourable attitude toward Fadama III. The unfavourable attitude might be due to the average income earned from cassava production. Respondents' income realized from cassava enterprise will affect perception to participation in RTEP and ultimately influence attitude.

The positive correlation between respondents household size and attitude towards participation in RTEP implies that the larger the household size, the more favourable the attitude towards participation in RTEP. It is expected that with increased household size, there is likelihood of higher labour availability for innovation utilization and hence favourable attitude towards participation in RTEP. Increased household size implies increased in labour availability for utilization of innovation obtained during participation, which boost farmers' attitude towards participation in RTEP. According to Mignouna et al. (2011), household sizes determine a farming household capacity to relax the labour constraints encountered during utilization of new disseminated innovation.

The positive correlation between income from cassava production and attitude towards participation in RTEP implies that the higher the income from cassava production, the more favourable the attitude towards participation in RTEP. This suggests that higher income from cassava production translate into favourable attitude towards participation in RTEP. The fact that respondents realized high income from cassava production guarantee favourable attitude towards participation in RTEP.

Socioeconomic characteristic of the cassava farmers such as age, household size and income earned from cassava contributed to their attitude toward participation in RTEP. This implies that age, household size and income from cassava production were predictors of respondents' attitude towards participation in RTEP. The coefficient of age bore a negative sign. The negative but significant

contribution of age to attitude towards participation in RTEP, indicate the reverse likelihood of older farmers to have favourable attitude towards participation in RTEP. This can be explained by the fact that older farmers are reluctant to accept new information and improved innovation. Household size of farmers affect attitude towards participation in RTEP, with larger household size, attitude towards participation in RTEP will become favourable. Hence, larger household size will enhance favourable attitude towards participation in RTEP. The significant contribution of the income realized from cassava production suggests that with increase in income, there is significant increase in attitude towards participation in RTEP; income contribute to attitude to participation in RTEP either as a motivational factors or as means of buying inputs required to practice disseminated innovation.

Most of the cassava farmers were middle-aged who were mostly married and head of household. Most of them had moderate educational attainment with large household size. Majority of them were cosmopolitan and engaged their family as source of farm labour. Most of the respondents earned average income from cassava production. A little above average of the respondent had unfavourable attitude towards participation in RTEP which was influenced by their age, household size and income from cassava production.

Age, household size and income from cassava production were major predictors of attitude towards participation in RTEP. Conclusively, cassava farmers' attitude towards participation in RTEP was marginally unfavourable, meaning that the programme is marginally or slightly unsuccessful.

Based on the main findings and conclusion, it is recommended that government, development organisations and other relevant stakeholders implementing the RTEP should organize intervention to increase income earned from cassava production, this will enhance favourable attitude towards RTEP as well as ensure the success of the programme; farmers with large household size should be encouraged to actively participate in RTEP, this will enhance favourable attitude towards RTEP; and agricultural programmes, projects and policies targeted towards young adults and youth should be promoted to engender favourable attitude towards agricultural development programmes and projects.

## Acknowledgements

My appreciation goes to all members of staff of the department of Agricultural Extension and Rural Development of University of Ibadan, Nigeria. I also appreciate the RTEP cassava registered farmers used for this study for their cooperation as well as accurate and comprehensive information during the interview-schedule.

## References

- Abdoulaye T., Abass A., Maziya-Dixon, B., Tarawali, G., Okechukwu, R., Rusike, J., Alene, A., Manyong, V., & Ayedun, B. (2014). Awareness and adoption of improved cassava varieties and processing technologies in Nigeria. *Journal of Development Agricultural Economics*, 6(2), 67-75.
- Aerni, P. (2006). Mobilizing Science and Technology for Development: The Case of the Cassava Biotechnology Network. *Ag Bio Forum*, 9 (1), 1-14.
- Afolami, A. C., Obayelu, E. A., & Vaughan, I. I. (2015). Welfare Impact of Adoption of Improved Cassava Varieties by Rural Households in South Western Nigeria. *Agricultural and Food Economics*, 3, 18.
- Agbamu, J.U. (2006). *Essential of Agricultural Communication in Nigeria*. Lagos, Nigeria: Malthouse Press Ltd.
- Agbamu, J. U. (1995). Analysis of farmers' characteristics in relation to adoption of soil management practices in Ikorodu Area of Nigeria. *Japanese Journal of Tropical Agriculture*, 39(4), 213-152.
- Ajala, A. O., Farinde, A. J. & Ogunjimi, S. I. (2014). Assessment of Community Factors Influencing the Effectiveness of Improved Cassava Production Technologies in Osun State, Nigeria. *International Journal of Applied Agricultural and Apicultural Research (IJAAAR)*, 10 (1&2), 145-153.

- Akinpelu, A. O., Amangbo, L. E. F., Olojede, A. O., & Oyekale, A. S. (2011). Health Implications of Cassava Production and Consumption. *Journal of Agriculture and Social Research (JASR)*, 11(1), 118-125.
- Ayoade, A. R. (2012). Attitude of Women Farmers towards Agricultural Extension Services in Ifelodun Local Government Area, Osun State. *American Journal of Social and Management Sciences*, 3(3), 99-105.
- Babatunde, R. O., Olagunju, F. I., & Fakayode, S. B. (2011). Prevalence and Determinants of Malnutrition among Under-five Children of Farming Households in Kwara State, Nigeria. *Journal of Agricultural Science*, 3(3), 173-181.
- Bawa, D. B., Donye, A. O., & Nuhu, H. S. (2010). Analysis of Involvement of Women in Seed System in Borno State, North-East Nigeria. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(6), 1237-1242.
- Benor, D., Harrison, J. Q., & Baxter, M. (1997). *Agricultural Extension: The Training and Visit System*. Washington, DC: World Bank.
- Caswell, M., Fuglie, K., Ingram, C., Jans, S., and Kasca, K. (2001). *Adoption of Agricultural Production Practices: Lessons Learned from the U.S. Department of Agricultural Area Studies Projects* (Agricultural Economics Report No. 792). Washington DC: World Bank.
- Delta Agricultural Development Programme (2018). *RTEP-Project Implementation Manual*. Ibusa: Delta Agricultural Development Programme.
- Delta Agricultural Development Programme (1995). *Historical Perspective, Objective and Structural Manual*. Ibusa: Delta Agricultural Development Programme.
- Donkor, E., Onakuse, S., Bogue, J., & Carmenado, I. L. R. (2017). The impact of the presidential cassava initiative on cassava productivity in Nigeria: Implications for sustainable food supply and food security. *Cogent Food & Agriculture*, 3, 1-14.
- Eforuoku, F. (2018). Determinants of Dietary Intake among Rural Farming Households in North Western, Nigeria. Unpublished Ph. D Thesis in the Department of Agricultural Extension and Rural Development, University of Ibadan, Nigeria, pp. 1-150.
- Food and Agricultural Organization of the United Nation (FAO) (2013). New approaches to the measurement of food security (Statistics Division of FAO of the United Nations). Rome, Italy: FAO.
- Ifejika, P. I., Akinbile, L. A., Ifejika, L. I., & Oladeji, J. O. (2008). The socio-economic effects on adoption of aquaculture technologies among fish farmers in Anambra State, Nigeria. *Journal of Agricultural Extension*, 2(1), 74-86.
- Igbaifua, W. E. (2018). Factors Influencing Adoption of TME 419 Cassava and FARO 44/52 Rice in Rain Forest and Guinea Savannah Zones of Nigeria. Unpublished M. Phil Dissertation in the Department of Agricultural Extension and Rural Development, University of Ibadan, Nigeria, pp. 1-120.
- International Fund for Agricultural Development (IFAD, 2001). Retrieved, September 20, 2019 from <http://www.fidafrique.net/ntbriguell74.html>
- Mignouna, D. B., Manyong, V. M., Mutabazi, K. D. S. & Senkondo, E. M. (2011). Determinants of adopting imazapyr-resistant maize for Striga control in Western Kenya: A double-hurdle approach. *Journal of Development and Agricultural Economics*, 3 (11), 572-580.
- Ministry of Agriculture Handbook (2002) as in: Azudoni, V. (2010). *Assessment of the Effect of Micro Credit Crop Production in Delta State, Nigeria*. Unpublished M.Sc. Dissertation Proposal in the Department of Agricultural Economics and Extension, Delta State University, Abraka, pp. 1-30.
- Nasarawa Agricultural Development Programme (2001). *RTEP-Project Implementation Manual*. Lafia: Nasarawa Agricultural Development Programme.
- Ntege-Nanyeenya, W. M., Mugisa-Mutetikka, W., Mwangi, N., & Verkuuji, H. (1997). *Assessment of Factors Affecting Adoption of maize Production Technologies in Iganga District, Addis, Uganda* (pp. 14). Abba, Ethiopia: National Agricultural Research Organisation (NARO) and International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT).
- Ogunbanwo, O. O. (2008). *Effect of Capital Assets on Livelihood Diversification of Rural Household in Oyo State, Nigeria*. Unpublished M.Sc. Dissertation in the Department of Agricultural Extension and Rural Development, University of Ibadan, Ibadan, pp. 41.

- Okosun, V. A., & Aihie-Ezomo, J. (2017). Revamping Nigerian Economy through Cassava Production. *African Research Review (AFRREV)*, 11(3), 197-207.
- Ovwigbo, B.O. (2014). Effects of Advisory Services on Attitude to Innovations and Fatalism: A Case Study of the Fadama III Participants in Delta Central Senatorial District of Delta State, Nigeria. *The Nigerian Journal of Agriculture and Forestry Extension (NJAF)*, 4(1), 11-23.
- Ovwigbo, B.O., & Ifie, P.A. (2009). Attitude of youth to Agricultural Development Programmes in Ughelli South Local Government Area of Delta State, Nigeria. *Journal of Agricultural Extension*, 13(2), 67-75.
- Oyibo, O. (2014). *Determinants of Rural Farmers' Participation in Root and Tuber Crops Extension Sub-Programme in Delta State, Nigeria*. Unpublished M.Sc. Dissertation in Department of Agricultural Economics and Extension, Delta State University, Abraka, pp 3-20.
- Oyibo, O. (2016). Determinants and Effects of Rural Farmers' Non-Participation in Root and Tuber Crops Extension Sub-Programme in Delta North Agricultural Zone of Delta State. *Contemporary Journal of Educational Research*, 6(2), 166-183.
- Oyibo, O., & Ovaharhe, O. J. (2016). Constraints to Participation of Rural Farmers' in Root and Tuber Crops Extension Sub-Programme in Delta North Agricultural Zone of Delta State, Nigeria. *Journal of Agriculture and Food Sciences*, 14(1), 37-47.
- Yahaya, M. K., & Aina, B. (2007). Communication and Social Change: Lessons from Cassava Technology Transfer in Nigeria. *Journal of Agricultural Extension*, 10(1), 176 – 187.





Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

**Ana Ürün Koşullarında Yerel Cin Mısırları (*Zea mays everta*) Genotiplerinde Verim Performanslarının Araştırılması\*\***

Leyla İDİKUT<sup>1</sup>, Mustafa ÖNEM<sup>2</sup>, Gülay ZULKADİR<sup>\*3</sup>

<sup>1,2</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye

<sup>3</sup>Mersin Üniversitesi, Silifke Uygulamalı Teknolojik ve İşletmecilik Yüksekokulu, Organik Tarım İşletmeciliği Bölümü, 33940, Mersin, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-0685-7158> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-2971-2055> <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0003-3488-4011>

\*Sorumlu yazar e-posta: [gulayzulkadir@gmail.com](mailto:gulayzulkadir@gmail.com)

**Makale Bilgileri**

Geliş: 04.03.2020

Kabul: 07.08.2020

Online Yayınlanma 30.09.2020

DOI:10.29133/yyutbd.698563

**Anahtar kelimeler**

Bitkisel özellikler,  
Verim parametreleri,  
Yerel populasyon,  
*Zea mays everta*.

**Öz:** Bu çalışmada, 2014 yılında Osmaniye ili Sumbas ilçesi koşullarında yerel cin mısır popülasyonlarının verim performanslarının araştırılmasıyla bu ekolojiye uygun yüksek verimli cin mısır çeşitlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Tesadüf blokları deneme desenine göre dört tekerrürlü olarak kurulan bu çalışmada 2 adet hibrit cin mısır çeşidi ve 15 adet yerel cin mısır popülasyonu kullanılmıştır. Çalışmada incelenen cin mısırları genotiplerinin bitkisel özelliklerine ait en düşük ve en yüksek değerler sırasıyla tepe püskülü çiçeklenme süresi 68.50 gün (Edirne Beyaz Cin)- 84.25 gün (Çanakkale Patlak), koçan püskülü çıkış süresi 74.75 gün (Edirne Beyaz Cin)- 88.75 gün (Çanakkale Patlak), ilk boğum yüksekliği 8.25 cm (Samsun Cin)- 16.50 cm (Çanakkale Sarı Cin), ilk boğum çapı 1.35 cm (Çanakkale Beyaz Cin)- 2.20 cm (Nermin Cin), bitki boyu 176.05 cm (Çanakkale Patlak)- 236.98 cm (Balıkesir Cin), koçanın bağlandığı boğum çapı 1.05 cm (Çanakkale Patlak 2013)- 1.91 cm (Balıkesir Cin), koçan çapı 2.31 cm (Tokat Erbaa)- 3.18 cm (Bafra Koşuköyü) arasında değişmiştir. Tane verimine etkili özelliklerde sırasıyla, bitkide koçan sayısı 1 adet (Tokat Erbaa)- 1.3 adet (Samsun Cin), koçan sırasında tane sayısı 28.60(Konya Patlak)- 45.65 (Balıkesir Beyaz Cin), koçanda sıra sayısı 14.40 (Çanakkale Patlak)- 17.66 (Kadirli Cin), tane oranı % 74.75 (Nermin Cin)- %87.25 (Konya Patlak), verim 240.63kg/da (Tokat Erbaa)- 808.58 kg/da (Kadirli Cin) arasında değiştiği belirlenmiştir. Sonuç olarak en yüksek verim değeri Kadirli yöresinden toplanan populasyondan elde edilmiştir. Yerel cin mısırları popülasyonlarının bazı bitkisel özellikler ve verimle ilgili özellikler yönünden Nermin Cin ve Ant Cin 98 çeşitlerinden daha yüksek değerlere sahip olduğu belirlenmiştir.

**Investigations on Yield Performances of Local Popcorn (*Zea mays everta*) Genotypes in The Main Crop Growth Conditions**

**Article Info**

Received: 04.03.2020

Accepted: 07.08.2020

Online Published 30.09.2020

DOI:10.29133/yyutbd.698563

**Abstract:** In this study, it was aimed to determine high yield popcorn varieties suitable for this ecology by investigating the yield performance of landraces popcorn populations under the conditions of Sumbas district of Osmaniye province in 2014. In this study, which was established with four replications according to the random blocks trial pattern, 2 hybrid popcorn varieties and 15 landraces popcorn populations were used. The lowest and highest values of plant characteristics of popcorn genotypes examined in the study were determined as 68.50 (Edirne White Cin) - 84.25 days (Çanakkale Patlak) for tassel emergence

## Keywords

Vegetative characteristics,  
Yield parameters,  
Landraces population,  
*Zea mays* everta.

time, 74.75 (Edirne white popcorn)- 88.75 days (Çanakkale popcorn) for ear silk emergence times, 8.25 (Samsun popcorn) – 16.50 cm (Çanakkale Yellow popcorn) and 1.35 (Çanakkale whitepopcorn)- 2.20 mm (Nermin cin) for first node height and first node diameter, 176.05 (Çanakkale popcorn)- 236.98 cm (Balıkesir popcorn) for plant height, 1.05 (Çanakale popcorn)- 1.91 cm (Balıkesir popcorn) for of ear node diameter and also 2.31 (Tokat Erbaa popcorn)- 3.18 cm (Bafra Kosuköy popcorn) for ear diameter respectively. The lowest and highest values for yield related traits of popcorn genotypes were determined as 1.00 (Tokat Erbaa popcorn)- 1.30 number per plant (Samsun popcorn) for ear number, 14.40 (Çanakkale popcorn)- 17.66 unit (Kadirli popcorn) for number of grains per ear row, % 74.75 (Nermin popcorn)- % 87.25 (Konya popcorn) for grain ratio, 240.63 (Tokat Erbaa popcorn)- 808.58 kg da<sup>-1</sup> (Kadirli popcorn) for grain yield respectively. As a result, it was recorded that the highest yield value was obtained from the population collected from Kadirli region. It has been determined that landraces popcorn populations have higher values than Nermin cin and Ant Cin 98 commercial popcorn varieties in terms of some vegetative and yield related traits.

\*\*Bu makale Mustafa Önem'in Yüksek Lisans tezinin bir bölümünü kapsamaktadır.

## 1. Giriş

İnsanoğlunun üzerinde araştırma yaptığı bitki gruplarından ilk sırayı tahıl bitkileri almaktadır. Tahıl bitkilerinden buğday bitkisi ekim alanında birinciliğini sürdürürken, yine tahıl grubunda yer alan mısır bitkisi ise birim alandaki verimi ile ilk sırada yer almaktadır (TÜİK, 2020). Bu nedenle son yıllarda mısır bitkisi üzerinde çok fazla çalışmalar yapılmaktadır. Bunun nedenleri ise mısırın insan, hayvan beslenmesinde ve sanayinde yoğun olarak kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Mısır bitkisi de tane özelliklerine göre yedi grup altında toplanmaktadır. Tane özelliklerine göre yedi grup altında toplanan mısır varyetelerinden, at dişi mısır, sert mısır, şeker mısır ve cin mısır varyetelerinin tarımı ekonomik olarak yapılmaktadır.

Cin mısırının üretimi daha çok insan kullanımına yöneliktir. Cin mısır ısıtılınca patladığı için, insanlar tarafında sevilerek tüketilen bir atıştırılabilir olmuştur. Cin mısır tanesinin sıcaklık geçirimi ve mekanik dayanımı diğer mısır çeşitlerine oranla 2.2-2.9 kez daha yüksek olmasından dolayı patlama kalitesini artırdığı saptanmıştır (Silva ve ark. 1993). Cin mısırının patlama özelliği, sert mısır dışında mısırın diğer varyetelerinde yoktur. Bu yüzden cin mısır doğrudan insan beslenmesinde daha yoğun kullanılmaktadır. Tüm mısır varyeteleri yabancı döllenenmektedir. Mısır bitkisinde erkek ve dişi çiçeğin farklı yerde olması, melezleme çalışmasını da kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle mısır bitkisi en fazla ıslah çalışması yapılan bitkilerdendir. Mısır ıslah çalışmalarının amacı öncelikle verim miktarında artış ve dolayısıyla birim alandan elde edilecek daha fazla gelirdir. Böylelikle ticari hibritlerin kullanımı her geçen gün artmaktadır. Bu artış yerel genotiplerin yok oluşuna sebep olmaktadır. Ticari çeşitlerin verimi yerel çeşitlere göre daha yüksek (Özkaynak ve Samancı, 2003) olmasına rağmen, yerel genotiplerin olumsuz koşullara karşı mücadele kabiliyeti daha yüksektir (Dwivedive ark., 2016). Yerel populasyonların biyotik ve abiyotik streslere karşı dayanıklılığı dikkate alınarak, yerel çeşitlerin korunması ve tarımın sürdürülmesi gerekmektedir. Ayrıca yerel çeşitler ıslah çalışmalarında vazgeçilemez genetik materyal çeşitliliğini taşımaktadır.

Osmaniye-Sumbas yöresi çiftçileri mısır tarımında oldukça deneyim kazanmıştır. Genel olarak çiftçiler mısır tarımında hibrit atdişi mısır çeşitlerini kullanmaktadır. Bu çalışmada, Sumbas ve Kadirli yöresinde cin mısır ekimini geliştirmek için, Türkiye genelinden toplanan 17 adet yerel cin mısır populasyonu ekilerek bitkisel ve verim yönünden üstün özelliklere sahip genotiplerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

Araştırma, 2014 yılı Mart-Temmuz ayları arasında Osmaniye ili Sumbas ilçesi koşullarında yürütülmüştür. Denemede 2 adet ticari hibrit cin mısır çeşidi ve 15 adet yerel cin mısır populasyonu olmak üzere toplam 17 adet cin mısır genotipi kullanılmıştır.

Denemede kullanılan cin mısırı popülasyonları ülkenin farklı bölgelerinden temin edilmiş ve elde edildikleri yörelere göre tarafımızca aşağıda belirtildiği gibi adlandırılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Denemede kullanılan cin mısırı genotipleri

No	Materyal Adı	No	Materyal Adı	No	Materyal Adı
1	Tokat Erbaa	7	Konya Patlak	13	Çanakkale Beyaz Cin
2	Samsun Merkez	8	Kadirli Cin	14	Balıkesir Cin
3	Samsun Cin	9	Edirne Beyaz Cin	15	Balıkesir Beyaz Cin
4	Samsun Beyaz Cin	10	Çanakkale Sarı Cin	16	Bafra Koşuköyü
5	Sakarya Hanköyü	11	Çanakkale Patlak	17	Ant-Cin 98
6	Nermin-Cin	12	Çanakkale Kırmızı Patlak		

### 2.1.1. Deneme yerinin iklim özellikleri

Denemesinin yürütüldüğü yöreye ve yetiştirildiği sezona ait bazı iklim değerleri Çizelge 2’de verilmiştir (Anonim, 2017a).

Çizelge 2. Osmaniye-Sumbas yöresinde denemenin yürütüldüğü sezonu ve uzun yıllar ortalamalarına ait bazı iklim değerleri

Aylar	Yıllar	Sıcaklık (°C)			Ortalama Nem (%)	Toplam Yağış (mm)
		Min.	Max.	Ort.		
Mart	2014	0.5	29.1	14.7	58.7	93.3
	Uzun Yıllar	-4	32.0	12.7	57.4	123.1
Nisan	2014	3.7	34.9	18.6	56.6	25.5
	Uzun Yıllar	0.1	36.5	16.8	52.3	84.6
Mayıs	2014	11.9	34.3	21.5	59.1	52.8
	Uzun Yıllar	4.6	41.7	21.2	56.4	71.2
Haziran	2014	15.4	40.1	25.0	58.9	72.4
	Uzun Yıllar	11.5	42.6	25.2	62.8	35.2
Temmuz	2014	18.7	44.0	27.4	66.3	60.8
	Uzun Yıllar	15	42.8	27.9	60.6	11.3
Ortalama	2014	10.0	36.5	21.4	59.9	61.0
	Uzun Yıllar	5.4	39.1	20.8	57.9	65.1

Çizelge 2’de görüldüğü gibi Osmaniye İli Sumbas İlçesinde uzun yıllarda yetiştirme dönemindeki yağış ortalaması 65.1 mm iken 2014 yılındaki ortalama 61.0 mm’dir. Denemenin yürütüldüğü 2014 yetiştirme sezonundaki ortalama yağış uzun yıllardaki yağıştan düşük seyretmiştir. Yağışın miktarı yanında, vejetasyon periyodu içerisindeki dağılımı da yıllar arasında farklılıklar göstermiştir. Araştırmanın yapıldığı 2014 yılında bitkinin gereksinim duyduğu su yağışla karşılanmayacak kadar düşük olmuştur. Uzun yıllar ortalamasına göre, yıllık ortalama sıcaklık 20.8 °C iken yetiştirme döneminde 21.4 °C olmuştur. Bu sonuçtan da anlaşılacağı üzere ortalama sıcaklıklar uzun yıllar ortalamasına göre yetiştirme döneminde daha yüksektir. Uzun yıllar ortalamasına göre, yetiştirme sezonu için ortalama nispi nem % 57.9 olarak belirlenirken, 2014 yılı yetiştirme sezonu ortalama nispi nem % 59.9 olduğu ölçülmüştür.

### 2.1.2. Araştırma yerinin toprak özellikleri

Denemenin yürütüldüğü tarlaya ilişkin 0-30 cm derinlikten alınan toprak örnekleri Kadirli İlçesi Ticaret Borsası Laboratuvarında analiz edilerek, sonuçlar Çizelge 3’de verilmiştir (Anonim, 2017b). Deneme alanının toprağı killi-tınlı bünyeye sahip olup, hafif alkali, orta kireçli, tuzsuz, fosfor bakımından yüksek, potasyumca orta ve organik maddece orta seviyede olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3. Deneme alanı topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Özellikler	Saturasyon (%)	Tuz (%)	pH	Kireç (%)	Fosfor (kg/da)	Potasyum(kg/da)	Organik madde (%)
0-30 cm	48.4	0.22	8.15	14.9	10.28	26.38	1.9

## 2.2. Yöntem

Deneme 4 tekerrürlü olarak tesadüf blokları deneme deseninde 70x20 cm ekim aralığında, her parsel 4 sıra ve 5 metre uzunluğunda olacak şekilde ekim yapılmıştır. Parsellerin büyüklüğü 14 m<sup>2</sup>'den oluşmuştur.

### 2.2.1. Ekim öncesi ve ekimden sonra yapılan işlemler

Deneme arazisi ekime hazır hale getirilmiş ve ekim işlemi 26 Mart 2014 tarihinde el ile yapılmıştır. 29 Mart 2014 tarihinde yağmur yağdığından çıkış için sulamaya ihtiyaç duyulmamıştır.

Ekimle birlikte tarlaya 6 kg/da saf azot gübresi düşecek şekilde gübre uygulaması yapılmıştır. Bitkiler 50 cm iken 15 kg/da saf azot gübresi sıra aralarına uygulanmıştır. Deneme alanı hava sıcaklığı, toprak ve bitki durumu göz önünde bulundurularak çıkıştan sonra 6 kez sulanmıştır. Ayrıca çizgili yaprak kurdu, sap kurdu, koçan kurdu ve yabancı ot ile mücadele ilaçları kullanılmıştır. Hasat 10 Ağustos 2014 gerçekleştirilmiştir.

### 2.2.2. Gözlemler ve ölçümler

Araştırmada genotiplere ait tepe püskülü çiçeklenme süresi(TPÇS), koçan püskülü çiçeklenme süresi(KPÇS), ilk boğum yüksekliği (İBY), ilk boğum çapı (İBÇ), bitki boyu (BB), koçanın bağlandığı sap boğum çapı (KBSBÇ), bitkide koçan sayısı (BKÇ), koçan çapı (KÇ), koçanda sıra sayısı (KSS), koçan sırasında tane sayısı (KSTS), tane oranı (TO), dekara tane verimi (TV) özellikleri incelenmiş olup, gözlem ve ölçümler İdikut ve ark. (2015)'nin çalışmalarında belirtildiği üzere yapılmıştır. Verilerin istatistiksel analizleri, deneme planına uygun olarak SAS paket programında Anova prosedürü kullanılarak yapılmıştır. Ortalamaların karşılaştırılmasında Duncan testi kullanılmıştır.

## 3. Bulgular

Osmaniye ili Sumbas ilçesi Armağanlı köyü koşullarında iki hibrit çeşit ve 15 adet yerel cin mısır popülasyonunun tarımsal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada incelenen özelliklere ait ortalama değerler belirlenmiştir.

### 3.1. Tepe püskülü çiçeklenme süresi (gün)

TPÇS yönünden cin mısırı genotipleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar olduğu( $p<0.01$ ) kaydedilmiştir. Araştırmada kullanılan yerel cin mısırı genotiplerinin TPÇS 84.25 (11 nolu genotip)-68.5 (9 nolu genotip) gün arasında değişmiştir. Üreticiler tarafından tarımı yapılan Nermin Cin ve Ant Cin 98 çeşitlerinde ise TPÇS 79.25 ve 73.00 gün olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 4).

### 3.2. Koçan püskülü çıkış süresi (gün)

KPÇS yönünden cin mısırı genotipleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar olduğu ( $p<0.01$ ) belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan yerel cin mısırı genotiplerinin KPÇS 74.75 (9 nolu genotip)-88.75 (11 nolu genotip) gün arasında değişmiştir. Üreticiler tarafından tarımı yapılan Nermin Cin ve Ant Cin 98 çeşitlerde ise KPÇS 85.50 ve 78.25 gün olarak gerçekleşmiştir. Yerel popülasyonların bazılarında KPÇS daha erken olduğu kaydedilmiştir (Çizelge 4.).

### 3.3. İlk boğum çapı (mm)

Araştırmada kullanılan yerel cin mısırı genotiplerini İBÇ 13.5 (13 nolu genotip)-22.0 (6 nolu genotip) mm arasında değişmiştir. İBÇ yönünden cin mısırı genotipleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar olduğu ( $p<0.01$ ) belirlenmiştir. Üreticiler tarafından tarımı yapılan Nermin Cin ve Ant Cin 98 yerel çeşitlerde ise İBÇ değerleri 22.00 ve 20.13 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Yerel cin mısır genotiplerinin TPCŞ, KPÇS ve İBÇ değerlerine ait ortalamalar ve grupları

Genotipler	TPCŞ (gün)		KPÇS (gün)		İBÇ (mm)	
1-Tokat Erbaa	74.75	b-d	78.50	ef	17.63	e-g
2-Samsun Merkez	79.75	ab	86.50	ab	17.63	d-g
3-Samsun Cin	72.75	de	79.75	de	20.75	a-c
4-Samsun Beyaz Cin	76.00	b-d	83.00	b-e	19.83	a-e
5-Sakarya Hanköyü	73.25	de	78.50	ef	18.38	c-g
6-Nermin Cin	79.25	a-c	86.25	a-c	22.0	a
7-Konya Patlak	76.75	b-d	83.50	b-d	21.75	ab
8-Kadirli Cin	75.50	b-d	81.50	c-e	19.83	a-e
9-Edirne Beyaz Cin	68.50	e	74.75	f	16.25	gf
10-Çanakkale Sarı Cin	79.25	a-c	84.00	b-d	17.75	d-g
11-Çanakkale Patlak	84.25	a	88.75	a	16.13	gf
12-Çanakkale Kırmızı Patlak	74.00	cd	81.25	c-e	17.63	d-g
13-Çanakkale Beyaz Cin	76.00	b-d	81.25	c-e	13.50	h
14-Balıkesir Cin	73.75	c-e	78.50	ef	19.88	a-e
15-Balıkesir Beyaz Cin	73.50	de	81.75	c-e	17.00	g
16-Bafra Koşuköyü	77.75	b-d	83.00	b-e	19.00	b-f
17-Ant Cin 98	73.00	de	78.25	ef	20.13	a-d
Genel ortalama	75.76		81.70		19.500	
F değeri	4.73**		5.9**		1.37**	

\*\* : p < 0.01; \* : p < 0.05.

### 3.4. Bitki boyu (cm)

Bitki boyu yönünden cin mısırı genotipleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar olduğu ( $p < 0.01$ ) belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan yerel cin mısırı genotiplerinin BB uzunluğu 236.98 (14nolugenotip)-176.05 (11nolugenotip) cm arasında değişmiştir. Kontrol olarak kullanılan Nermin Cin ve Ant Cin 98 çeşitlerinde ise BB 221.45 ve 221.18 cm olarak kaydedilmiştir. Yerel popülasyonlardan 11 nolu genotip hariç diğer genotipler yerel çeşitlere yakın veya biraz daha yüksek bitki boyu yüksekliği göstermiştir (Çizelge 5).

### 3.5. Koçanın bağlandığı sap boğum çapı (cm)

KBSBÇ yönünden cin mısırı genotipleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar ( $p < 0.01$ ) olduğu belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan yerel cin mısırı genotiplerinin KBSBÇ uzunluğu 1.050 (11nolugenotip)-1.913 (14nolugenotip) cm arasında değişmiştir. Kontrol olarak kullanılan Nermin Cin ve Ant Cin 98 çeşitlerinde ise KBSBÇ 1.69 ve 1.60 cm olarak gerçekleşmiştir. Yerel popülasyonların KBSBÇ değerleri yönünden kontrol çeşitlerine göre daha yüksek ve daha düşük değerlere sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 5).

### 3.6. Koçan çapı (cm)

KÇ yönünden cin mısırı genotipleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar olduğu ( $p < 0.01$ ) Çizelge 5'te görülmektedir. Araştırmada kullanılan yerel cin mısırı genotiplerini KÇ 2.308 (12)-3.183 (16) cm arasında değişmiştir. KÇ yönünden 12 nolu genotip 1, 6 ve 10 nolu genotiplerden istatistiki olarak önemli farklılıklar oluşturduğu ( $p < 0.01$ ) ve farklı gruplarda yer aldığı görülmüştür. Nermin Cin ve Ant Cin 98 çeşitlerinde ise KÇ 2.51 ve 2.86 cm olarak tespit edilmiştir. Yerel popülasyondaki 1 nolu genotip hariç diğer genotipler KÇ değerleri ticari çeşitlere yakın veya daha yüksek değer gösterdiği kaydedilmiştir (Çizelge 5).

### 3.7. Bitkide koçan sayısı (adet)

BKS yönünden cin mısırı genotipleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar olduğu ( $p < 0.05$ ) tespit edilmiştir. Araştırmada kullanılan yerel cin mısırı genotiplerinin BKS 1.0 (1)-1.3 (3) adet arasında değişmiştir. Üreticiler tarafından tarımı yapılan Nermin Cin ve Ant Cin 98 çeşitlerinde ise BKS 1.28 ve 1.15 adet olarak gerçekleşmiştir. Yerel popülasyonların BKS değerleri ticari çeşitlere yakın olarak gerçekleştiği belirlenmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. Yerel cin mısır genotiplerinin BB, KBSBÇ, BKS ve KÇ değerlerine ait ortalamalar ve grupları

Genotipler	BB (cm)		KBSBÇ (cm)		BKS (adet)		KÇ (cm)	
1-Tokat Erbaa	221.50	ab	1.35	d	1.00	d	2.31	e
2-Samsun Merkez	219.50	ab	1.45	cd	1.18	ab	3.07	ab
3-Samsun Cin	221.25	ab	1.79	ab	1.30	a	2.93	a-c
4-Samsun Beyaz Cin	223.40	a	1.64	a-d	1.10	cd	2.83	a-d
5-Sakarya Hanköyü	229.13	ab	1.53	b-d	1.28	ab	2.97	ab
6-Nermin Cin	221.45	ab	1.69	a-c	1.28	ab	2.51	c-e
7-Konya Patlak	210.25	b	1.64	a-d	1.15	a-c	2.75	a-d
8-Kadirli Cin	228.63	ab	1.65	a-d	1.28	ab	2.95	a-c
9-Edirne Beyaz Cin	213.55	b	1.50	cd	1.13	a-c	3.10	a
10-Çanakkale Sarı Cin	220.75	ab	1.61	a-d	1.20	ab	2.43	de
11-Çanakkale Patlak	176.05	c	1.05	e	1.12	bc	2.81	a-d
12-Çanakkale Kırmızı Patlak	213.13	b	1.51	b-d	1.15	a-c	2.65	b-e
13-Çanakkale Beyaz Cin	224.35	ab	1.44	cd	1.15	a-c	2.91	a-c
14-Balıkesir Cin	236.98	a	1.91	a	1.23	ab	3.02	ab
15-Balıkesir Beyaz Cin	219.25	ab	1.51	b-d	1.13	a-c	3.04	ab
16-Bafra Koşuköyü	224.98	ab	1.61	a-d	1.18	ab	3.18	a
17-Ant Cin 98	221.18	ab	1.60	a-d	1.15	a-c	2.86	a-e
Genel ortalama	219.14		1.56		1.15		2.84	
F değeri	3.73**		3.74**		2.13*		2.55	

\*\* : p < 0.01; \* : p < 0.05.

### 3.8. Koçada sıra sayısı (adet)

KSS yönünden cin mısırı genotipleri arasındaki varyasyon istatistiki olarak önemli ( $p < 0.01$ ) olduğu kaydedilmiştir. Araştırmada kullanılan yerel cin mısırı genotiplerinin KSS 14.40 (11)-17.66 (8) adet arasında değişmiştir. Kontrol çeşitlerinde KSS değerleri Nermin Cin ve Ant Cin 98 için 16.80 ve 15.54 adet olarak gerçekleşmiştir. Yerel popülasyonlarının bazılarında KSS değerlerinin ticari çeşitlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 6).

### 3.9. Koçan sırasında tane sayısı (adet)

KSTS cin mısırı genotipleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar ( $p < 0.01$ ) göstermiştir. Araştırmada kullanılan yerel cin mısırı genotiplerini KSTS 28.60 (7 nolu genotip)-45.65 (15 nolu genotip) arasında değişmiştir. Kontrol olarak kullanılan Nermin Cin ve Ant Cin 98 yerel çeşitlerde ise KSTS 33.48 ve 35.30 adet olarak gerçekleşmiştir. Yerel popülasyonların bazılarında KSTS değerleri, çeşitlerden daha yüksek değerlerde olduğu görülmüştür (Çizelge 6).

### 3.10. Tane oranı (%)

Araştırma sonuçlarına göre cin mısırı genotiplerinin TO özelliği bakımından önemli ( $p < 0.01$ ) varyasyonlara sahip oldukları tespit edilmiştir. TO bakımından genotiplerden elde edilen ortalama değerler incelendiğinde, değerlerin % 74.8 (6)-87.3 (7) arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan Nermin Cin ve Ant Cin 98 yerel çeşitlerde ise TO değerleri %75 ve 82 olarak gerçekleşmiştir. Yerel popülasyonların bazılarında TO değerleri, yerel çeşitlerden daha yüksek değerlerde olduğu görülmüştür (Çizelge 6).

### 3.11. Tane verim (kg/da)

Araştırmada kullanılan cin mısırı genotiplerinin TV ile ilgili elde edilen verilere ait varyasyon istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.01$ ). Genotiplerden elde edilen ortalama TV değerleri incelendiğinde verilerin 240.63 (1 nolu genotip)-808.58 (8 nolu genotip) kg/da arasında değişiklik gösterdiği kaydedilmiştir. Kontrol olarak kullanılan Nermin Cin ve Ant Cin 98 çeşitlerinde ise TV değerleri 615.88 ve 570.73kg/da kaydedilmiştir. Yerel popülasyonların bazılarında TV değerleri, ticari kontrol çeşitlerinden daha yüksek değerlerde olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 6).

Çizelge 6. Yerel cin mısırları genotiplerinin KSS, KSTS, TO ve TV değerlerine ait ortalamalar ve grupları

Genotipler	KSS (adet)		KSTS (adet)		TO (%)		TV (kg/da)	
1-Tokat Erbaa	14.44	e	45.05	a	83	a-d	240.63	h
2-Samsun Merkez	17.50	ab	36.00	b-d	86	ab	412.50	fg
3-Samsun Cin	16.10	b-d	40.70	ab	84	a-c	655.00	bc
4-Samsun Beyaz Cin	15.10	de	30.60	cd	84	a-c	540.75	de
5-Sakarya Hanköyü	15.70	b-e	38.90	a-c	84	a-c	662.48	bc
6-Nermin Cin	16.80	a-c	33.48	b-d	75	e	615.88	cd
7-Konya Patlak	15.48	c-e	28.60	d	87	a	333.80	g
8-Kadirli Cin	17.66	a	38.20	a-c	84	a-c	808.58	a
9-Edirne Beyaz Cin	15.20	c-e	37.65	a-c	80	cd	605.33	cd
10-Çanakkale Sarı Cin	14.90	de	37.80	a-c	82	b-d	627.33	cd
11-Çanakkale Patlak	14.40	e	29.90	cd	83	a-c	589.83	cd
12-Çanakkale Kırmızı Patlak	15.50	c-e	35.15	b-d	82	b-d	424.45	f
13-Çanakkale Beyaz Cin	15.50	c-e	36.10	b-d	82	b-d	727.50	ab
14-Balıkesir Cin	16.26	a-d	37.15	a-d	84	a-c	648.93	bc
15-Balıkesir Beyaz Cin	16.24	a-d	45.65	a	78	de	667.50	bc
16- Bafra Koşuköyü	16.34	a-d	38.45	a-c	82	b-d	599.25	cd
17-Ant Cin 98	15.54	c-e	35.30	b-d	82	b-d	570.73	cd
Genel ortalama	15.80		36.74		82.4		572.38	
F değeri	3.13**		2.99**		4.09**		22.19**	

\*\* : p < 0.01; \* : p < 0.05.

## 4. Tartışma ve Sonuç

### 4.1. Tartışma

#### 4.1.1. Tepe püskülü çiçeklenme süresi (gün)

Bu çalışmaya ait genotiplerin TPCS 84.25-68.5 gün arasında değiştiği gözlenmiş olup, bu özellik hakkında araştırmacıların yapmış olduğu bazı çalışmalarda; Zulkadir (2018) 59-71 gün; İdikut ve ark. (2015) 54-66 gün; İdikut ve Kara (2013) 54-66 gün; Salami ve ark. (2017) 43-63 gün; Gönülal (2013) 93-94 gün arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Önceki araştırmacıların kaydettiği değerlerde de görüldüğü gibi, TPCS'nin çeşide, bölgelere, yıllara, çevreye ve uygulama faktörlerine göre değiştiği belirlenmiştir. Bizim bulgularımız daha önce yapılan araştırmalarla uyum içinde bulunmaktadır.

#### 4.1.2. Koçan püskülü çıkış süresi (gün)

Araştırmada kullanılan yerel cin mısırları genotiplerinin KPÇS 74.75-88.75 gün arasında değişirken, yine Türkiye'de yetiştirildiği bilinen 35 adet yerel cin mısırları populasyonunu Kahramanmaraş koşullarında yetiştiren Zulkadir (2018) bu değerlerin 64-75 gün arasında değiştiğini bildirmiştir. Salami ve ark (2017) 47-67 gün; Pandit ve ark. (2016) 86-120 gün; Kahraman ve ark. (2014) 63-70 gün; Bulut ve ark. (2008) KPÇS'nin 81-91 gün olduğunu bildirmişlerdir. Diğer çalışmalarda elde edilen veriler bu çalışmadan elde edilen verilerle uyumlu olduğu, farklılıkların ise kullanılan mısırları populasyonundan ve yetiştirilme koşullarından kaynaklandığı görülmüştür.

#### 4.1.3. İlk boğum çapı (mm)

Bu çalışmada yerel cin mısırları genotiplerinin İBÇ 13.5-22.0 mm arasında değiştiği görülmüş ve bu özellik ile ilgili yapılmış diğer çalışmalarda; Zulkadir (2018) 17-24 mm, Özerkişi (2016) 16.5-19.8 mm, Kharazmshahi ve ark. (2015) 14-20 mm, İdikut ve Kara (2013) 21-25 mm, Kuşaksız (2011) 18.7-25.3 mm olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmaların bu çalışmada ki bulgularla uyumluluğu çeşide, ekim zamanına, kültürel işlemlere ve çevre koşullarına göre değişiklik gösterdiği izlenilmiştir.

#### 4.1.4. Bitki boyu (cm)

Yerel cin mısır genotiplerinin BB uzunluğu 236.98-176.05 cm arasında değişmiş, cin mısırdaki BB özelliği ile ilgili Zulkadir (2018) 138-210 cm; Salami ve ark. (2017) 141-279 gün; Pandit ve ark. (2016) 82-176 gün; İdikut ve ark (2015) 134-181 cm arasında değiştiği bulmuşlardır. Marques ve ark. (2015) BB'nun 197-216 cm arasında olduğunu, bitki boyunun çeşide, çevreye ve ekim zamanlarına göre değiştiğini belirtmiştir.

#### 4.1.5. Koçanın bağlandığı sap boğum çapı (cm)

KBSBÇ uzunluğunun 1.050-1.913 cm arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu değerlerin, bu konuda çalışma yapan araştırmacılardan Zulkadir (2018)'in 35 yerel cin mısır popülasyonlarının KBSBÇ değerinin 1.7-2.4 cm arasında; Kharazmshahi ve ark. (2015)'nin 14-20 mm arasında; Kuşaksız (2011)'in silajlık mısır çeşitlerinde KBSBÇ değerinin 1.87-2.53 cm arasında değiştiğini bildiren sonuçları ile uyumlu olurken, Moralar (2011)'in silajlık mısır çeşitlerinde KBSBÇ 3.03-3.26 cm arasında; İdikut ve Kara (2013)'nin ikinci ürün mısır yetiştirme sezonunda 15 hibrit mısırdaki KBSBÇ değerlerinin 2.1-2.5 cm arasında değiştiğini bildiren sonuçlarından biraz farklılık gösterdiği izlenmiştir. Bu farklılıkların, boğum kalınlığının ekim zamanı, bitki sıklığı, bitki yüksekliği, toprak yapısı ve besin elementlerini gibi çevresel faktörler ile genetik faktörlerden kaynaklandığı görülmektedir.

#### 4.1.6. Koçan çapı (cm)

KÇ değeri ile ilgili yapılan bazı çalışmalar incelendiğinde, Zulkadir (2018) 35 yerel cin mısırdaki KÇ değerini 3.0-3.8 cm arasında ve ayrıca Pandit ve ark. (2016) 37-55 mm; Özkaynak ve Samancı (2003) KÇ değerinin 2.48-2.92 cm arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Sabancı (2013) 40.3 mm, Gönülal (2013) 28.5-29.2 mm, Maga ve ark. (2015) 10.79-12.97 mm, Yılmaz ve Han (2016) 45.33-48.86 mm değerler belirlemişlerdir. Bu çalışmaya ait KÇ değerinin 2.308-3.183 cm arasında değişmiş olması diğer çalışmalarla uyumlu olduğunu göstermektedir. Koçan çapının genetik faktörler yanında çevresel faktörlerden de önemli ölçüde etkilendiği, bölgelere ve uygulama faktörlerine göre koçan çapının oldukça değişkenlik görülmektedir.

#### 4.1.7. Bitkide koçan sayısı (adet/bitki)

Araştırmada genotiplere ait BKS değerinin 1.0-1.3 adet/bitki arasında değiştiği gözlenmiştir. Bu özellikle ilgili olarak Zulkadir (2018) BKS'nin 1.0-1.6 adet/bitki; İdikut ve ark. (2015) 1.03-1.28 adet/bitki arasında değerler elde edildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, Marques ve ark. (2015), BKS'nin 1.26-1.81 adet/bitki arasında değiştiğini kaydetmişlerdir. Önceki çalışmalarda belirtilen veriler bu çalışmada elde edilen verilerle desteklenmektedir. Bitkideki koçan sayısına genetik faktörlerin etkisi daha fazladır.

#### 4.1.8. Koçanda sıra sayısı (adet/koçan sırası)

Araştırmadan elde edilen KSS değerleri 14.40-17.66 adet/koçan arasında değişmiştir. KSS değeri ile ilgili Zulkadir (2018) 12.6-19.2 adet/koçan, İdikut ve ark. (2015) 14-16 adet/koçan, Kharazmshahi ve ark. (2015) 8-11 adet/koçan, Pandit ve ark. (2016) 10-21 adet/koçan, Yılmaz ve Han (2016) 14.8-18.1 adet/koçan, Özkaynak ve Samancı (2003) 11.0-14.3 adet/koçan arasında olduğunu çalışmalarında açıklamışlardır. KSS genetik faktörlere bağlıdır. O nedenle daha önceki sonuçlar bu denemeden elde edilen sonuçları destekler niteliktedir.

#### 4.1.9. Koçan sırasında tane sayısı (adet/koçan sırası)

Çukurova koşullarında yetiştirilen yerel cin mısır genotipleri ile ilgili bu çalışmada KSTS değerinin 28.60-45.65 arasında değiştiği tespit edilmiştir. KSTS ile ilgili diğer araştırmacıların gözlemleri şu şekilde olmuştur. Zulkadir (2018) çalışmasında 35 adet yerel cin mısır popülasyonunun



KSTS değerini 35.5-44.9 adet/koçan; İdikut ve ark. (2015) 13 yerel cin mısır genotipinin KSTS değerini 29-41 adet/koçan olarak belirlemişlerdir. Hafez ve Abdelaal (2015) çalışmalarında farklı azot dozlarını uyguladıkları bazı hibrit mısır çeşitlerinde KSTS değerini 42.5-48.1 adet/koçan olarak tespit etmişlerdir.

Önceki çalışmalarda belirtilen veriler bu çalışmada elde edilen verilerle desteklenmektedir. Daha önceki yapılan çalışmalardan da anlaşıldığı gibi, KSTS değerleri üzerinde çevresel faktörlerin etkisi genetik faktörlere göre daha fazladır.

#### 4.1.10. Tane oranı (%)

TO bakımından genotiplerden elde edilen ortalama değerler incelendiğinde, değerlerin % 74.8-87.3 arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan Zulkadir (2018) 35 farklı yerel cin mısır populasyonunun TO değerlerini %79.53-86.21 arasında değiştiğini belirlerken; Çukurova koşullarında 2 farklı cin mısır çeşidinde farklı azot dozu uygulayan Özkan ve Ülger (2011) tane oranının % 79-83 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Kahraman ve ark. (2014), Diyarbakır koşullarında 51 tane mısır genotipini yetiştirmişler ve TO değerini % 77.5 - 87.1 arasında, Karasahin ve Sade (2011) ise 3 farklı sulama yöntemi ile 3 farklı olgunlaşma grubundan 3 farklı çeşidi 4 farklı ekim sıklığı ile yetiştirilen mısırdaki TO değerini % 83-84 olarak tespit etmişlerdir. İdikut ve ark. (2015) TO değerlerini % 72-83 olarak elde etmişler ve TO üzerine genotipler arası farklılığın önemli olduğunu bildirmişlerdir.

#### 4.1.11. Tane verimi (kg/da)

Yapılan bu çalışmada genotiplerden elde edilen ortalama tane verimi değerleri incelendiğinde verilerin 240.63-808.58 kg/da arasında değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Cin mısırında TV ile ilgili olarak, Özkaynak ve Samancı (2003) Antalya'da 141.9-442.70 kg/da; Marques ve ark. (2015) Brezilya'da iki hibrit cin mısırında 284-330 kg/da olarak değerler elde etmişlerdir. İdikut ve ark. (2012) Çanakkale'nin Biga ilçesinde yaptığı çalışmada TV değerini 1069-1384 kg/da olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca İdikut ve ark. (2015) Kahramanmaraş'ta 13 cin mısırdaki TV değerini 369-498 kg/da olarak bulmuştur. Daha önce araştırmacıların bulgularından da görüldüğü gibi TV değerlerinin çeşide, çevreye ve ekim zamanlarına göre değiştiği belirtilmektedir. TV değerlerinin genetik faktörlerden daha fazla çevresel faktörlerden etkilendiği daha önceki araştırmalardan elde edilen sonuçlardan da anlaşılmaktadır.

## 4.2. Sonuç

Bu araştırma 2014 yılında Osmaniye İli Sumbas İlçesi ekolojik şartlarında bölgeye en uygun yerel cin mısır populasyonunu belirleyerek, bölgedeki cin mısır ekim etkinliğinin artırılması amacıyla, 17 adet cin mısır genotipinin (2 ticari çeşit ve ülkenin farklı bölgelerinden toplanmış 15 yerel populasyon) bitkisel ve verim özellikleri incelenmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Edirne Beyaz Cin, Samsun Cin, Ant cin-98, Sakarya Hanköyü ve Balıkesir Beyaz Cin genotipleri bölgede erkencilik özelliği bakımından dikkat çeken genotipler olurken, bunlardan Samsun Cin, Sakarya Hanköyü ve Balıkesir Beyaz Cin genotiplerinin dekara tane veriminin de yüksek olduğu görülmüştür. Geççilik özelliği dikkate alındığında Çanakkale Sarı Cin, Nermin cin, Bafra Koşuköyü, Çanakkale Patlak ve Samsun Merkez isimli genotiplerin öne çıktığı ve verim açısından Çanakkale Sarı Cin, Nermin Cin, Bafra Koşuköyü ve Çanakkale Patlak isimli genotiplerin ortalama düzeyde (590-627 kg/da) olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak incelenen özelliklerden de görüldüğü gibi yerel cin mısır populasyonlarının bazı özellikleri yönünden ticari yerli çeşit olan Nermin Cin ve Ant Cin 98'den daha yüksek değerlere sahip olduğu belirlenmiş olup iyi performans gösteren populasyonların yeni yerli çeşitler geliştirmek için ıslah materyali olarak kullanılabilmesi görülmektedir.

## Kaynakça

- Anonim, (2017a). *Tarım ve Orman Bakanlığı, Meteoroloji Genel Müdürlüğü*.
- Anonim, (2017b). *Kadirli İlçesi Ticaret Borsası*. <http://www.kadirliitb.tobb.org.tr/>.
- Bulut, S., Çağlar, Ö., & Öztürk, A. (2008). Bazı mısır çeşitlerinin Erzurum ovası koşullarında silaj amaçlı yetiştirilme olanakları. *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39 (1), 83-91.
- Dwivedi, S. L., Ceccarelli, S., Blair, M. W., Upadhyaya, H. D., Are, A. K., & Ortiz, R. (2016). Landrace germplasm for improving yield and abiotic stress adaptation. *Trends in Plant Science*, 21 (1), 31-42.
- Gönülal, E. (2013). *Dane mısırdaki farklı fenolojik dönemlerdeki kısıtlı su uygulamalarının verim ve verim öğelerine etkilerinin belirlenmesi*. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Konya.
- Hafez, E.M., & Abdelaal, K.A. (2015). Impact of nitrogen fertilization levels on morpho-physiological characters and yield quality of some maize hybrids (*Zea mays* L.). *Egyptian Journal of Agronomy*, 37(1), 35-48.
- İdikut, L., & Kara, S.N. (2013). Tane ürünü için yetiştirilen ikinci ürün mısır çeşitlerinin bazı verim ve kalite potansiyellerinin belirlenmesi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 16. 1 (2013)
- İdikut, L., Yılmaz, A., Yürürdurmaz, C., & Çölkesen, M. (2012). Yerel cin mısırı genotiplerinin morfolojik ve tarımsal özelliklerinin belirlenmesi. *Biyoloji Araştırma Der.*, 5 (2), 63-69, 2012
- İdikut, L., Yürürdurmaz, C., Zulkadir, G., & Çölkesen, M. (2015). Yerel cin mısırı genotiplerinin Kahramanmaraş koşullarında tarımsal özelliklerinin araştırılması. *KSÜ Doğa Bil. Der.*, 18 (3).
- Kahraman, Ş., Kılınç, S., & Atakul, Ş. (2014). *Determination of a single hybrid corn genotypes performance in Diyarbakır*. Conditions International Mesopotamia Agriculture Congress / 22-25 September, Diyarbakır. S, 380-386.
- Karavaşin, M., & Sade, B. (2011). Farklı sulama yöntemlerinin hibrit mısırdaki (*Zea mays* L. indentata S.) dane verimi ve verim unsurları üzerine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2), 47-56.
- Kharazmshahi, H.A., Zahedi, H., & Alipour, A. (2015). *Effects of sowing date on yield and yield components in sweet maize (Zea mays L.) hybrids*. In Biological Forum (Vol. 7, No. 2, p. 835). Research Trend.
- Kuşaksız, T. (2011). *Manisa ekolojik koşullarında ana ürün silajlık olarak uygun mısır çeşitlerinin belirlenmesi*. Türkiye 9. Tarla Bitkileri Kongresi s:529-532, Bursa.
- Maga, T.J., Vange, T., & Ogwuche, J.O. (2015). The influence of sowing dates on the growth and yield of two maize (*Zea mays* L.) varieties cultivated under southern guinea savannah agro-ecological zone. *American Journal of Experimental Agriculture*, 5(3), 200.
- Marques, O.J., Filho, P.S.V., Scapim, C.A., Bonato, C.M., Okumura, R.S., LucianoIvano da Silva, L., & Soares de Souza, R. (2015). Sowing time of popcorn during the summer harvest under supplemental irrigation in ferralic nitisol and subtropical climate. *Australian Journal of Crop Science*, 9(5), 413-423
- Moralı, E. (2011). *Tekirdağ ilinde yetiştirilen bazı silajlık mısır çeşitlerinde gelişme sürecinin belirlenmesi ve verimliliklerinin tespiti*. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans Tezi, Tekirdağ.
- Özerkişi, E. (2016). *Tekirdağ koşullarında farklı sıra üzeri mesafelerin bazı şeker mısırı (Zea mays L. saccharata Sturt.) çeşitlerinde taze koçan verimi ve kalite özelliklerine etkisi*. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Özkan, A., & Ülger, A.C. (2011). Çukurova ekolojik koşullarında değişik azot dozu uygulamalarının iki cin mısırı (*Zea mays* L. everta Sturt.) çeşidinde tane verimi ve bazı tarımsal özelliklere etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(3), 198-208.
- Özkaynak, E., & Samancı, B. (2003). Cin mısır (*Zea mays* everta Sturt.) hatlarının ve yoklama melezlerinin verim ve verimle ilgili özellikler bakımından karşılaştırılması. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), s.35-42.
- Pandit, M., Chakraborty, M., Haider, Z. A., Pande, A., Sah, R. P., & Sourav, K. (2016). Genetic Diversity Assay of Maize (*Zea mays* L.) Inbreds Based on Morphometric Traits and SSR Markers. *African Journal of Agricultural Research*, 11(24), 2118-2128.

- Sabancı, İ. (2013). *Mısır-soya birlikte üretiminde farklı ekim sistemlerinin verim ve bazı agronomik karakterlere etkisi*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Salami, H. A., Sina, H., Wallis, N. Z., Padonou, W., Aly, D., Yallou, C., Chabi-Sika, K., Noumavo, P.A, Adjanohoun, A.,& Baba-Moussa, L. (2017). Agro-Morphological Variability of *Zea mays*(L.) Accessions Collected in Southern Benin. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 9(1), 1-9.
- Silva, W.J.D., Vidal, B.C., Martins, M.E.Q., Vargas, H., Pereira, A.C., Zerbetto, M., & Miranda, L.C. M. (1993). What Makes Popcorn Pop. *Nature*, 362 (6419), 417.
- TÜİK. 2020. Türkiye istatistik kurumu. [http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1001](http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001).
- Yılmaz, N., Han, E. 2016. Giresun ekolojik koşullarında bazı mısır çeşitlerinin tane verimi ve verim öğelerinin belirlenmesi. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.* 6(3), 171-176.
- Zulkadir, G. (2018). *Kahramanmaraş koşullarında yerel cin mısır (Zea mays everta) populasyonlarının morfolojik, agronomik ve kalite özelliklerinin belirlenmesi ve DNA moleküler işaretleyiciler ile karakterizasyonu*. T.C. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.



## Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi (YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

### Termografi Tekniği ile Biber Bitkisinde Su Stresinin ve Bazı Fizyolojik Özelliklerin Belirlenmesi\*\*

İlker EROĞLU<sup>1</sup>, Gökhan ÇAMOĞLU<sup>\*2</sup>, Kürşad DEMİREL<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü, 17020, Çanakkale, Türkiye

<sup>3</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mimarlık ve Tasarım Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, 17020, Çanakkale, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-3518-5522> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-6585-4221> <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-2029-5884>  
\*Sorumlu yazar e-posta: [camoglu@comu.edu.tr](mailto:camoglu@comu.edu.tr)

#### Makale Bilgileri

Geliş: 02.04.2020  
Kabul: 07.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.713717

#### Anahtar kelimeler

Biber,  
Termal indeks,  
Termal kamera,  
Sulama.

**Öz:** Çalışmada, termografi tekniği ile hesaplanan indeksler kullanılarak biberde su stresinin ve bu indeksler ile bazı fizyolojik özelliklerin belirlenmesi hedeflenmiştir. 2017 yılında Çanakkale’de dört farklı sulama konusundan (S100, S75, S50 ve S25) oluşan bir deneme yürütülmüştür. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, uygulanan sulama konularından termal indeksler ve tüm fizyolojik özellikler etkilenmiştir. Termal kamera yardımıyla bitki düzeyindeki ölçümlerden ampirik olarak belirlenen bitki su stresi indeksi (CWSI<sub>e</sub>) verilen sulama suyundaki azalışa bağlı olarak artmış, stoma iletkenliği indeksi (I<sub>Ge</sub>) ise azalmıştır. Sınıflama ve regresyon ağacı analizine göre, CWSI<sub>e</sub>’nin sulamaya başlama zamanını belirlemek amacıyla kullanımının yeterli olduğu söylenebilir. Bu durumda söz konusu indeksin eşik değeri 0.42 alınabilir. Termal indeksler ile fizyolojik özellikler arasında her bir büyüme dönemi için yapılan regresyon analizi sonuçlarına göre oldukça önemli ilişkiler elde edilmiştir. Söz konusu ilişkiler çiçeklenme döneminden sonra artış göstermiştir. Çalışmanın sonucu olarak su stresini ayırt etmedeki başarısı ve uygulamadaki kolaylığı nedeni ile biber bitkisinde uzaktan algılama tekniklerinden biri olan termografi tekniği ile elde edilen indekslerin kullanımı önerilebilir. Çalışma, termal görüntülerden yararlanarak biber bitkisinde su stresinin hızlı ve doğru bir şekilde belirlenebilme potansiyeli olduğunu göstermiştir.

### Determination of Water Stress and Some Physiological Traits in Pepper Plant with Thermography Technique

#### Article Info

Received: 02.04.2020  
Accepted: 07.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.713717

#### Keywords

Pepper,  
Thermal index,  
Thermal imager,  
Irrigation.

**Abstract:** In this study, it was aimed to determine the water stress level of pepper plant by help of thermal indices and to determine the relationships among some physiological traits with these indices. An experiment consisting of four different irrigation applications (S100, S75, S50 and S25) was conducted in 2017 in Çanakkale. According to the results obtained from the study, thermal indices and all physiological traits were affected from the irrigation treatments. Crop Water Stress Index (CWSI<sub>e</sub>) determined empirically from the measurements of plant body with the help of thermal camera increased due to the decrease in irrigation water and Stomatal Conductance Index (I<sub>Ge</sub>) has decreased as well. According to classification and regression tree analysis, arguably the use of CWSI<sub>e</sub> is enough to determine the time to start irrigation. In this case, the threshold value of the index is suitable as 0.42. According to the results of regression analysis for each growth period, significant correlations (p

<0.001) were obtained among physiological traits with thermal indices. These relations increased after flowering period. As a result of the study, because of its success in discriminating water stress and ease of application, the use of indices obtained by thermal cameras which is one of the remote sensing techniques may be suggested for pepper plant. The study showed that the water stress in pepper plant has the potential to be determined quickly and accurately by using thermal images.

\*\* Bu çalışma, İlker EROĞLU'nun yüksek lisans tezinden türetilmiştir.

## 1. Giriş

Su stresi, bitkilerde büyümeyi etkilediği için ürünün verim ve kalitesinde önemli rol oynar. Stres koşulunda meydana gelen turgor kaybı hücre büyümesini engelleyerek hücrelerin küçük kalmasına yol açar. Bu durum, yaprakların küçük kalmasına ve fotosentez sonucu oluşması gereken ürünlerinin olumsuz etkilenmesine sebep olur. Su stresinin başlamasıyla iletim borularında su potansiyeli azalır ve fotosentez ürünlerinin taşınması yavaşlar. Bunun sonucu olarak meyve oluşumu olumsuz etkilenir (Kaçar ve ark., 2009). Bu nedenle, su stresinin erken teşhisi oldukça önem taşımaktadır. Günümüzde su stresinin semptomlarının gözle görünür hale gelmeden belirlenmesi üzerine teknikler ile ilgili çalışmalara ağırlık verilmektedir. Bu tekniklerin farklı bitkilerde ve farklı ölçüm şekillerine göre belirlenebilirliği araştırılmaktadır. Araştırılan tekniklerden biri de bitkilerin termal sıcaklıklarıdır. Termal bölge ile elde edilen bitki sıcaklıkları transpirasyon ile dolayısıyla da bitki su tüketimi ile doğrudan ilişkilidir. Su stresi altındaki bitkilerde, insan gözüyle görülemeyen, erken aşamalarda ortaya çıkan semptomların tahmini, uzaktan algılama aracılığıyla gözlenebilmektedir (Jackson, 1986; Behmann ve ark., 2014). Uzaktan algılamadaki termal veriler, bitkilerde su stresini izlemek için kullanılabilir. Çünkü bitkiler, su stresi durumunda terlemeyi azaltmakta ve stomalarını kapatmaktadır. Bu durumda, bitki sıcaklıklarında artış gerçekleşmektedir. Bu artış nedeniyle, bitki su durumunun/su stresinin izlenmesinde bitki sıcaklıklarının kullanımı mümkün olmaktadır (Jackson, 1982; Jones ve ark., 2002). Bitki sıcaklıklarının ölçülmesinde, günümüze kadar ölçüm tekniğinin basit ve ekonomik olması nedeniyle kızılötesi termometreler daha yaygın olarak kullanılmıştır. Günümüzde ise su stresini belirlenmesi çalışmalarında kullanımı hızla yaygınlaşan yüksek çözünürlüklü termal kameralar da kullanım alanı bulmaktadır (Çamoğlu ve Genç, 2013).

Biber bitkisini anavatanı Amerika kıtası olup buradan diğer kıtalara yayılmıştır. Gen kaynaklarına göre biber özellikle gelişim ve meyve şekli açısından önemli değişiklikler göstermektedir (Vural ve ark., 2000). Ülkemiz açısından oldukça önemli bir yere sahip olan biber hemen her bölgede yetiştirilmekte ve ticari açıdan da önemli bir potansiyele sahip olduğu bilinmektedir (Aybak, 2007). Ülkemizde önemli bir üretim potansiyeline sahip Çanakkale ili özellikle salçalık biber üretimiyle 2. sırada yer almaktadır (Anonim, 2015).

Ülkemizde ve dünyada termal görüntüler kullanılarak bitkilerin su stresinin erken teşhisi üzerine çalışmalar hızla devam etmektedir. Bu çalışmada, tatlı biber çeşidinde (*Capsicum annuum*, L. cv. Aristocrat F1) bitki düzeyindeki ölçümlerden elde edilen termal görüntülerden hesaplanan indekslerin su stresine bağlı olarak değişimi ve bazı fizyolojik özellikler (klorofil okumaları, stoma iletkenliği ve yaprak oransal su içeriği) ile aralarındaki ilişkileri araştırılmıştır. Bitki düzeyindeki termal ölçümlerden ampirik olarak Bitki Su Stresi (CWSI<sub>e</sub>) ve Stoma İletkenliği (I<sub>Ge</sub>) indeksleri hesaplanmış ve fizyolojik özellikler ile aralarında regresyon modelleri elde edilmiştir.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Araştırma alanının özellikleri

Araştırma, 2017 yılı yetiştirme sezonunda Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bitkisel Üretim Araştırma ve Uygulama Birimi'nde yürütülmüştür.

Deneme alanı toprakları genel olarak kumlu-tın bünyeye sahip olup etkili bitki kök derinliğindeki (0-60 cm) tarla kapasitesi, solma noktası ve kullanılabilir su tutma kapasitesi değerleri 206.4 mm, 125.0 mm ve 81.4 mm'dir. Söz konusu kök derinliğindeki hacim ağırlığı değerleri katmanlara göre sırasıyla 1.49 g/cm<sup>3</sup> ve 1.53 g/cm<sup>3</sup>'tür. Gübre ihtiyacının belirlenmesi için alanı temsil

edecek şekilde farklı noktalardan 0-30 cm derinlikten bozulmuş toprak örnekleri alınmış olup kimyasal analizi yapılmış ve elde edilen sonuçlara göre gübreleme programı uygulanmıştır.

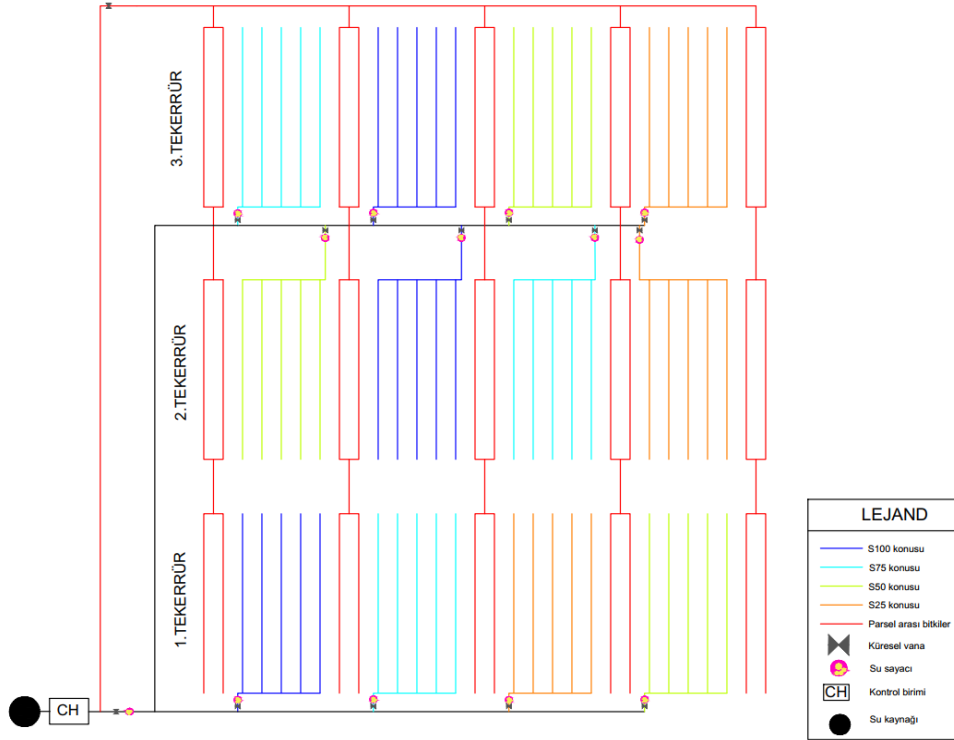
İlin en sıcak ayları Temmuz ve Ağustos aylarıdır. Söz konusu aylardan özellikle de ağustos ayında neredeyse hiç yağış düşmemektedir. Yağışların önemli bir kısmı yaz mevsimi dışında gerçekleşmektedir. Termal ölçümlerde kullanılmak üzere deneme alanına deneme süresince sıcaklık, bağıl nem, rüzgâr hızı ve yağış değerlerini kaydeden bir iklim istasyonu yerleştirilmiştir. Bunun yanı sıra her ölçümde yerden yaklaşık 1.5 metre yüksekliğe ve gölge bir alana yerleştirilen psikrometre ile de ıslak ve kuru hava sıcaklıkları kaydedilmiştir.

## 2.2. Araştırmada kullanılan bitki

Araştırmada, Aristocrat F1 çeşidi tatlı dolmalık biber (*Capsicum annuum* L.) kullanılmıştır. Bu biber; tütün mozaik virüsü de dahil olmak üzere çoğu hastalığa göre dirençli olan, adaptasyon kabiliyeti yüksek ve boğum araları kısa olan bir çeşittir. Yaklaşık olarak 8-15 cm boyunda 4 loblu olan bu tatlı dolmalık biber, kalın etli, sulu ve kokuludur. Meyveleri ortalama 380-430 gr ağırlığındadır. Erken dönemde yeşil, olgunlukta ise kırmızı renklidir. Dikimden yaklaşık olarak 70 gün sonra yeşil olarak, 90 gün sonra ise kırmızı olarak hasat edilir. Biber fidelerinin dikimi, 26 Mayıs 2017 tarihinde, sıra arası 70 cm ve sıra üzeri 33 cm olacak şekilde yapılmıştır.

## 2.3. Deneme deseni

Dört farklı sulama konusundan oluşan çalışma, istatistiksel olarak tesadüf blokları deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak kurulmuştur. Bitkilerin sulanmasında damla sulama sistemi kullanılmıştır (Şekil 1). Söz konusu sistemde su kaynağından alınan su, kontrol biriminden geçirilerek parsellerin başına yerleştirilen vana ve su sayaçları ile denetimli olarak uygulanmıştır. Damla sulama sisteminde 33 cm aralıklı, 4 L/h debiye sahip hat içi damlatıcılı lateraller kullanılmıştır. Çalışmada ele alınan sulama konularına ve damla sulama sistemine ilişkin detaylar Çizelge 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Deneme deseni ve sulama sistemi.

Çizelge 1. Denemede uygulanan sulama konuları

Sulama konusu	Açıklama
S100	Etkili bitki kök derinliğindeki (60 cm) kullanılabilir su tutma kapasitesinin %40±5'i tüketildiğinde sulamaya başlanmış ve tarla kapasitesi düzeyine tamamlanmıştır.
S75	S100 konusuna uygulanan suyun %75'i verilmiştir.
S50	S100 konusuna uygulanan suyun %50'si verilmiştir.
S25	S100 konusuna uygulanan suyun %25'i verilmiştir.

Her bir tekerrürde 5 bitki sırası ve her sıraya 20 bitki dikilmiştir. Bir parselin boyutları 3.5 m x 6.6 m'dir. Parseller arasında suyun geçişini önlemek amacıyla 2.1 m'lik bir alan parsel dışı bırakılmıştır. Bu alanda oluşabilecek adveksiyonun bitkileri ve ölçümleri olumsuz etkilememesi için söz konusu alana da bitki dikilmiştir. Bu durumda her bir parsel arasına 2 bitki sırası daha ilave edilmiştir. Söz konusu bitkilerin sulaması ayrı bir hat ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 1).

Denemede sulama zamanının belirlenmesi için toprak nemi uzaktan izleme sistemiyle (Devint) sürekli izlenmiştir. Belirlenen eşik değere (%40±5) geldiğinde sulamalar yapılmıştır. Nemin izlenmesinde tüm konuların her tekerrüründe 3 farklı derinliğe (0-30 cm, 30-60 cm ve 60-90 cm) sensörler (GS1, Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, USA) yerleştirilmiştir ve deneme başlamadan önce gravimetrik esasına göre kalibrasyonları yapılmıştır. Su sayacı yardımı ile kontrollü bir şekilde deneme parsellerine uygulanan su miktarları, mm cinsinden belirlenmiş olup sulanacak alan ve örtü yüzdesiyle çarpılarak hacme çevrilmiştir. Örtü yüzdesini belirlemek için sulama öncesinde tesadüfi olarak seçilen 5 bitkinin taç genişliği sıra arasına bölünmüş ve bu değer en az %30 alınmıştır.

## 2.4. Bitkide yapılan ölçümler

Çalışmada; klorofil okumaları, stoma iletkenliği, yaprak oransal su içeriği ve termal indeksler belirlenmiştir. Yapılan ölçümler bitkinin fenolojik dönemlerine dikkate alınarak o dönem içindeki ölçümlerin ortalaması hesaplanarak verilmiştir. Fenolojik dönemler; çiçeklenme dönemi (Ç), ürün oluşumu ve ilk hasat dönemi (Ü), olgunlaşma ve son hasat dönemi (O) şeklinde ele alınmıştır. Çiçeklenme dönemi 14.07.2017-26.07.2017 tarihleri arasında yapılan üç ölçümle değerlendirilmiştir. Bu ölçümler sırasıyla dikimden sonraki günler (DSG) olan 49-56-61. günde yapılan ölçümlerdir. Ürün oluşumu ve ilk hasat döneminde (Ü) ölçümler 31.07.2017-24.08.2017 tarihleri arasında ve sırasıyla DSG66-70-74-82-86-90'da yapılmıştır. Son olarak O döneminde DSG 94-102-112-117 olmak üzere toplamda dört ölçüm yapılmış olup 28.08.2017-20.09.2017 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

### 2.4.1. Fizyolojik ölçümler

#### 2.4.1.1. Klorofil okumaları

Yaprakta klorofil miktarının göstergesi olarak klorofilmetre (Fieldscout CM 1000, FieldScout Technologies, Plainfield, IL) kullanılmıştır (Şekil 2). Klorofil okumaları her sulama öncesinde, havanın açık olduğu günlerde, gün ortasında (11.00-14.00) yapılmıştır. Ölçümler, her bir tekerrürden tesadüfi olarak seçilen üç bitkinin gelişimini tamamlamış en genç üç yaprağında yapılmıştır. Yetiştirme periyodu boyunca ölçümler aynı ışıklılık indeksinde (BRT=4) yapılmıştır (Camoglu ve Genc, 2013).



Şekil 2. Klorofilmetre okumaları.

#### 2.4.1.2. Stoma iletkenliği

Stoma iletkenliği porometre (Sc-1 Porometer, Decagon Devices Inc., WA, USA) kullanılarak ölçülmüştür (Şekil 3). Cihaz, 5 °C ile 40 °C hava sıcaklığında ve %0 ile %100 bağıl nem arasında ölçüm yapabilmektedir. Stoma iletkenliği ölçümleri, sulama konularına geçtikten sonra, her sulamada, sulama öncesinde, gün ortasında, her parselden tesadüfi seçilen üç bitkinin güneşe bakan tarafındaki birer yaprağında belirlenmiştir.



Şekil 3. Stoma iletkenliği ölçümleri

#### 2.4.1.3. Yaprak oransal su içeriği

Deneme konularına ilişkin yaprak oransal su içeriği (YOSİ) Eşitlik 1 yardımıyla hesaplanmıştır (Ackley, 1954). Konulara göre sulamaların başlamasından sonra, diğer ölçümler ile aynı günlerde, gün ortasında her parselden tesadüfi belirlenen üç bitkinin gelişimini tamamlamış en genç yapraklarında yapılmıştır.

$$YOSİ = \frac{YA - KA}{TA - KA} \times 100 \quad (1)$$

Eşitlikte; YOSİ: Yaprak oransal su içeriği (%), YA: Yaş ağırlık (mg), KA: 70 °C sıcaklıkta 48 saat bekletme sonrasındaki kuru ağırlık (mg), TA: 24 saat saf su içerisinde bekletilerek elde edilen turgor ağırlık (mg)

#### 2.4.1.4. Termal görüntülerin elde edilmesi ve termal indekslerin belirlenmesi

Termal görüntülerin elde edilmesinde termal kamera (Fluke-Ti27, Fluke, USA) kullanılmıştır. Kameranın spektrum aralığı 8-14 µm, çözünürlüğü 240x180 ve hassasiyeti 0.05 °C'dir. Aletin



emissivite değeri 0.98 alınmıştır. Ölçümler, bir bitkinin tamamını görecektir şekilde yapılmıştır (Şekil 4). Bitki taç sıcaklıkları, her sulamada, sulama öncesinde olmak üzere sulama konularının her bir tekerrüründe üç bitkiden elde edilmiştir (Jones ve ark., 2002).



Şekil 4. Termal görüntülerin elde edilmesi.

Termal görüntüler kullanılarak Eşitlik 2 yardımıyla bitki su stresi indeksi (CWSI) ve Eşitlik 3 ile de stoma iletkenliği indeksi ( $I_G$ ) hesaplanmıştır (Jones, 1999).

$$CWSI = \frac{(T_{\text{taç}} - T_{\text{ıslak}})}{(T_{\text{kuru}} - T_{\text{ıslak}})} \quad (2)$$

$$I_G = \frac{(T_{\text{kuru}} - T_{\text{taç}})}{(T_{\text{taç}} - T_{\text{ıslak}})} \quad (3)$$

Eşitliklerde;

$T_{\text{taç}}$ : Mevcut bitkinin sıcaklığı (°C)

$T_{\text{ıslak}}$ : Stressiz bitkinin sıcaklığı (°C)

$T_{\text{kuru}}$ : Tam stres altındaki bitkinin sıcaklığı (°C)

Stressiz ve tam stres altındaki bitkinin tahmini sıcaklık değerlerinin hesaplanmasında ampirik yöntem kullanılmıştır (Monteith ve Unsworth, 1990; Cohen ve ark., 2005). Bu nedenle söz konusu termal indeksler  $CWSI_e$  ve  $I_{G_e}$  olarak gösterilmiştir.

## 2.5. İstatistiksel analiz

Çalışmada, SPSS 20.0 paket programı kullanılarak varyans analizi ve Duncan testi yapılmıştır. Analizlerde önemlilik seviyesi (P değeri) %5 alınmıştır. Sulama konularının termal indekslerden yararlanılarak ayrılma potansiyelini belirlemek için Sınıflama ve Regresyon Ağacı (CRT) yönteminden yararlanılmıştır (Breiman ve ark., 1984). Termal indeksler ile incelenen özellikler arasındaki ilişkilerin belirlenmesi için regresyon analizinden yararlanılmıştır. Bu kapsamda termal indekslerden yararlanarak fizyolojik özelliklerin tahmini amacıyla basit doğrusal regresyon yöntemi kullanılmıştır.

### 3. Bulgular ve Tartışma

#### 3.1. Termal indeksler

Yetiştirme periyodu boyunca ampirik olarak hesaplanan bitki su stresi indeksi (CWSI<sub>e</sub>), Ç döneminde 0.47 ile 0.67, Ü döneminde 0.41 ile 0.73, O döneminde ise 0.38 ile 0.68 arasında değişmiştir (Çizelge 2). Bitki su stresi indeksinin sıfıra yakın olması bitkinin stressiz olduğunun, değerini bire yaklaşması ise stresin varlığını göstermektedir (Idso ve ark., 1981; Jones, 1999). Bu durum, bu çalışmada da belirgin şekilde görülmüştür. Ampirik olarak belirlenen bitki su stresi indeksinde en düşük değer S100 konusunda, en yüksek değer ise S25 konusunda belirlenmiştir.

Çizelge 2. Sulama konularına göre CWSI<sub>e</sub> değerlerinin değişimi

Sulama konuları	Büyüme dönemi*			Ortalama*
	Ç	Ü	O	
S100	0.47 C öd	0.41 D öd	0.38 C öd	0.42 D
S75	0.49 BC öd	0.52 C öd	0.49 B öd	0.50 C
S50	0.58 AB öd	0.66 B öd	0.66 A öd	0.64 B
S25	0.67 A öd	0.73 A öd	0.68 A öd	0.70 A

\*p<0.05, öd: önemli değil, Not: Her bir büyüme döneminde yer alan farklı büyük harfler, sulama konuları arasındaki; her bir konudaki farklı küçük harfler ise büyüme dönemleri arasındaki farkı göstermektedir. Ç: çiçeklenme dönemi, Ü: ürün oluşumu ve ilk hasat dönemi, O: olgunlaşma ve son hasat dönemi.

Konular arasındaki farklılıklar incelendiğinde, sadece Ü döneminde konuların tamamen farklı gruplarda yer aldığı görülmektedir. Çiçeklenme döneminde konular birbiri içinde farklılık göstermiş olmasına rağmen belirgin bir farklılık oluşmamıştır. Olgunlaşma ve son hasat döneminde ise, S25 ve S50 konuları aynı grupta yer alırken, S100 ve S75 konuları diğerlerinden ayrılmıştır. Bu da stresin fazla olduğu konuların yetiştirme periyodunun sonuna doğru ayırt edilemediği anlamına gelmektedir. Ortalama değerlere bakıldığında, yine tüm konuların ayrı sınıfta yer aldığı görülmektedir. Konuların CWSI<sub>e</sub> değerlerinin büyüme dönemlerine göre değişimi incelendiğinde, hiçbir konuda söz konusu değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir. Bu durum, sulama zamanına karar vermede ortalama değerlerin kullanılabilmesini göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda farklı bitki türleri için de termal görüntülerden hesaplanan CWSI indeksinin su stresini ayırt edebildiği vurgulanmıştır. Cohen ve ark. (2005) pamuk bitkisinde termal kamera yardımıyla CWSI indeksini belirlemişlerdir. Söz konusu değer 0.10 ile 0.58 arasında olduğunu ve su stresindeki artışa bağlı olarak bu değer de arttığını bildirmişlerdir. Camoğlu ve Genc (2013), taze fasulye bitkisinde CWSI<sub>e</sub> indeksi 0.40 (tam sulama konusu) ile 0.88 (%75 su kısıtı uygulanan konu) arasında bulmuşlardır. Söz konusu çalışmada hafif stresin (%25 su kısıtı uygulanan konu) bu indeksle ayırt edilemediği bildirilmiştir. Ancak, bu çalışmada elde edilen bulgularda, S100 konusunun hafif stresin uygulandığı S75 konusundan da ayrıldığı görülmektedir. Bu durum bitki türlerine veya çeşitlerine göre stresin ayırımının değişebileceğini göstermektedir.

Termal ölçümlerden hesaplanan diğer bir indeks olan I<sub>Ge</sub>, Ç döneminde 0.50 ile 1.15, Ü döneminde 0.41 ile 1.52, O döneminde ise 0.51 ile 1.97 arasında değişmiştir (Çizelge 3). Ampirik hesaplanan stoma iletkenliği indeksinde en düşük değer sıfır olup bu değere yakın olması bitkinin stresli olduğunu ve bu değerden uzaklaştıkça da stresin azaldığını ifade etmektedir (Jones, 1999). Söz konusu durum bu çalışmada da gerçekleşmiştir. En yüksek değer S100 konusunda, en düşük değer ise S25 konusunda görülmüştür. I<sub>Ge</sub> indeksinin stresin fazla olduğu konular arasında ayırt edici olmadığı gözlenmiştir. Çiçeklenme dönemi dışında diğer iki büyüme döneminde S100 ve S75 konuları arasında istatistiksel açıdan farklı gruplarda yer almıştır (Çizelge 3). Büyüme dönemlerindeki bu durumlar ortalama değerlere de yansımıştır. Sulama konularının büyüme dönemlerine göre değişimine bakıldığında, istatistiksel açıdan bir değişimin olmadığı görülmektedir. Bu durum, CWSI<sub>e</sub> indeksinde olduğu gibi I<sub>Ge</sub> indeksinde de sulama zamanına karar vermede ortalama değerlerin kullanılabilmesini göstermektedir.

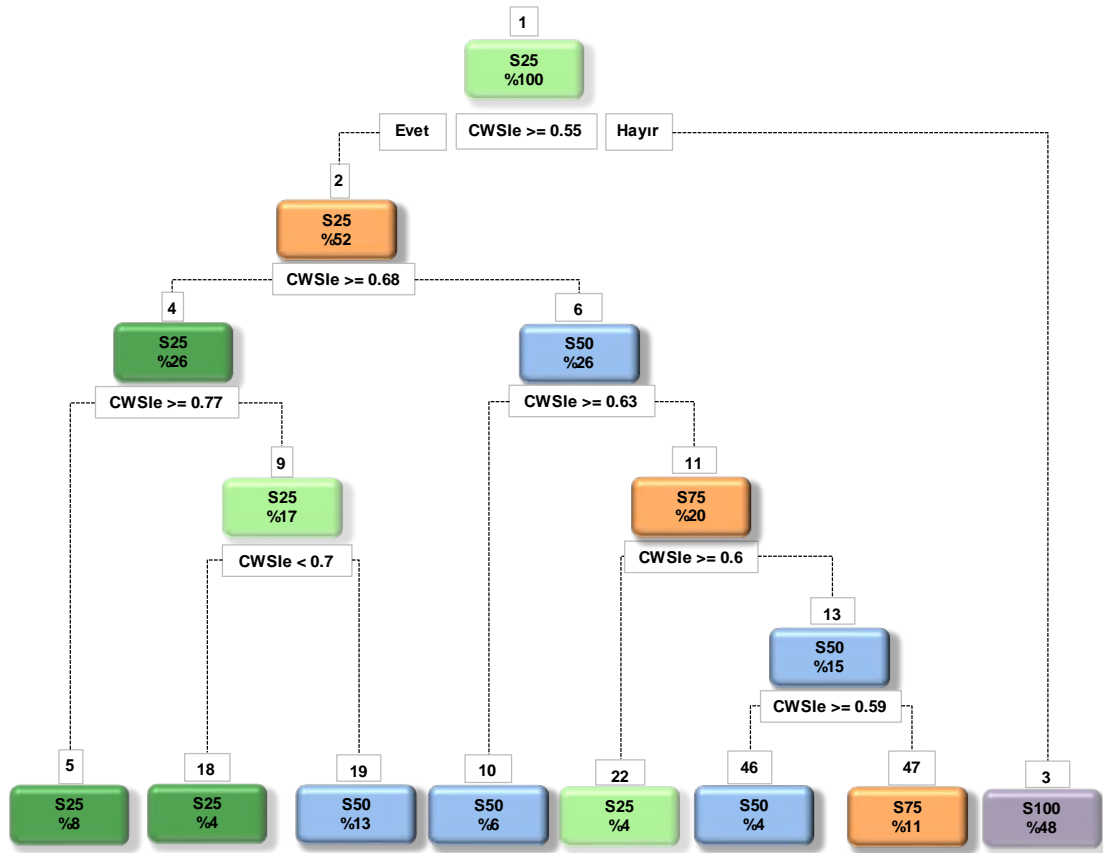
Çizelge 3. Sulama konularına göre  $I_{Ge}$  değerlerinin değişimi

Sulama konuları	Büyüme dönemi*			Ortalama*
	Ç	Ü	O	
S100	1.15 A öd	1.52 A öd	1.97 A öd	1.58 A
S75	1.08 A öd	0.99 B öd	1.18 B öd	1.07 B
S50	0.73 B öd	0.56 C öd	0.57 C öd	0.60 C
S25	0.50 B öd	0.41 C öd	0.51 C öd	0.46 C

\* $p < 0.05$ , öd: önemli değil, Not: Her bir büyüme döneminde yer alan farklı büyük harfler, sulama konuları arasındaki; her bir konudaki farklı küçük harfler ise büyüme dönemleri arasındaki farkı göstermektedir. Ç: çiçeklenme dönemi, Ü: ürün oluşumu ve ilk hasat dönemi, O: olgunlaşma ve son hasat dönemi.

### 3.2. Sınıflama ve regresyon ağacı analizi

Termal indeksler kullanılarak sulama konularının ayırt edilemeyeceğine ilişkin yapılan sınıflama ve regresyon ağacı analizi sonuçları Şekil 5'te ve sınıflama matrisine ait sonuçlar Çizelge 4'de sunulmuştur.



Şekil 5. Sınıflama ve regresyon ağacı sonuçları.

Termal indeksler ile oluşturulan sınıflama modelinde 47 farklı nod oluşmuş ve sulama konularının her biri farklı alt nodlarda sınıflandırılmıştır (Şekil 5). Bu modelde sınıflamaya etki eden tek indeks  $CWSI_e$  olmuştur. Diğer indeks olan  $I_{Ge}$ 'nin sınıflandırmada etkisi olmamıştır. Oluşturulan modelde  $CWSI_e$  değeri 0.55'den küçük olduğunda (nod 1) belirgin biçimde S100 konusu olduğu görülmektedir. Çamoğlu ve Genç (2013) yaptıkları çalışmada, CRT analizi ile taze fasulyede söz konusu değeri 0.65 olarak bulmuşlardır. 0.77'ye eşit veya büyük olduğunda S25 (nod 4), 0.63 (nod 6) ile 0.68 (nod 2) arasında olduğunda S50 konusunun olabileceğine işaret etmektedir. 0.63'e eşit veya küçük (nod 6) olduğunda S75 konusu olabileceği, buradan da 0.59'a eşit veya küçük (nod 47) olduğunda bunun S75 olabileceği anlaşılmaktadır.

Sınıflama sonuçlarına göre ortalama hata %41.7 olmuştur (Çizelge 4). Söz konusu modelde en fazla hata S75 konusunda elde edilirken, S100 konusundaki sınıflamada hiç hata olmamıştır. Diğer bir

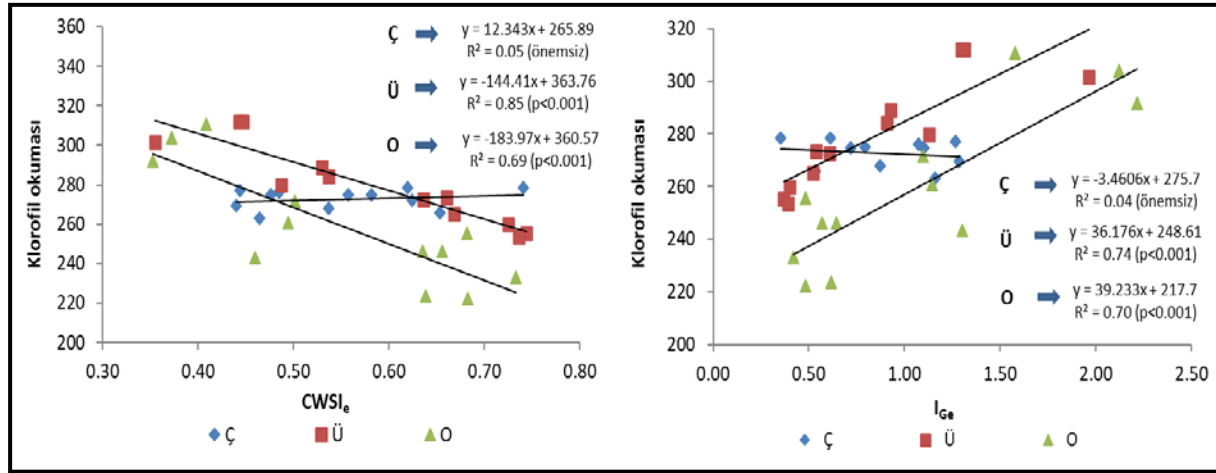
ifadeyle, oluşturulan bu modeldeki karar yolu kullanılarak S100 konusu diğer konulardan %100 başarı ile ayırt edilebilmiştir. Bu durum S100 konusuna ilişkin  $CWSI_e$  değerinin sulama zaman planlamasında kullanılabilir olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4. Sınıflama ve regresyon ağacı modeline dayalı olarak termal indekslere göre örneklerin sınıflama sonuçları

Gerçek sınıf	Tahmin sınıfı				Oransal Hata
	S25	S50	S75	S100	
S25	21	12	3	3	%46.2
S50	3	23	6	7	%41.0
S75	3	2	8	26	%79.5
S100	0	0	0	39	%0.0
Ortalama					%41.7

### 3.3. Klorofil okumaları ve termal indeksler arasındaki regresyon modelleri

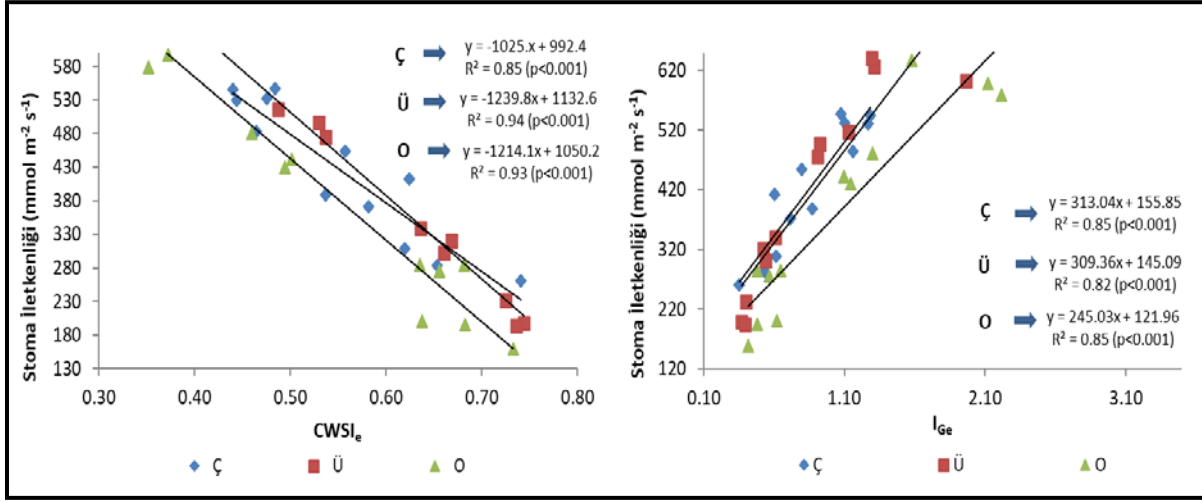
Yapraktaki klorofilin bir belirteci olan klorofil okumaları ile termal indeksler arasındaki regresyon analizleri Şekil 6'da gösterilmiştir. Analiz sonuçlarına göre klorofil okuması ile indeksler arasındaki  $R^2$  değerleri, Ç döneminde her iki indeks için de önemsiz ( $p < 0.05$  düzeyinde) bulunmuştur. Çiçeklenme dönemindeki ilişki düzeyinin oldukça düşük olması, dikimden ürün oluşumuna kadar geçen süre içerisinde yapraklardaki klorofilin su stresinden kaynaklı olarak henüz parçalanma sürecine girmemiş olması ile açıklanabilir. Ancak söz konusu dönemden sonra önemli bir artış göstermiş ve en yüksek  $R^2$  değeri Ü döneminde gerçekleşmiştir. Söz konusu dönemde  $CWSI_e$  ile klorofil okuması arasındaki ilişki  $I_{Ge}$ 'ye göre daha iyi bulunmuştur. Strachan ve ark. (2002), mısırdaki klorofil ile yansıma değerleri arasındaki  $R^2$  değerlerini sırasıyla 0.76 ve 0.81 olarak belirlemişlerdir. Fujiwara ve ark. (2004), soya fasulyesinde su stresi koşullarında yakın kızılötesi bölgedeki yansıma değerleri ile klorofil değerleri arasında yüksek bir ilişki elde etmişlerdir.



Şekil 6. Klorofil okumaları ve termal indeksler arasındaki ilişkiler.

### 3.4. Stoma iletkenliği ve termal indeksler arasındaki regresyon modelleri

Stoma iletkenliği ile termal indeksler arasında elde edilen regresyon modelleri Şekil 7'de verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre,  $R^2$  değerleri termal indeks ve büyüme dönemleri dikkate alındığında 0.82 ile 0.94 arasında olup bu değerlerin oldukça yüksek olduğu söylenebilir. Bu durumda, genel anlamda her iki indeksin de tüm büyüme dönemlerinde, stoma iletkenliğini tahmin etme gücünün kuvvetli olduğu anlaşılmaktadır. Büyüme dönemlerine göre elde edilen  $R^2$  değerlerinin  $I_{Ge}$  için önemli düzeyde değişmediği,  $CWSI_e$  için ise çiçeklenmeden sonra artış gösterdiği görülmektedir.

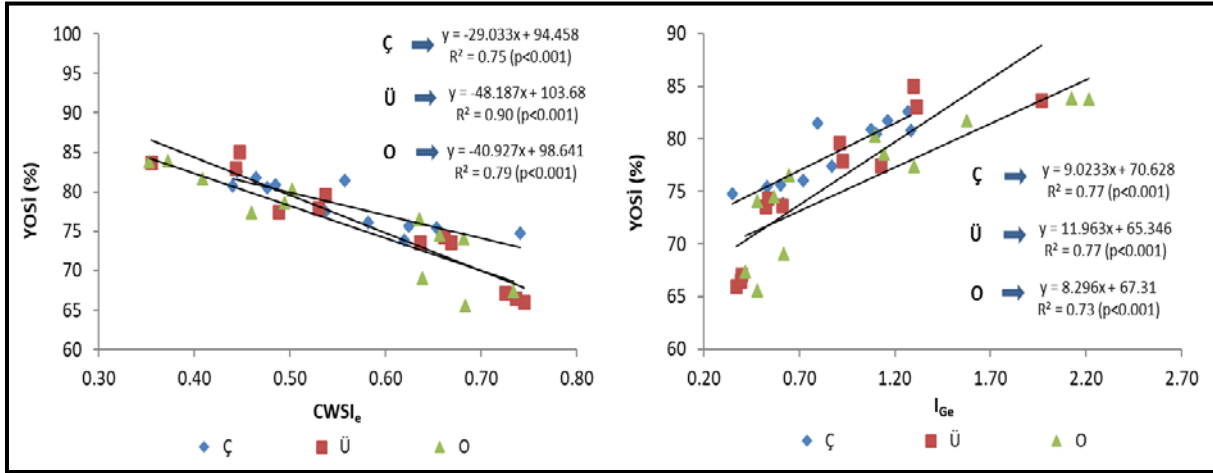


Şekil 7. Stoma iletkenliği ve termal indeksler arasındaki ilişkiler.

Zia ve ark. (2013), mısır bitkisinde stoma ve CWSI arasındaki R<sup>2</sup> değerini 0.62 bulmuşlardır. Çamoğlu ve ark. (2019), domateste termal görüntülerden ampirik olarak hesapladıkları CWSI ile stoma iletkenliği arasındaki R<sup>2</sup> değerlerini 0.55-0.96 arasında bulmuşlardır. Söz konusu ilişkinin gücünün ilk ölçümden sonra arttığını da belirtmişlerdir.

### 3.5. Yaprak oransal su içeriği ve termal indeksler arasındaki regresyon modelleri

Yaprak oransal su içeriği (YOSİ) ile termal indeksler arasındaki regresyon modelleri her bir büyüme dönemi için ayrı olmak üzere Şekil 8’de verilmiştir. CWSI<sub>e</sub> ile YOSİ arasındaki R<sup>2</sup> değerleri 0.75-0.90, I<sub>Ge</sub> ile 0.73-0.77 olarak elde edilmiştir. Çiçeklenme ve O dönemlerinde her iki indeks için bulunan R<sup>2</sup> değerleri birbirine yakın olmasına rağmen, Ü döneminde CWSI<sub>e</sub> indeksinin tahmin gücünün I<sub>Ge</sub>’ye göre oldukça iyi olduğu anlaşılmaktadır. Bu da söz konusu dönemde CWSI<sub>e</sub> indeksinin YOSİ tahmininde kullanılmasının daha uygun olduğu sonucunu çıkarmaktadır.



Şekil 8. Yaprak oransal su içeriği ve termal indeksler arasındaki ilişkiler.

Çamoğlu ve ark. (2018), Demre çeşidi biberde bitki su durumunun göstergesi olarak belirledikleri yaprak oransal su içeriği ile CWSI<sub>p</sub> (vazelin ve su kullanılarak hesaplanan) arasındaki R<sup>2</sup> değerini 0.23 olarak bulmuşlardır. İki çalışmada elde edilen R<sup>2</sup> değerleri arasındaki bu farklılıkların, CWSI indeksinin farklı şekilde hesaplanmasıyla ve/veya aynı bitki türü olsa dahi çeşitlerin de etkili olabileceğinin bir göstergesi olarak açıklanabilir.

#### 4. Sonuç

Biberde bitki düzeyinde yapılan termal ölçümler ile su stresi düzeyinin ve hesaplanan termal indeksler ile bazı fizyolojik özellikler arasındaki ilişkilerin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, ele alınan tüm özellikler uygulanan su stresine önemli tepkiler göstermiştir. Araştırmada, incelenen termal indekslerin her ikisinde de özellikle çiçeklenme döneminden sonra konular arasındaki fark oldukça belirgin olmuştur. Termal indeksler büyüme dönemine göre değişiklik göstermediği için S100 konusuna ilişkin ortalama değerler sulamaya başlamak için eşik değer alınabilir. Bu durumda CWSI<sub>e</sub> 0.42 ve I<sub>Ge</sub> indeksi de 1.57 olarak alınabilir. Su stresinin ayırt edilmesindeki başarılarını değerlendirmek amacıyla yapılan sınıflama ve regresyon ağacı analizine göre modele sadece CWSI<sub>e</sub> indeksi girmiştir. Bu durumda, söz konusu indeksin bu amaçla kullanımının yeterli olduğu söylenebilir. Model sonucunda özellikle S100 konusuna ilişkin sınıflandırmada hata olmaması CWSI<sub>e</sub> indeksinin sulama zaman planlamasında kullanılabilir olduğunu göstermiştir. Biberin her bir büyüme dönemi için ayrı ayrı yapılan tek değişkenli doğrusal regresyon analizlerine göre termal indeksler ile fizyolojik özellikler arasında (en yüksek R<sup>2</sup>=0.94) elde edilen modellerde istatistiksel açıdan önemli ilişkiler bulunmuştur. Sadece klorofil okumaları ile her iki termal indeks arasındaki R<sup>2</sup> değeri çiçeklenme döneminde önemsiz çıkmıştır. Özellikle söz konusu büyüme döneminden sonra tüm ilişkilerin gücü artmıştır. Bu nedenle, incelenen fizyolojik özelliklerin tahmininde çiçeklenme döneminden sonra elde edilen modellerin kullanımı, tahmin başarısının artması açısından önerilebilir.

Sonuç olarak; biberde, bitki düzeyinde elde edilen termal indekslerin sulamaya başlama zamanının ve su stresinin belirlenmesinde kullanım potansiyeli olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca, su stresine bağlı olarak gelişebilecek semptomlar da söz konusu tekniklerle yüksek doğrulukla belirlenebilir.

#### Teşekkür

Bu çalışma, TÜBİTAK (Proje No: 116O264) tarafından desteklenmiştir.

#### Kaynakça

- Ackley, W. M. B. (1954). Water contents and water deficits of leaves of bartlett pear trees on the two rootstocks, *Pyrus communis* and *P. serotina*. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 64, 181-185.
- Anonim. (2015). Çanakkale İli Tarımsal Yatırım Rehberi. [https://www.tarim.gov.tr/SGB/TARYAT/Belgeler/il\\_yatirim\\_rehberleri/canakkale.pdf](https://www.tarim.gov.tr/SGB/TARYAT/Belgeler/il_yatirim_rehberleri/canakkale.pdf) Erişim tarihi: 15.01.2019.
- Aybak, H. Ç. (2007). *Biber*, Hasad Yayıncılık. 2.baskı, İstanbul.
- Behmann, J., Steinrücken, J., & Plümer, L. (2014). Detection of early plant stress responses in hyperspectral images. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 93, 98-111.
- Breiman, L., Friedman, J. H., Olshen, R. A., & Stone, C. J. (1984). *Classification and Regression Trees*. Monterey, Calif., U.S.A. Wadsworth, Inc.
- Camoğlu, G., & Genç, L. (2013). Determination of water stress using thermal and spectral indices from green bean canopy. *Fresenius Environmental Bulletin*, 22(10a), 3078-3088.
- Camoğlu, G., Demirel, K., & Genç, L. (2018). Use of infrared thermography and hyperspectral data to detect effects of water stress on pepper. *Quantitative InfraRed Thermography J.*, 15, 81-94.
- Cohen, Y., Alchanatis, V., Meron, M., Saranga, S., & Tsipris, J. (2005) Estimation of leaf water potential by thermal imagery and spatial analysis., *J. of Experimental Botany*, 56, 1843-1852.
- Çamoğlu, G., & Genç, L. (2013). Taze fasulyede su stresinin belirlenmesinde termal görüntülerin ve spektral verilerin kullanımı. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1(1), 15-27.
- Çamoğlu, G., Demirel, K., & Genç, L. (2019). Termal kamera ve NDVI sensörü kullanılarak domatesin fizyolojik özelliklerinin tahminlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 23, 78-89.
- Fujiwara, H., Endo, T., & Yasuoka, Y. (2004, November). *Evaluation of water stress on a crop using the portable hyper spectral imager*. 25<sup>th</sup> Asian Conference on Remote Sensing & 1<sup>st</sup> Asian

- Space Conference, Thailand.
- Jackson, R. D. (1982). Canopy temperature and crop water stress. *Advances in Irrigation Research*, 1, 43-85.
- Jackson, R. D. (1986). Remote sensing of biotic and abiotic plant stress. *Annual Review of Phytopathology*, 24, 265-287.
- Jones, H. G. (1999). Use of infrared thermometry for estimation of stomatal conductance as a possible aid to irrigation scheduling. *Agricultural and Forest Meteorology*, 95, 139–149.
- Jones, H. G., Stoll, M., Santos, T., Sousa, C., Chaves, M. M., & Grant, O. (2002). Use of infrared thermography for monitoring stomatal closure in the field: application to grapevine. *Journal of Experimental Botany*, 53, 2249-2260.
- Kaçar, B., Katkat, A. V., & Öztürk, Ş. (2009). *Bitki Fizyolojisi*, Nobel Yayınları, 489, Ankara.
- Monteith, J. L., & Unsworth M. L. (1990). *Principles of Environmental Physics*, 2nd ed. Edward Arnold, London, United Kingdom, pp: 414.
- Strachan, I. B., Pattey, E., & Boisvert, J. B. (2002). Impact of nitrogen and environmental conditions on corn as detected by hyperspectral reflectance. *Remote Sensing of Environment*, 80(2), 213-224.
- Vural, H., Eşiyok, D., & Duman, İ. (2000). *Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme)*. Ege Üniversitesi Basım Evi, Bornova, İzmir.
- Zia, S., Romano, G., Spreer, W., Sanchez, C., Cairns, J., Araus, J. L., & Müller, J. (2013). Infrared thermal imaging as a rapid tool for identifying water-stress tolerant maize genotypes of different phenology. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199, 75-84.



Research Article (Araştırma makalesi)

## Evaluating and Ranking the Development level of Rural Areas of Tabriz using Copeland Model and Comparison the Results with Topsis, Vikor and Electre Models

Soheila HEIDARZADEH<sup>1</sup>, Raziieh POURDARBANI\*<sup>2</sup>, Fatemeh ZADVALI<sup>3</sup>,  
Asghar PASHAZADEH<sup>4</sup>

<sup>1,2</sup>University of Mohaghegh Ardabili, Faculty of Agriculture, Department of biosystem engineering, Ardabil, Iran

<sup>3</sup>University of Tabriz, Dept. of Geography, Tabriz, Iran

<sup>4</sup>University of Mohaghegh Ardabili, Dept. of Geography, Ardabil, Iran

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-3151-0997> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-0766-8305> <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-0764-5640>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0003-0243-1931>

\*Corresponding author e-mail: [r\\_pourdarbani@uma.ac.ir](mailto:r_pourdarbani@uma.ac.ir)

### Article Info

Received: 14.11.2019

Accepted: 06.08.2020

Online Published 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.646630

### Keywords

Copeland,  
Development,  
Electre,  
Rural Areas,  
Tabriz,  
Topsis,  
Vikor.

**Abstract:** Agricultural development is a major part of the rural development process, and it is impossible to imagine a developed world without agricultural development. Thus, the purpose of this study was to determine the level of agricultural development in Tabriz rural areas and to rank them in terms of agricultural development using Topsis, Vikor, Electre, and Copeland models. In this study, 8 agricultural criteria including level of Education, area of fields and orchards, mechanization level, livestock, fish farming, service-support and yield were used. The weight of the criteria was determined by paired comparison method and all the analysis steps were performed by Excel software and finally GIS software was used to produce the map. The results indicated that in the Topsis model, Lahijan was ranked first and Ajichai was the last, and in the Vikor model, Lahijan was ranked first and Maidanchai was the last. Thus to obtain consensus on the results of the models, Copeland method was used. Copeland's method is a Condorcet method in which the winner is determined by finding the candidate with the most pairwise victories. According to the Copeland model, Lahijan and Ajichai were ranked first and sixth, respectively. The status of all the considered rural areas was at "in developing" status. Coefficient of variation showed that fish farming criteria (CV=2.24) had the most distribution inequality among the villages and rice yield criteria (CV=0) had the most suitable distribution among the villages.

## Copeland Modelini Kullanarak Tebriz'in Kırsal Alanlarının Gelişim Düzeyini Değerlendirme ve Sıralama ve Sonuçları Topsis, Vikor ve Electre Modelleriyle Karşılaştırma

### Makale Bilgileri

Geliş: 14.11.2019

Kabul: 06.08.2020

Online Yayınlanma 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.646630

**Öz:** Tarımsal gelişme, kırsal kalkınma sürecinin önemli bir parçasıdır ve tarımsal gelişme olmadan gelişmiş bir dünyayı hayal etmek imkansızdır. Dolayısıyla, bu çalışmanın amacı Tebriz kırsal alanlarındaki tarımsal gelişme düzeyini belirlemek ve bunları Topsis, Vikor, Electre ve Copeland modellerini kullanarak tarımsal gelişme açısından sıralamaktır. Bu çalışmada, Eğitim seviyesi, tarla ve bahçe alanları, mekanizasyon seviyesi, hayvancılık, balık çiftliği, servis desteği ve verim olmak üzere 8 tarımsal kriter kullanılmıştır. Kriterlerin ağırlığı eşleştirilmiş karşılaştırma yöntemiyle belirlenmiş ve tüm analiz adımları Excel yazılımı ile yapılmış ve harita oluşturmak için son olarak



## Anahtar kelimeler

Copeland,  
Kalkınma,  
Electre,  
Tebriz,  
Topsis,  
Kırsal Alanlar,  
Vikor.

GIS yazılımı kullanılmıştır. Sonuçlar, Topsis modelinde Lahijan'ın birinci, Ajichai'nin en son ve Vikor modelinde Lahijan'ın birinci, Maidanchai'nin sonuncu olduğunu göstermiştir. Böylece modellerin sonuçları üzerinde fikir birliği sağlamak için Copeland yöntemi kullanılmıştır. Copeland'in yöntemi, kazanan adayın en fazla ikili galibiyet ile bularak belirlendiği bir Condorcet yöntemidir. Copeland modeline göre, Lahijan ve Ajichai sırasıyla birinci ve altıncı sırada yer almıştır. Tüm dikkate alınan kırsal alanların statüsü “gelişme aşamasında” bulunmuştur. Değişim katsayısı, balık çiftliği kriterlerinin ( $CV = 2.24$ ) köyler arasında en fazla eşitsizliğe sahip olduğunu ve pirinç verim kriterlerinin ( $CV = 0$ ) köyler arasında en uygun dağılıma sahip olduğunu göstermiştir.

## 1. Introduction

Regional inequalities and uneven distribution of facilities and services are characteristics of Third World countries. In Iran, different geographical and climatic conditions have led to the emergence of different geographical landscapes over time. As a result, different parts of the country have resulted in inequalities in the benefits of facilities and services (Fields, 1981). Therefore, recognizing inequalities and imbalances within different geographical areas (country, province and city) and thus identifying differences as well as policy making to reduce inequalities are essential tasks for development managers (Latifi, 2009).

The agricultural is one of the most important sectors of the economy because of its vital role in ensuring food security. In the process of development of most countries, this sector has played a decisive role in creating economic and currency surplus. Today, in some developing countries, agricultural activities are also important in terms of employment creation. In most developed countries, the role of agriculture goes beyond the supply of essential food and also includes the provision of political, social and economic priorities, and is therefore irreplaceable.

The necessity of research arises from the fact that agricultural development is one of the most important issues facing the economy and society of the country; and the role of rural areas is undeniable in the development and survival of any country, especially developing countries. This research can provide the appropriate tools for authorities to achieve a reasonable balance between the rural areas. In this regard, a number of internal and external studies have been carried out, which are summarized below:

Eslahi (2011) analyzed the level of rural development in Zanjan province using three methods: Morris, Taxonomy and Factor Analysis. He concluded that due to the lack of comprehensive rural development policies in rural areas of Zanjan, the development of all areas was not uniform and resulted in the migration and destruction of facilities in these areas. AL-Hassan (2007) studied on regional inequalities in Ghana during 1990-2000. The results showed that economic growth during this period led to a reduction in public poverty, but since growth was mainly due to export of agricultural products, the development gap between the northern, which could not compete in agriculture, and southern regions widened. He suggests the attracting enough investment in less developed areas for economic prosperity. Badri et al. (2005) studied on the development level of rural areas of Kamyaran using the Morris method. The results showed that development coefficients were different between Kamyaran districts and there were differences and inequality. Heidari (2012) ranked the rural areas of Meshginshahr in terms of agricultural development levels using the TOPSIS method. The results showed that among the rural districts studied, Gharasu was ranked first, and Noghdi district came in last. Other researches can be mentioned to Mousavi and Sadigh, (2015); Jamshidi (2018); Pezeshki and Zarafshani (2008); Khakpour (2006); Xuegong (2006); Sharifi and Khaledi (2009); Fayyaz Azar et al. (2012); Kalantari (2012); and Kohansal and Rafiei Darani (2009).

The purpose of the present study is to rank the development level of rural areas of Tabriz using agricultural development criteria using Topsis, Vikor, Electra and hybrid Copeland model.

## 2. Material and Methods

### 2.1. Introduction to the study area

Tabriz city with an area of 2167 km<sup>2</sup> (4.8% of the total area of province) is the center of East Azerbaijan province and its approximate altitude is 1350 m above sea level. Tabriz is bounded on the north by Varzeghan, on the east by Haris and Bostanabad, on the west by Shabestar and Osco, and on the south by Maragheh. According to the latest national divisions of Tabriz, the city has two districts namely central (including Sections of Maidan Chai, Sard Sahara, Ajichai and Spiran) and Khosrowshah (including Lahijan and Akhandakand).

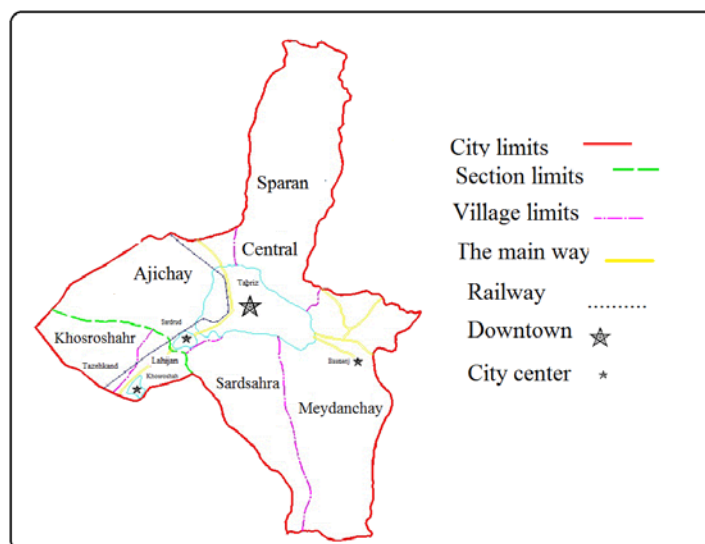


Figure 1. Geographical map of the study area.

### 2.2. Methodology

In this study, the research method is descriptive-analytical and applied. The population of a statistical study includes Lahijan, Ajichai, Espran, Sardshahra, Maidanchai and Tazekand. A list of 8 agricultural development indices (Table 1) including literacy, horticulture, animal husbandry, mechanization, fish farming, services–support system and yield of agricultural products were defined using the last statistical census of East Azerbaijan province. Then, agricultural development level of rural areas was evaluated using Vikor, Topsis, Electra and Copeland methods in Excel. GIS software was used to draw the map. Also, the coefficient of variation (CV) was used to determine agricultural inequality between the studied villages.

Table1. Agricultural Development Indices of Tabriz Villages

Indices	Variables
Ratio of non-farmers with associate degree and higher to total Literates (X <sub>1</sub> )	Literacy
Ratio of farmers with associate degree and higher to total literates (X <sub>2</sub> )	
Average irrigated farming area (X <sub>3</sub> )	The size of the land
Average dry-land Area (X <sub>4</sub> )	
Ratio of area under cultivation to total land use (X <sub>5</sub> )	
Ratio of fallow area to total land use (X <sub>6</sub> )	
The ratio of land area to the number of land uses (X <sub>7</sub> )	
Ratio of sheep and lamb to number of owners (X <sub>8</sub> )	Animal husbandry
Ratio of Goat to number of owners (X <sub>9</sub> )	
Ratio of cattle and calf to number of owners (X <sub>10</sub> )	Fish farming
Ratio of buffalo to number of owners (X <sub>11</sub> )	
Ratio of number of users of cold water fishes to total number of users (X <sub>12</sub> )	
Ratio of number of warm water fishes to total number of users (X <sub>13</sub> )	Performance of agricultural products
Annual crop yield per ha (X <sub>14</sub> )	
Wheat yield per ha (X <sub>15</sub> )	
Dry-land wheat yield per ha (X <sub>16</sub> )	
Barely yield per ha (X <sub>17</sub> )	
Dry-land barley yield per ha (X <sub>18</sub> )	
Rice yield per ha (X <sub>19</sub> )	The size of the garden
The ratio of garden area to total land use (X <sub>20</sub> )	
Ratio of number of agricultural machinery repair centers to total area of lands (X <sub>21</sub> )	Support service
Ratio of the number of agricultural machinery repairmen to the total area of arable land (X <sub>22</sub> )	
The ratio of the number of pressurized irrigation equipment to the total area of land (X <sub>23</sub> )	
Ratio of spare parts of agricultural machinery to total area of Lands (X <sub>24</sub> )	
The ratio of the number of pressurized irrigation equipment stores to the total land area (X <sub>25</sub> )	
Ratio of tractor utilization to total area (X <sub>26</sub> )	Mechanization
Ratio of number of combine to total area of land (X <sub>27</sub> )	
Ratio of the number of utilizations of the trailer to the total area of arable land (X <sub>28</sub> )	

### 2.3. Multi- attribute decision making (MADM)

In this method, unlike the classical, instead of one attribute, several attributes play a role in determining the best option. In MADM models, a number of options are analyzed according to a set of criteria. At first, the qualitative criteria are quantified and scaled, if any (Triantaphyllou, 2000).

#### 2.3.1. Vikor approach

Vikor's approach is applied to problems with incompatible criteria so that the decision maker needs a solution that is close to the ideal solution. To choose the best option using this method, follow these steps (Chatterjee & Chakraborty, 2016).

Step 1: Form the decision matrix (X<sub>ij</sub>) where X<sub>ij</sub> is the function of the option (i = 1, 2, ..., m) with respect to the attribute (j = 1,2, ..., n) j.

$$X_{ij} = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1n} \\ x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2n} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ x_{m1} & x_{m2} & \dots & x_{mn} \end{bmatrix} \quad (1)$$

Step 2: Normalize the decision matrix; at this stage, by standardizing the data, the range of values ( $X_{ij}$ ) is converted to a standard range between 0 and 1 and  $V_{ij}$  matrix is obtained.

$$V_{ij} = \begin{bmatrix} v_{11} & v_{22} & \dots & v_{1n} \\ v_{21} & v_{22} & \dots & v_{2n} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ v_{m1} & v_{m2} & \dots & v_{mn} \end{bmatrix} \quad (2)$$

Step 3: Determine the weight vector of the criteria; in this step, the weights assigned ( $w_j$ ) is determined. The sum of the weights must be such that  $0 \leq .wj \leq 1$  and  $\sum_j w_j = 1$  are obtained.

$$w = \{w_1, w_2, \dots, w_n\} \quad (3)$$

Step 4: Determine the best (Ideally Positive) and worst (Ideally Negative) value among the values for each criterion. The best values for positive and negative criteria are calculated by equations (4,5).

$$f_i^* = \min_i f_{ij} \quad (4)$$

$$f_i^* = \max_i f_{ij} \quad (5)$$

The worst values of positive and negative criteria are calculated from the equations (6) and (7).

$$f_i^- = \min_i f_{ij} \quad (6)$$

$$f_i^{*-} = \max_i f_{ij} \quad (7)$$

Step 5: Calculate the ideal or useful value (S) and the anti-ideal (R) value calculated according to the equations (6) and (7).

$$s_i = \sum_{n-1}^n w_j \frac{f_j^* - f_{ij}}{f_j^* - f_j^-} \quad (8)$$

$$R_i = \max \left\{ w_j \frac{f_j^* - f_{ij}}{f_j^* - f_j^-} \right\} \quad (9)$$

Step 6: Calculate Vikor index (Q value) that represents the distance from the ideal and is calculated according to equation (10) and (11).

$$Q_i = v \left[ \frac{s_i - s^-}{s^* - s^-} \right] + (1 + v) \left[ \frac{R_i - R^-}{R^* - R^-} \right] \quad (10)$$

$$R^* = \max R_j, R^- = \min R_j, S^* = \max S_j, S^- = \min S_j \quad (11)$$

Step 7: Sort Options by R, S, Q Values that is arranged in three groups from small to large according to the values of R, S, Q. Finally, the first option is to be recognized as the top rank in the Q group.

### 2.3.2. Topsis approach

The idea of Topsis can be expressed in several steps (Kabli, 2009: 43).

Step 1: Normalization that there are several methods. In this paper, it was used the ratio of the initial value ( $a_{ij}$ ) and the sum the initial values (eq. 12).

$$n_{ij} = \frac{a_{ij}}{\sqrt{\sum_{i=1}^m a_{ij}^2}} \quad (12)$$

Step 2: Obtain a standard weighted matrix

$$w = \{w_1, w_2, \dots, w_n\} \quad (13)$$

Step 3: Determine the ideal positive solution vectors ( $V_j^+$ ) and the ideal negative solution ( $V_j^-$ ).

$$A^* = \left\{ \left( \max_i v_{ij} \mid j \in J \right) \left( \min_i v_{ij} \mid j \in J' \right) \mid i = 1, 2, \dots, m \right\} = \{v_1^*, v_2^*, \dots, v_j^*, \dots, v_n^*\} \quad (14)$$

$$A^- = \left\{ \left( \min_i v_{ij} \mid j \in J \right) \left( \max_i v_{ij} \mid j \in J' \right) \mid i = 1, 2, \dots, m \right\} = \{v_1^-, v_2^-, \dots, v_j^-, \dots, v_n^-\} \quad (15)$$

Step 4: Calculate the distance of each option from  $V_j^+$  and  $V_j^-$  using the following equations (16-17)

$$d_j^+ = \sqrt{\sum_{i=j}^n (v_{ij} - v_i^+)^2} \quad (16)$$

$$d_j^- = \sqrt{\sum_{i=j}^n (v_{ij} - v_i^-)^2} \quad (17)$$

Step 5: Calculate the proximity of the options to the ideal solution

$$C_j^+ = \frac{d_j^-}{d_j^+ + d_j^-} \quad (18)$$

Step 6: Rank the options that highest value is the most effective.

### 2.3.3. Electre approach

The steps of the Electre approach can be described as follows (Amiri and Dastani Farahani, 2013).

Step 1: Create a Normal Matrix (R).

$$r = \frac{x_{ij}}{\sqrt{\sum_i (x_{ij})^2}} \quad (19)$$

$$r = \begin{pmatrix} r_{11} & \dots & r_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ r_{m1} & \dots & r_{mn} \end{pmatrix}$$

Step 2: Applying the weights of the criteria and forming the weighted matrix V using the vector W.

$$V = W * R \quad (20)$$

$$\begin{pmatrix} v_{11} & \dots & v_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ v_{m1} & \dots & v_{mn} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} w_1 * r_{11} & \dots & w_n * r_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ w_m * r_{m1} & \dots & w_m * r_{mn} \end{pmatrix}$$

Step 3: Calculate the concordance matrix.

$$C_{KI} = \{j / x_{kj} \geq x_{ij}\} = JC_{KI} \tag{21}$$

Step 4: Calculate the discordance matrix, which shows non-superiority. Then, in this step, after specifying the set of inconsistencies, we divide the criteria for the discordancy of the criteria and divide the maximum value of the "difference between two options" by the maximum value of the "variance difference" in all the criteria.

$$C_{KI} = \frac{\sum_{j \in C_{Ki}} W_j}{\sum_{j=1}^n W_j} \tag{22}$$

$$C = \begin{bmatrix} - & c_{12} & \dots & c_{1n} \\ c_{21} & - & \dots & c_{2n} \\ c_{m1} & \dots & c_{m(n-1)} & - \end{bmatrix}$$

Based on the above mathematical relation, we form the matrix of dissonance (eq. 23).

$$d_{kl} = \frac{\text{Max}_{j \in D_{kl}} \{v_{kj} - v_{lj}\}}{\text{Max}_{j \in J} \{v_{kj} - v_{lj}\}} \tag{23}$$

$$D_x = \begin{bmatrix} - & d_{12} & \dots & d_{1n} \\ d_{21} & - & \dots & d_{2n} \\ d_{m1} & \dots & d_{m(n-1)} & - \end{bmatrix}$$

Step 6: Identify the effective concordance matrix

$$D_x = \begin{bmatrix} - & d_{12} & \dots & d_{1n} \\ d_{21} & - & \dots & d_{2n} \\ d_{m1} & \dots & d_{m(n-1)} & - \end{bmatrix} \tag{24}$$

In order to have a better relative assessment of the preference of the options, the components of the concordance matrix are compared with a threshold value to determine which of these components exceeds the minimum threshold and meet our minimum expectations.

$$h_{ki} = 1, \text{ if } c_{ki} \geq c^- \tag{25}$$

$$h_{Ki} = 0, \text{ if } c_{Ki} < c^-$$

Step 7: Identify the effective discordance matrix

$$d^- = \frac{\sum_{k=1}^m \sum_{i=1}^m d_{ki}}{m(m-1)} \quad k \neq 1 \tag{26}$$

Step 8: Identifying the overall and effective matrix. In order to finally be able to come to a conclusion on the superiority of the options, we multiply the two effective concordance matrix and effective discordance matrix.

$$g_{ki} = h_{ki} \cdot g_{ki} \tag{27}$$

Step 9: Draw the preferred grid to select preferred option.

### 2.3.4. Copeland approach

The Copeland method determines the number of wins ( $C_i$ ) and the number of losses ( $\sum R$ ) for each criterion, and finally the score that Copeland gives to each option is obtained by reducing the number of wins ( $\sum C$ ) to the number of wins ( $\sum R$ ).

### 2.4. Coefficient of variation

This is used to examine the trend of inequalities in development indices across large-scale areas that high CV indicates more inequality in the distribution of indices.

$$CV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N}} \div \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \tag{28}$$

Here;

$X_i$  : The value of an index in a specific region

$\bar{x}$  : Average index i

N : Number of zones

## 3. Results

In order to determine the level of importance (weights), each of the criteria is compared one by one and the pairwise comparison matrix is formed and then the relative weight is calculated using this matrix. Weights determine which criteria are most important. Euclidean vector method was used to calculate the relative weight of the criteria.

The results given in Table 2 showed that the highest importance factor belonged to mechanization and the least to educational sector. Among the mechanized attribute, the highest weight was 0.086 for tractor and the lowest was 0.079 for trailer. Service-support was also of the highest importance after mechanization and yield. The size of orchards, livestock, fish farming and land area were placed in the next, respectively.

Table2. Weights calculated by pairwise comparison

Criterion	W	Criterion	W
X1	0.002	X15	0.038
X2	0.006	X16	0.05
X3	0.009	X17	0.043
X4	0.013	X18	0.055
X5	0.015	X19	0.026
X6	0.014	X20	0.036
X7	0.02	X21	0.05
X8	0.023	X22	0.049
X9	0.022	X23	0.043
X10	0.026	X24	0.044
X11	0.022	X25	0.047
X12	0.017	X26	0.086
X13	0.018	X27	0.085
X14	0.062	X28	0.079

Table 3 separately evaluates the measurement of development for each method according to its methodology, which was conducted by rural development experts. In the following, and according to the valuations of Table 3, the status of development of studied rural area are given in table 4. As it can

be observed, except Vikor approach, there is not difference between the method of analysis of Topsis, Electre and Copland, and the same result is that all the rural areas are in under developing state.

Table3. Value of measuring the status of rural development using different approach

Approach	Developed	Relatively developed	Under developing	Relatively deprived	Deprived of development
Vikor	0-0.02	0.02-0.4	0.4-0.6	0.6-0.8	0.8-1
Topsis	0-0.02	0.02-0.4	0.4-0.6	0.6-0.8	0.8-1
Electre	50 to 30	30 to 10	10 to -10	-10 to -30	-30 to -50
Copeland	25 to 15	15 to 5	5 to -5	-5 to -15	-15 to -25

Table4. The status of development of studied rural area using different approach

Approach	Rural Areas	Maidanchai	Sardsahra	Espran	Ajichai	Lahijan	Tazekand
Vikor	Development Level	1	0.133	0.382	0.508	1	0.592
	Development status	Deprived	Developed	Relatively developed	Developing	Developed	Developing
Topsis	Development Level	0.489	0.463	0.475	0.455	0.5	0.467
	Development status	Under developing					
Electre	Development Level	5	-3	1	0	-4	1
	Development status	Under Developing					
Copeland	Development Level	3	-2	1	-5	5	-1
	Development status	Under developing					

The results of the ranking of development level of villages are presented in Table 5. In the Vikor approach, the lower the Qi value, the more desirable the agricultural development status of the village is. Lahijan with the lowest Qi is in the first place and Maidanchai with the highest Qi in the last place. In the Topsis approach, Lahijan was the first with the highest value of 0.5 and Ajichai was the last with the lowest value of 0.455988. In Electra approach, Maidanchai with the difference of wins and losses of 5, was positioned in the first and Lahijan in the last place.

According to table 5, different results were obtained using Vikor, Topsis and Electre approach. Thus Copeland's method was used which is an integrated method that the winner is determined by finding the candidate with the most pairwise victories. According to the Copeland model, Lahijan was ranked first and Ajichai was sixth in agricultural development.

Table 5. Ranking of development level of rural areas of Tabriz using different approach

Rural district	Vikor		Topsis		Electre		Copeland	
	Value	Rank	Value	Rank	Value	Rank	Value	Rank
Tazekand	0.592	5	0.467	4	1	2	-1	4
Lahijan	0.045	1	0.5	1	-4	6	5	1
Ajichai	0.508	4	0.455	6	0	4	-5	6
Espran	0.382	3	0.475	3	1	2	1	3
Sardsahra	0.133	2	0.463	5	-3	5	-2	5
Maidanchai	1	6	0.489	2	5	1	3	2

Figure 2 represent the result of ranking rural area of Tabriz from development level perspective using Copland model. As mentioned above, to resolve the differences and conflicts between the various rankings of the considered models in this paper, the integrated Copeland model was used. According to this model, Lahijan was ranked first from agricultural development



perspective; then Maidanchai, Espran, Tazekand, Sardasahra and Ajichai were ranked 2<sup>nd</sup> to 6<sup>th</sup>, respectively.

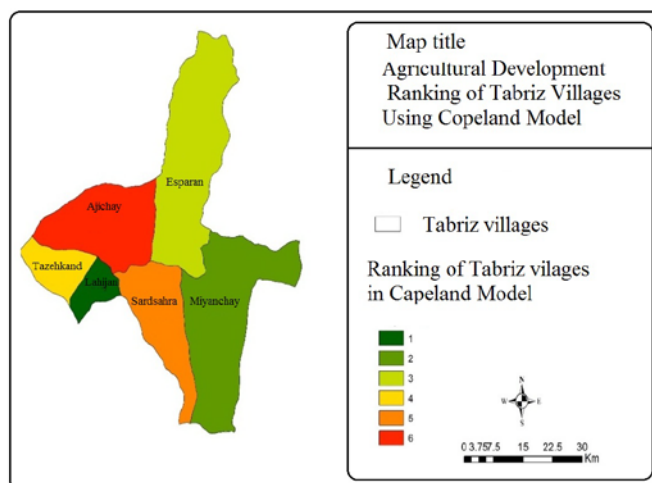


Figure 2. Agricultural Development of Tabriz villages in the Copeland Model.

Lahijan's superiority may be related to the high number of people with a diploma or higher literacy, the high number of cows and calves, the high number of cold-water and warm-water fish. Also, rice yield per ha and the number of pressurized irrigation equipment stores was the highest among the studied villages. Other causes include the presence of two towns of Khosrowshah and Sardrud near the village and the main road crossing the village which provides access to municipal services. After Lahijan, Maidanchai was ranked second in due to high yield of wheat and barley per ha, high number of repair shops and agricultural machinery repairmen. Also access to the main road and proximity to the city of Basmang was another reason. Esperanza, Tazekand, Sardasahra and Ajichai, which rank third to sixth, respectively, do not have access to main road compared to Lahijan and Maidanchai districts.

According to Table 6, the highest distribution inequality is related to fish breeding index (CV=2.24) and the most appropriate distribution is related to rice yield index (CV=0).

Table6. Coefficient of variation for all attributes of this research

Index	CV	Index	CV
X1	0.62	X15	0.42
X2	0.42	X16	0.74
X3	0.75	X17	0.44
X4	0.79	X18	0.69
X5	0.37	X19	0
X6	0.86	X20	0.67
X7	0.50	X21	0.75
X8	0.51	X22	0.79
X9	0.50	X23	1.42
X10	0.55	X24	1.26
X11	0.75	X25	1.28
X12	2.24	X26	0.98
X13	2.24	X27	0.92
X14	0.33	X28	0.86

#### 4. Discussion and Conclusion

Agricultural development level of rural district of Tabriz was evaluated with 8 attribute and 6 rural areas. In terms of agricultural development status, they were divided into five developed, relatively developed, developing, relatively deprived and deprived classes. According to the results of

Topsis, Vikor and Electra models, these three methods were not concluded the similar results. In the Topsis model, Lahijan was ranked first and Ajichai was the last, and in the Vikor model Lahijan was ranked first and Maidanchai was the last. In the Electra model, Maidanchai was in the first place and Lahijan in the last. Previously, Pourjavad and Shirouyehzad (2011) compared three methods of multi-criteria decision makings called Topsis, Electre and Vikor to understand which of these methods yields optimum result. But they also reported that these methods did not produce similar result to methods. Finally, at present study, Copeland's method was used for consensus on the results of these models. The results of this research are consistent with the research conducted by Nazmfar et al. (2015). They studied on the inequality of development in Kermanshah province using the method of SAW, Electre, Vikor and Copeland. They also reported that they obtained different results using SAW, Electre, Vikor methods and used the Copeland method to prepare a single ranking.

According to the Copeland model, Lahijan was ranked first and Ajichai was ranked sixth. The results of this research are consistent with the research conducted by Safari and Bayat (2012). They reported that there is a difference and inequality between the rural areas of east Azerbaijan in terms of development level and distribution of facilities in the villages. Another important result of their research was the impact of communication path on rural development.

All six districts are in a state of under developing. Given that under developing regions are limited in the production of agricultural products, sustainable agricultural is one of the necessities. Therefore, it is necessary to pay special attention to the restoration, protection and proper use of resources. Natural growth has led to the growth and development of the agricultural sector, otherwise it will lead to the destruction of the agricultural sector and bring poverty. In order to achieve sustainable agricultural development, the management structure must be reformed. Also, the production and supply of water, the reform of the consumption pattern, marketing and production must be considered and examined. In terms of production, under developing regions are the largest producers of primary agricultural products. But share of them in agricultural exports is low because of the lack of specialized knowledge and technical information and the lack of cultural infrastructure in achieving their national production goals.

Training of human resources involved in the agricultural sector, creating motivation among graduates majored in agriculture, empowering human capital by creating cooperatives and agricultural trade unions, reducing the cost of products and services, increasing the quantity and quality of products, increasing productivity of processing industry and encouraging producers to produce high quality products with more added value will lead to optimal supply and demand and reduce dependence on developed areas.

## References

- Al-Hassan, R. M. (2007). Regional disparities in Ghana: policy options and public investment implications, University of Ghana, Xinshen Diao, *International Food Policy Research*, 21(2).
- Amiri, M., & Darestani Farahani, A. (2013). *Multiple Criteria Decision Making*, Kian University Publishing, Tehran, Iran.
- Badri, A., Akbarian Ronizi, Q. & Javaheri, H. (2005). Determining the Development Levels of Rural Areas of Kamyaran County, *Geographical Research Quarterly*, 82, 21-36 (In Farsi).
- Chatterjee, P. & Chakraborty, S. (2016). A comparative analysis of VIKOR method and its variants. *Decision Science Letters* 5, 469-486
- Eslahi, A. (2011). *Measuring and analyzing the development level of rural areas of Zanjan in 2001 to 2006*, M.Sc. Thesis, University of Tabriz. Tabriz, Iran.
- Fayyaz Azar, P. Zarifians, Sh. & Rachel, H. (2012). *Comparison and analysis of development level of Tabriz rural areas*. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
- Fields, G.S. (1981). *Poverty, inequality, and development: A distributional approach*, *Journal of Policy Modeling*. 3(3), 295-315.
- Heidari S. (2012). Prioritization of Meshginshahr Rural Areas by Agricultural Development Levels. *Geography and Planning*, 16(40): 96-75 (In Farsi).
- Jamshidi, M. K., Mohammadi, B. & Hosseinzadeh, A. (2018). An analysis of the factors affecting development and its role in rural migration (Case study: Zanjan). *Regional Planning Quarterly*. 8(32), pp. 11-22 (In Farsi).

- Kabli, MR. (2009). *A multi – attribute decision making methodology for selectiing new r&d projects portfolio with a casee study of saudii oil refining indestry*. P.h.D. Thesis, Uiversity of Nottingham.
- Kalantari, KH. (2012). *Quantitative Models in Planning*, Saba Publishing, Tehran, Iran.
- Khakpour, B. (2006). Evaluation of Development Plans for Shirvan Rural Areas, *Journal of Geography and Regional Development*, 7(1), 34-48 (In Farsi).
- Kohansal, M., & Rafiei Darani, H. (2009). Evaluation of Agricultural Development Degree in Khorasan Razavi Provinces by Numerical Taxonomy Method. *Agricultural Economics*. 3(4), 45-66 (In Farsi).
- Latifi, GH. (2009). Perspectives on development, *Social Science*, 20, 85-74 (In Farsi).
- Matin, N. (1995). Investigation of agricultural development in different provinces of Iran. *Jihad*. 15(175), 9-16 (In Farsi).
- Mousavi, M. & Sadigh, H. (2015). Determining the level of agricultural development in Iran. *Rural development strategies*, 4(1), 55-71.
- Nezamfar, H & Alibakhshi, A. (2013). Evaluation of Khuzestan Provincial Cities' Development Indicators Using Integration Technique. *Geographical Preparation Quarterly*. 4(14), pp. 178-151 (In Farsi). [http://www.jgeoqeshm.ir/article\\_61493.html](http://www.jgeoqeshm.ir/article_61493.html)
- Nezamfar, H, Alibakhshi, A. & Bakhtar, S. (2015). Spatial analysis of Kermanshah regional development using multi-criteria decision mode. *Journal of Applied Research in Social Sciences*, 15(35), [https://jgs.khu.ac.ir/browse.php?a\\_id=2296&sid=1&slc\\_lang=fa&ftxt=1](https://jgs.khu.ac.ir/browse.php?a_id=2296&sid=1&slc_lang=fa&ftxt=1) (In Farsi)
- Pezeshki, V., & Zarafshani, K. (2008). Application of fuzzy logic and development of model for evaluation of agricultural development levels of Kermanshah rural areas. *Journal of Rural and Development*. 11(4), 19-28 (In Farsi).
- Pourjavad, E. & Shirouyehzad, H. (2011). A MCDM Approach for prioritizing production lines: a case study. *International Journal of Business and Management*, 6 (10), 221-229.
- Sharifi, M.A. & Khaledi, K. (2009). Measuring and analyzing the development level of rural areas in Kurdistan using factor analysis and numerical taxonomy. *Agricultural Economics and Development*, 17(67), pp. 202-179 (In Farsi).
- Triantaphyllou, E. (2000). *Multi-Criteria Decision Making Methods: A Comparative Study*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Xuegong, X. (2006). Zoning of sustainable agriculture development in china. *Agricultural system*. 87(1), 38-62



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Derleme Makalesi (Review Article)

**An Overview of Doubled Haploid Plant Production in *Cucurbita* Species**

**Ertan Sait KURTAR<sup>\*1</sup>, Musa SEYMEN<sup>2</sup>, Ünal KAL<sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup>Selcuk University, Horticulture Department of Agriculture Faculty, 42010, Konya, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-7203-7430> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-2742-137X> <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-3447-316X>

\*Corresponding author e-mail: [ertansaitkurtar@selcuk.edu.tr](mailto:ertansaitkurtar@selcuk.edu.tr)

**Article Info**

Received: 21.05.2020  
Accepted: 07.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.741087

**Keywords**

Androgenesis,  
*Cucurbita* spp.,  
Double haploid,  
Gynogenesis,  
Parthenogenesis.

**Abstract:** F1 cultivars are currently used in vegetable production because of their many superior agronomic advantages (high yield and quality, resistance/tolerance to biotic and/or abiotic stress factors, wide adaptability, etc.). It is not possible to produce hybrid vegetables without homozygous pure parental lines with defined traits and high combining ability. However, the production of homozygous pure parents needs a long time, great efforts, and high production cost. Moreover obtaining an F1 hybrid variety takes 8-10 years with traditional breeding methods, especially in a highly open-pollinated species such as *Cucurbita* spp. Doubled haploid (DH) technologies (parthenogenesis, androgenesis, and gynogenesis), called biotechnological breeding methods, have become an alternative to classical breeding methods and provide to obtain pure lines within 1-2 years by adapting to these technologies in F1 hybrid breeding programs. Although the DH technologies considered a meaningful approach to enhance the production of valuable double haploid plants, the implementation of these techniques needs labor-intensive efforts, high experiences, and advanced technologies. The main objective of this review to provide a summary of DH techniques applied in the *Cucurbita* species in the current progress.

***Cucurbita* Türlerinde Dihaploid Bitki Üretimine Genel Bir Bakış**

**Makale Bilgileri**

Geliş: 21.05.2020  
Kabul: 07.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.741087

**Anahtar kelimeler**

Androgenesis,  
*Cucurbita* spp.,  
Dihaploid,  
Gynogenesis,  
Parthenogenesis.

**Öz:** F1 çeşitler sahip oldukları birçok üstün zirai avantajlar sebebiyle (yüksek verim ve kalite, biyotik ve/veya abiyotik stress faktörlerine tolerans/dayanım, geniş adaptasyon yetenekleri v.b.) sebze üretiminde yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Özellikleri belirlenmiş ve üstün kombinasyon yeteneği sahip homozigot saf ebeveyn hatlar olmadan hibrit çeşitlerin üretilmesi mümkün değildir. Ancak, homozigot saf ebeveynlerin üretilmesi uzun bir zamana, yoğun emeğe ve yüksek yatırıma ihtiyaç duyar. Dahası, F1 hibrit çeşitlerin üretimi özellikle *Cucurbita* türleri gibi yüksek oranda yabancı tozlanan türlerde klasik ıslah yöntemleriyle 8-10 yıl sürer. Biyoteknolojik ıslah metodları olarak adlandırılan ve klasik ıslah yöntemlerine alternatif olarak düşünülen dihaploid (DH) teknolojilerinin (partenogenesis, androgenesis ve gynogenesis) F1 ıslah programlarına adapte edilmeleri sayesinde 1-2 yıl içerisinde saf hatların elde edilmesi mümkündür. DH teknolojileri ıslah açısından oldukça değerli olan dihaploid bitkilerin elde edilmesini sağlayan anlamlı bir yaklaşım olsa da, bu tekniklerin hayata geçirilmesi için yoğun işgücüne, yüksek tecrübeye ve ileri teknolojilere ihtiyaç vardır. Bu derlemenin temel amacı güncel çalışmaların ışığında *Cucurbita* türlerinde uygulanan DH teknikleri hakkında bir özet sunmaktır.

## 1. Introduction

*Cucurbita pepo* L. (summer squash), *Cucurbita maxima* Duch. (winter squash), and *Cucurbita moschata* Duch. (pumpkin) are widely cultivated species of *Cucurbita* genus. They are members of *Cucurbitaceae* family and originated from Central and South America. These species have superior adaptability and therefore they have spread over a wide area in the world (Wu et al., 2007). China (8 million tonnes) and India (5.1 million tonnes) are the biggest producers in the world (FAO, 2017). Summer squashes are cultivated for their immature fruit, but mature fruits of winter squash and pumpkin are consumed. The seeds of these species are the source of vegetable oil and used as an appetizer (Seymen et al., 2019). The hybrids of *C. maxima* x *C. moschata* are also used as a rootstock for melons, watermelons, and cucumbers (Karaağaç and Balkaya, 2013).

Today, F1 cultivars are extensively used in the production of *Cucurbita* species due to their superior traits (Kurtar et al., 2016; Yeşil, 2019). However, the production of invaluable pure lines, which are the starting material of F1 hybrid breeding, needs a long breeding cycle (recurrent selfing or sib-crossing), intense labor, experience and technology. Besides, they are not possible to reach 100% purity by classical methods. On the other hand, completely homozygous lines are successfully gained in a short time by adapting to DH techniques in breeding programs. DH breeding offers great advantages to the breeders in terms of labor, cost, time and effectiveness and thus accelerates breeding efforts on a large scale (Kurtar et al., 2009). This technique is used effectively in the *Cucurbita* spp. and studies have focused on parthenogenesis (*in situ* irradiated pollen technique), androgenesis (*in vitro* anther culture) and gynogenesis (*in vitro* ovule/ovary culture). Regardless of which technique is used; the most important and crucial point of a DH study is the healthy cultivation of donor plants as much as their genotypes. For this reason, the cultural practices (planting, fertilizing, irrigation, ensuring suitable climatic conditions, weed control, tillage, disease, and pest management, pruning, etc.) should be applied on time and proper manner during the growing season.

Recently, Galazka and Niemirowicz-Szczytt (2013) published a review on DH in cucurbits, especially on irradiated pollen technique in cucumber. Dong et al. (2016) comprehensively discussed the effects of genotype, environment, pre-treatments, culture medium and media composition on androgenesis, gynogenesis, and parthenogenesis in *Cucurbitaceae* family. Nevertheless, it is considered that there is a need for a review that will include studies on DH technology in recent years for *Cucurbita* species. In this review, methodologies and protocols of irradiated pollen technique, anther culture, and ovule/ovarium culture are discussed in *C. pepo*, *C. maxima* and *C. moschata* in the highlight of current reports.

## 2. DH Techniques in *Cucurbita* Species

### 2.1. Parthenogenesis (*in situ* pollination with irradiated pollen)

#### 2.1.1. Irradiation, pollination, isolation and harvest

In this technique, parthenogenesis stimulated by gamma rays ( $Co^{60}$ ) or X-rays (Table 1). In the pollination process, the most suitable physiological period of plants was determined as the beginning or middle of the female flowering. This period is changing by growing conditions and seasons. In *C. pepo*, the best pollination time May or September in greenhouse and June in open-field conditions (Kurtar et al., 2002). June is the best pollination time in *C. maxima* and *C. moschata* species which have to be raised at open field conditions (Kurtar and Balkaya 2010). Fruit-set rate (FSR) is an important point in the pollination process and it ranged from 20% to 60% in *C. pepo* (Kosmrlj et al., 2013). FSR was found 26.3% in *C. moschata* and 75% in *C. maxima* pollination with 0<sup>th</sup>-day (d) old pollens (Kurtar, 2009). 4 weeks (w) old immature fruits are harvested for extraction. Otherwise, lots of necrotic embryos were extracted from later harvests (Kurtar and Balkaya, 2010).

#### 2.1.2. Embryo rescue, culture conditions, and regeneration

Embryos obtained from the seeds are cultured in the growth medium as soon as possible, and solid E20A and CP medium produced better results. In general, the embryos are kept at 23 - 28 °C,

16/8 h photoperiod and 3000 lux light intensity in the climate room until they turn into a complete plant. Medium refreshment encourages the transformation of small embryos into the plants at 7-15 d intervals. Considering that the genotype is the most important factor, it should be said that irradiation doses and seasons are effective on the number of embryos and the number of haploid embryos per fruit. The doses with the highest number of embryos ranged from 50 Gray to 300 Gy, while it was 50 Gy and 100 Gy for both pumpkin and winter squash (Table 1). The number of embryos per fruit is between 0.8 and 39.0 in *C. pepo* (Kurtar et al., 2017), 1.5 and 29.0 in *C. moschata* (Kurtar et al., 2009) and 1.0 and 34.7 *C. maxima* (Kurtar et al., 2010). Frequency of haploid embryos was 1.2, 10.4 and 0.7 in 100 seeds, 100 embryos, and fruit in *C. pepo* (Kurtar et al., 2002) and it was 0.24, 0.94 and 0.33 in *C. moschata* (Kurtar et al., 2009) and 0.11, 1.17 and 0.28 in *C. maxima* (Kurtar and Balkaya, 2010), respectively.

The growing season of donors is one of the important issues that affect success in the irradiated pollen technique. In *C. pepo*, the best season for the obtention of the highest number of haploid embryos per fruit was between April – June and September – November in greenhouse and May - July in open field conditions (Berber, 2009; Kurtar et al., 2002; Bektemur et al., 2014; Kurtar et al., 2017). Between May-August has a beneficial effect on haploid embryo frequency in *C. moschata* and *C. maxima* (Kurtar et al., 2009; Kurtar and Balkaya, 2010).

In general, smaller embryos produced more haploid plants than larger ones. Globular to torpedo type embryos produced 100 % haploid plants, on the contrary, cotyledon type embryos gave only diploid plants. Otherwise, torpedo and heart-type embryos produced both haploid (53.8 % and 23.1 %, respectively) and diploid plants in summer squash (Kurtar et al., 2002; Ebrahimzadeh et al., 2013). Similar findings were also reported in pumpkin (Kurtar et al., 2009) and winter squash (Kurtar et al., 2010).

Table 1. DH protocols and results of irradiated pollen technique in *Cucurbita* species

Species	Irradiation Dose and Source (IR), Plantlets Initiation (P), Regeneration (R)	Fecundity (F), Ploidy (P)	References
Summer squash ( <i>C. pepo</i> )	IR: 25-50 Gy ( $\gamma$ ) P/I: E20A + 28°C +16/8 h-3000 lux	F: 16.8 p/100 em P: 43.7% H, 56.3% D	Kurtar et al., 2002
	IR: 100-150 Gy ( $\gamma$ ) P: E20A + 25°C + 16/8 h R: MS + 25°C + 16/8 h	P:42.6% H, 57.3% D	Berber, 2009
	IR: 50-75 Gy ( $\gamma$ ) M: E20A I: 26°C + 16/8 h-3000 lux	F: 34.6 p/100 em P: 38.6% H, 61.4% D	Ebrahimzadeh et al., 2013
	IR: 200-300 Gy (X-Ray) P/I: E20A + 23°C + 16/8 h	F: 1.1 – 4.4 H p/100 em P: 1.01% H, 97.4% D, 0.3% Tr, 1.6% T	Kosmrlj et al., 2013
	IR: 150 Gy ( $\gamma$ ) P/I: CP + 30 g l <sup>-1</sup> S + 0.08 mg l <sup>-1</sup> B12 + 0.02 mg l <sup>-1</sup> IAA + 25°C + 16/8 h	F: 1.89 – 20.7 H em/100 seeds P: 11.0% H, 89.0% D	Baktemur et al., 2014
	IR: 150 Gy ( $\gamma$ ) P/I: MS + 0.1 mg l <sup>-1</sup> IAA + 26°C + 16/8 h-3000 lux	F: 1.29-2.92 H p/100 em P: 2.56% H, 97.44% D	Kurtar et al., 2017
Winter squash ( <i>C. maxima</i> )	IR: 50-100 Gy ( $\gamma$ ) P/I: E20A + 28°C +16/8 h-3000 lux	F: 1.17 H p/100 em P: 10.96% H, 89.04 D	Kurtar and Balkaya, 2010
Pumpkin ( <i>C. moschata</i> )	IR: 50-100 Gy ( $\gamma$ ) P/I: E20A + 28°C +16/8 h-3000 lux	F: 16 p/100 em P: 0.94% H, 99.06% D	Kurtar et al., 2009

S: sucrose; h: hour; p:plant; em: embryo; H: Haploid; D: Diploid; T: Triploid; T: Tetraploid

## 2.2. Androgenesis (*in vitro* anther culture)

The best androgenic response obtained from the pollens at the middle to late uninucleate microspore stages. Flower buds at a suitable stage are collected from healthy, well-formed and younger donor plants at the full-flowering time, in the morning.

### 2.2.1. Pre-treatments, the culture of anthers and incubation

For induction of embryogenesis, microspore development has to be switched from the gametophytic to sporophytic pathways via specific pre-treatment conditions. Low-temperature applications have also been reported to be essential for maintaining pollen viability (Xie et al., 2005). In summer squash and *Cucurbita* interspecific hybrids, the cold pre-treatments at 4 °C for 4 d produced the best androgenic response, otherwise, the best embryogenic response obtained from buds that have not been pre-treated in winter squash and pumpkin (Kurtar et al., 2016) (Table 2). In many experiments, MS medium was used with the addition of different levels of sucrose (S) and 2.4-D (2.4-Dichloro phenoxy acetic acid).

In addition to cold treatments, in initial cultures, high-temperature shock and dark conditions are essential to enhance androgenetic response. In *C. pepo*, male flower buds incubated at 35 °C for 1 w; subsequently at 25 °C for 4 w at dark. The buds were also kept 32 °C for 1 w (Shalaby, 2006), 25 °C for 4 w (Habiba, 2016) and 32 °C for 4 w (Araghi et al., 2017) at dark. Recently, Kurtar et al. (2016) pointed out that the efficiency of microspore embryogenesis in *C. moschata* and *C. maxima* were higher at 32 °C for 1 w at dark conditions. In *Cucurbita* interspecific hybrids, incubation of buds at 35 °C for 1 w and then at 25 °C for 9 w at dark conditions was found to be optimal for embryogenic callus induction (Table 2).

### 2.2.2. Callogenesis and embryogenesis,

In androgenesis, the indirect pathway is preferred and the direction of callogenesis and microspore embryogenesis can be converted by changing the amounts of some additive substances. Different treatments resulted in different callogenesis efficiencies and callus induction is strongly influenced by both S, 2.4-D and BAP (Benzyl Amino Purine) concentrations. The combination of 9% S and 1 mg l<sup>-1</sup> 2.4-D was optimal for callus induction and plantlet regeneration in *Cucurbita* interspecific hybrids. Besides, 12% S+2 mg l<sup>-1</sup> 2.4-D enhanced the callogenesis; subsequently 12% S+2 mg l<sup>-1</sup> 2.4-D+0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP has a positive effect on callus maturation and embryogenesis in *C. moschata* and *C. maxima*. On the other hand, the combination of high S (15%) and 2.4-D (5 mg l<sup>-1</sup>) was to be optimal for callogenesis in *C. pepo*, while this combination inhibited the callogenesis in *Cucurbita* interspecific hybrids (Table 2). It is reflected that a combination of relatively higher S and 2.4-D is superior for the induction of microspore embryogenesis in *Cucurbita* species.

Induction medium consists of different amounts of KIN (Kinetin) (0.05-0.5 mg l<sup>-1</sup>), NAA (Naphthalene Acetic Acid) (0.05-0.5 mg l<sup>-1</sup>) and BAP (1-4 mg l<sup>-1</sup>). The calli are incubated in a growth chamber at different temperatures (22-26 °C), photoperiods (12/12-16/8 h), light intensities (1000-3000 lux) and durations (4-6 w). Embryoids can be seen (particularly globular type embryos) in callus surfaces within 4 - 6 w, and the plantlet initiation observed from some embryos within 7 or 8 w of culture (Kurtar et al., 2016). To maintain the viability and maturation of calli and induction of embryogenesis, media refreshment is a crucial point, thus calli should be subcultured at 7-10 d intervals.

### 2.2.3. Recovery of embryos and regeneration

When the embryogenic plantlets reach visible size are gently transferred to the regeneration medium as soon as possible. MS medium supplemented with 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA (Indole Acetic Acid) (Kurtar et al., 2016) and 1 mg l<sup>-1</sup> IBA (Indole Butyric Acid) (Mohamed and Refaei, 2004) or without growth regulators is used for root and shoot elongation. Considering that each plant obtained comes from different pollens and have a different genetic structure, it is very important to keep all plants alive. Rooted and elongated plants were individually transferred onto fresh MS medium.

Donors play a predominant role and genotypes and species show a wide range of androgenetic responses. Some genotypes produce a good response, while others were extremely poor or non-responsive. The reason for these very variable results may be due to genetic structure and genotype-environment interactions. Concerning species and genotypes, *C. pepo* shows a higher androgenic response than *C. moschata* and *C. maxima*. The highest rate of embryogenic calluses (38.7 %) and the number of plantlets per callus (8.9) were obtained from *C. pepo* cv. Yellow Bik F1, while some

genotypes non-respond (Shalaby, 2006). Likewise, *Cucurbita* interspecific hybrid gave the optimal results (7.5 plants/callus) than the cultivars, and these findings have revealed that hybridization process presented more successful results (Rakha et al., 2012). On the other hand, *C. maxima* (var. 57SÍ21) showed higher haploid plants/callus results (2.48) than *C. moschata* (var. G9) (1.26) (Kurtar et al., 2016). Besides, Mohamed and Refaei (2004) proved that the season has also great importance in embryogenesis, and November (260 plants) was better than March (118 plants) in *C. pepo*.

Table 2. DH protocols and results of anther culture technique in *Cucurbita* species.

Species	Pre-treatments (P) / Culture (C) / Incubation - Callogenesi (I) / Embryogenesis (E) / Regeneration (R)	Fecundity (F), Ploidy(P)	References
Summer squash ( <i>C. pepo</i> )	P: 4°C for 4 d; C: MS+15% S+5 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D I: 35°C for 1 w+25°C for 4 w, subculture 25°C for 4 w at dark; E: MS+0.057 mg l <sup>-1</sup> KIN+0.05 mg l <sup>-1</sup> NAA+25°C+16/8 h-1000 lux z+4 w ; R: MS+25°C+16/8 h-3000 lux+4 w	F: 1.93 p/anther P: 50% H, 50% D	Metwally et al., 1998a
	P: 4°C for 4 d; C: MS+12% S+5 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D I: 35°C for 1 w+25°C for 4 w at dark E: MS+0.23 mg l <sup>-1</sup> KIN+0.27 mg l <sup>-1</sup> NAA R: MS+25°C+16/8 h-3000 lux+4 w	P: D	Kurtar et al., 1999
	P: 4°C for 4 d; C: MS+10% S+6 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D I: 35°C for 1 w+25°C for 4 w, subculture 25°C for 4 w at dark; E: MS+0.05 mg l <sup>-1</sup> KIN+0.05 mg l <sup>-1</sup> NAA, 25°C+16/8 h-3000 lux+4 w ; R: MS+4 w, then MS+1 mg l <sup>-1</sup> IBA+25°C+16/8 h-3000 lux	F: 0.13 – 2.6 p/anther P: 60% H, 13% D, 17% A	Mohamed and Refaei, 2004
	P: 4°C for 4 d; C: MS+10% S+5 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D I: 32°C for 1 w+25°C for 4 w at dark; E: MS+0.05 mg l <sup>-1</sup> KIN+0.05 mg l <sup>-1</sup> NAA, 25 °C+16/8 h-3000 lux+4 w ; R: MS+25°C+16/8 h-3000 lux+4 w	F: 0.0 – 8.90 p/callus P: 48.3% H, 51.7% D	Shalaby, 2006
	P: 4°C for 4-7 d; C: MS+9% S+2 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D I: 25°C for 4 w at dark; E/R: MS+0.5 mg l <sup>-1</sup> KIN+0.5 mg l <sup>-1</sup> NAA+ 22°C+16/8 h for 6 w	F: Calli and shoots	Habiba, 2016
Winter squash ( <i>C. maxima</i> )	P: 4°C for 4 d; C: E20A+9% S+2.5 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+1 mg l <sup>-1</sup> BAP; I: 32°C for 4 w at dark, I: 32°C for 1 w at dark C: MS+12% S+2 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D for 1 w, then MS+12% S+2 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+0.5 mg l <sup>-1</sup> BAP for 3-5 w at 1500 lux; E: MS+4 mg l <sup>-1</sup> BAP+0.05 mg l <sup>-1</sup> NAA, 26 °C+12/12 h-1500 lux+1 w, then 26°C+16/8 h-3000 lux+3-5 w; R: MS+0.01 mg l <sup>-1</sup> IAA+26°C+16/8 h-3000 lux	F: Calli F: 0.0 – 2.48 H p /callus P: 50% H, 50% D	Araghi et al., 2017 Kurtar et al., 2016
	Pumpkin ( <i>C. moschata</i> )	I: 32°C for 1 w at dark; C: MS+12% S+2 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D for 1 w, then MS+12% S+2 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+0.5 mg l <sup>-1</sup> BAP for 3-5 w at 1500 lux; E: MS+4 mg l <sup>-1</sup> BAP+0.05 mg l <sup>-1</sup> NAA, 26 °C+12/12 h-1500 lux+1 w, then 26°C+16/8 h-3000 lux+3-5 w ; R: MS+0.01 mg l <sup>-1</sup> IAA+ 26°C+16/8 h-3000 lux	F: 0.0 – 1.26 H p/callus P: 37.5% H, 63.5% D
Others ( <i>Cucurbita</i> interspecific hybrids)	P: 4°C for 4 d ; C: MS+9% S+1 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D I: 35°C for 1 w then 25°C for 9 w at dark E: MS+0.05 mg l <sup>-1</sup> KIN+0.05 mg l <sup>-1</sup> NAA+25°C+ 16/8 h-3000 lux+4 w; R: MS+25°C+16/8 h-3000 lux+4 w	F: 0.0 – 7.5 p/callus P: 50% H, 50% D	Rakha et al., 2012

S: sucrose; h: hour; d: day; w: week; p:plant; H: Haploid; D: Diploid; A: Aneuploid



### 2.3. Gynogenesis (*in vitro* ovule/ovarium cultures)

Gynogenesis has been one of the most studied and popular DH technique and presented remarkably results in recent years. In gynogenesis, the maturation phase of female flowers is strongly effective in the embryogenic division. In the case of the appropriate flower stage, previous reports have expressed different arguments in *Cucurbita* species (Table 3). As a consequence, nearly mature or mature ovaries produced favorable results in *Cucurbita* species.

#### 2.3.1. Pre-treatments, culture of ovules or ovarium slices and incubation

In gynogenesis, ovary slices or ovules were used for embryogenesis in squash, winter squash and pumpkin. Ovules and ovary slices are cultured with or without pre-treatments. Shalaby (2007) and Domblides et al. (2016) recommended cold pretreatment at 4 °C for 4 d in summer squash. However, the embryogenesis was significantly reduced at the cold treatments, and untreated controls produced a higher embryogenic response in summer squash, pumpkin and six interspecific *Cucurbita* hybrids. Besides, pre-treated ovaries at 5 °C for 2 d produced the optimal embryogenesis. In light of these findings, it is clear that untreated ovaries provide better results. MS medium has been reported as the most suitable initial medium. CBM and N6 media were also used for initiation. MS medium was used with the addition of different levels of S, 2,4-D, NAA, BAP, KIN, TDZ (Thidiazuron), EBL (*Epibrassinolide*) and polyamines (Spermidine and Putrescine) (Table 3).

In addition to cold treatments, in the initial cultures, high thermal shock in dark conditions (incubation) is essential to enhance gynogenetic response. In *C. pepo*, Metwally et al. (1998b) and Xie et al. (2006) incubated female flower buds at 25 °C for 4 w in dark. The ovaries were also exposed to 35 °C for 1 w (Yılmaz, 2005), 32 °C for 4 d (Domblides et al., 2016) and 32 °C for 4 d (Shalaby, 2007) at dark. Recently, Zou et al. (2020) proved that the gynogenetic response remarkably enhanced at 35 °C for 5 d at dark; similarly, Kurtar et al. (2018) obtained favorable results at 35 °C for 3 d at dark conditions in *C. moschata* and *C. maxima*. Thermal shock induces the greenish calli form, embryogenesis and plantlet initiation in pumpkin. On the other hand, in *Cucurbita* interspecific hybrids, incubation of ovaries at 25 °C for 1 w in dark was found to be optimal for embryogenesis (Table 3).

#### 2.3.2. Callogenesis and embryogenesis,

In gynogenesis, the indirect pathway preferred in *Cucurbita* species. Different treatments resulted in different callogenesis efficiencies and callus induction is strongly influenced by both S and PGR's concentrations. In callus induction media, 2,4-D is essential for callogenesis and used at 1 - 5 mg l<sup>-1</sup> concentrations. To induce the embryogenic greenish calli form, 0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP should be added initially of the culture (Kurtar et al., 2018). In *Cucurbita* species, 3% S concentration produced the highest percentage of embryogenesis. Besides, Shalaby (2007) found that higher S concentrations (over 6%) do not produce embryos. Conversely, Kurtar et al. (2018) proved that higher S concentration (12%) induced the embryogenic calli in *C. moschata* and *C. maxima*.

In callogenesis, 12% S+2 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D+35 °C for 3 d at dark enhanced the callogenesis; subsequently, calli were subcultured on callus maturation media (12% S+2 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D+0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP+26 °C +12/12 h-1500 lux) for 1 w, then 16/8 h-1500 lux for 3-5 w has a positive effect on embryogenesis in *C. moschata* and *C. maxima* (Kurtar et al., 2018). 3% S+1 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D+25 °C for 8 w was optimal for callus induction in *Cucurbita* interspecific hybrids (Rakha et al., 2012). These results proved that the maturation of calli has an indicative role in embryogenesis and 2,4-D can be used in combination with other PGR's to increase gynogenetic response. The media should be refreshed 7-10 d intervals.

Table 3. DH protocols and results of ovule/ovarium cultures in *Cucurbita* species.

Species	Collecting Time (CT), Pre-treatments (P), Culture (C), Incubation - Callogenesis (I), Embryogenesis (E), Regeneration (R)	Fecundity (F), Ploidi (P)	References
	CT: 1 d BA (O); P: 4°C for 0 d ; C: MS+5 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D; I: 25°C for 4 w at dark; E: MS+25°C+ 16/8 h+4 w; R: MS	F: 8.8 - 9.1 p/100 O P: 25% H, 75% D	Metwally et al., 1998b
	CT: A (OS); I: 35°C for 1 w at dark; E: CBM+3% S+0.1 mg l <sup>-1</sup> TDZ+25°C+16/8 h-1600 lüx+ 4 w; R: CBM+0.5 mg l <sup>-1</sup> BAP+0.05 mg l <sup>-1</sup> NAA	F: Calli	Yilmaz, 2005
Summer squash ( <i>C. pepo</i> )	CT: 1 d BA (O); P: 4°C for 0 d ; I: 25°C for 4 w at dark; E: MS+3% S+4 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+0.25 mg l <sup>-1</sup> NAA+1 mg l <sup>-1</sup> BAP; R: N6+2% S	P: H, D, M	Xie et al., 2006
	CT: 1 d BA (O); P: 4°C for 4 d at dark C/I: MS+1 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+25 °C+16/8 h+4 w E: MS+3% S+1 mg l <sup>-1</sup> KIN+1 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+25°C +16/8 h-3000 lüx+4 w; R: MS	F: 3 – 14 p/25 O P: 65% H, 35% D	Shalaby, 2007
	CT: 1 d BA (O); P: 4°C for 4 d ; C: MS+3% S+ 2 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D; I: 32°C for 4 d at dark; E: MS+0.2 mg l <sup>-1</sup> TDZ+0.0001 µM EBL; R: MS	F: 0.23 – 8.5 p/100 O P: H, M	Domblides et al., 2016
Winter squash ( <i>C. maxima</i> )	CT: A (O); C: MS+12% S+2 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D; I: 35°C for 3 d at dark, then MS+12% S+2 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+0.5 mg l <sup>-1</sup> BAP+26°C +12/12 h-1500 lux for 1 w, then 16/8 h-1500 lux for 3-5 w at light ; E: MS+4 mg l <sup>-1</sup> BAP+0.05 mg l <sup>-1</sup> NAA+ 0.1 mg l <sup>-1</sup> TDZ+26°C +16/8 h-3000 lux ; R: MS+0.01 mg l <sup>-1</sup> IAA+1 mg l <sup>-1</sup> BAP	F: 0.0 – 3.72 p/per callus P: 57.4% H, 37.2% D, 5.3% M	Kurtar et al., 2018
	CT: 1 d BA (OS); P: 4°C for 0 d ; I: 35°C for 5 d at dark; E: MS+3% S+1 mg l <sup>-1</sup> BAP+8 w; R: MS	F: 0.0-5.67 p/100 OS P: 18.64% H, 3.40% M, 32.20% D, 45.76% T	Zou et al., 2020
	CT: 1 d BA (OS) ; C: MS+3% S+4 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+0.5 mg l <sup>-1</sup> NAA+0.5 mg l <sup>-1</sup> BAP; I: 35°C for 6 d at dark; E/R: MS+3% S+0.5 mg l <sup>-1</sup> NAA+0.5 mg l <sup>-1</sup> BAP	F: Embryogenic structures	Sun et al., 2009
	CT: A (O); I: 35°C for 5 d at dark ; E: MS+3% S+0.04 mg l <sup>-1</sup> TDZ ; R: MS	P: H, D	Min et al., 2016
Pumpkin ( <i>C. moschata</i> )	CT: A (O); C: MS+12% S+2 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D I: 35°C for 3 d at dark, then MS+12% S+2 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+0.5 mg l <sup>-1</sup> BAP+26°C+12/12 h (1500 lux) for 1 w, then 16/8 h-1500 lux for 3-5 w at light ; E: MS+4 mg l <sup>-1</sup> BAP+0.05 mg l <sup>-1</sup> NAA+0.1 mg l <sup>-1</sup> TDZ ; R: MS+0.01 mg l <sup>-1</sup> IAA+1 mg l <sup>-1</sup> BAP+26 °C+16/8 h-3000 lux	F: 0.0 – 2.12 p/per callus P:57.1% H, 39.3% D, 3.6% M	Kurtar et al., 2018
	CT: 1 d BA(O) ; C: MS+5 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+40 µM Spermidine+40 µM Putrescine	F: Calli	Kara and Sari, 2019
	CT: 1 d BA (OS); P: 4°C for 0 d ; I: 35°C for 5 d at dark; E: MS+3% S+1 mg l <sup>-1</sup> BAP+8 w; R: MS	F: 0.0-10.18 p/100 OS P: 18.64% H, 3.40% M, 32.20% D, 45.76% T	Zou et al., 2020
Others ( <i>Cucurbita</i> hybrids)	CT: 1 d BA (O); P: 4°C for 0 d ; I: 25°C for 1 w at dark; C/E: MS+3% S+1 mg l <sup>-1</sup> 2.4-D+25°C+16/8 h for 8 w; R: MS	F: 0.0 – 13.33 p/100 O P: 60% H, 40% D	Rakha et al., 2012

O: ovule; OS: ovary segment; A: anthesis; BA: before anthesis; S: sucrose; h: hour; d: day; w: week; p:plant; H: Haploid; D: Diploid; M: Mixoploid; T: Tetraploid

### 2.3.3. Recovery of embryos and regeneration

Plantlets at the suitable size (4 – 6 mm) are transferred to the regeneration medium as soon as possible to prevent embryo losses. Standard MS medium is widely used for regeneration. On the other hand, plantlets are rooted and elongated on MS+0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA+1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP (Kurtar et al., 2018), MS+0.5 mg l<sup>-1</sup> NAA+0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP (Sun et al., 2009) and N6+2% S (Xie et al., 2006). Well rooted and elongated plants were individually subcultured onto fresh MS medium for further development. The gynogenetic response is closely related to the genetic structure of the genotypes, and varied between species and cultivars. Some genotypes produce a good gynogenetic response, while others were poor or non-responsive.

### 3. Micropropagation, Acclimatization and Ploidy Determination

3-4 w old *in vitro* plants micro-propagated for 2-3 times. Thus, plant losses are prevented and the desired number of clones is reproduced from each plant for acclimatization, ploidy determination, and chromosome doubling processes (Kurtar et al., 2016). Then, micro-propagated clones acclimatized as described by Kurtar and Balkaya (2010).

The plantlets obtained from double haploidy processes have different ploidy levels such as haploid, diploid, tetraploid, aneuploid and mixoploid. Disturbances in the ploidy level associated with the diploid anther tissues (especially the anther wall lead to the development of diploids plants), spontaneous duplication, and irregular meiosis. Besides, spontaneous DH lines are valuable because they do not need chromosome doubling (Alan et al., 2003). The ploidy level of plantlets is determined by indirect (flow cytometry, morphological observations and cytological analysis) and direct (chromosome counting in root tips) methods in *Cucurbita spp.* Isozyme analysis could also help to determine the origin of spontaneous DH plants (Kosmrlj et al., 2013).

Flow cytometry (FCM) is used as a technique to determine the ploidy level according to the amount of DNA in the cell. Ploidy levels of DH plants were determined by FCM in *C. pepo* (Ebrahimzadeh et al., 2013; Kosmrlj et al., 2013) and *C. moschata* and *C. maxima* (Zou et al., 2020). Although FCM is a very reliable and exhibiting accurate result in ploidy determination, requires special techniques and equipment. Morphological observations such as leaf and flower shape and sizes, pollen production, internode length, and fruit-set are used for determining the putative haploid and diploid plants in *Cucurbita spp.* But, this method takes a long time because needs an appropriate growing period and conditions (Kurtar et al., 2016). In cytological analyses, the 4<sup>th</sup> or 5<sup>th</sup> leaves from shoot apex were used to measure stomata size, stomata density and chloroplast number. This technique is not time-consuming, simple and low cost (Kurtar et al., 2002). Chromosome counting in root tips of *in vitro* and *in vivo* plants was used in *C. pepo*, *C. moschata* and *C. maxima*.

As a consequence, all methods can be used safely, but chromosome counting is tedious, morphological observations take a long time and FCM is expensive, do not reach easily, and labor-intensive, thus stomatal observations, as a simple and more practical technique, seems to be recommendable for determine the putative haploid and diploid plants in *Cucurbita spp.*

### 4. Chromosome Doubling (Dihaploidization)

The haploid plants produced via irradiated pollen technique, androgenesis and gynogenesis are sterile due to they have only one (n) set of chromosomes. Therefore, the chromosome numbers must be multiplied to restore the ploidy, fertility and maintain the dihaploid lines in a DH effort. In general, chromosome doubling realized by *in vitro* and *in vivo* techniques and colchicine (CL) is the mainly used anti-mitotic agent. Besides, trifluralin, amiprofos methyl, and oryzalin have been reported as alternative antimitotic agents for colchicine due to less phytotoxicity, high efficiency at low concentration, and insignificantly morphological abnormalities (Alan et al., 2007). In *Cucurbita spp.*, the first comprehensive methodology was reported by Kurtar (2018) in winter squash and pumpkin and the highest fertile DH efficiency (93.3%) was obtained from *in vivo* multiple treatments of 1% colchicine for an hour to shoot tips of haploid plants.

## 5. Conclusion and perspective

It is quite obvious that DH efficiency of irradiated pollen, ovule/ovary culture, and anther culture has not expected level in *Cucurbita* yet. However, the most important factor preventing the widespread use of these techniques is that they are genotype-dependent and the haploid frequency shows a great variation among the genotypes. However, when an evaluation is made among these three methods, it is possible to say that the irradiated pollen technique is more advantageous than the others for *Cucurbita* F1 hybrid breeding. Besides, to improve these techniques, further studies should focus on fecund genotypes, profitable PGRs and their combinations, pretreatments, culture procedure (stress treatments), and culture conditions (especially light intensity). In low-frequency genotypes, the frequency should be increased by hybridizing with high-frequency genotypes. On the other hand, as an alternative technique, isolated pollen culture should be adapted to the DH program quickly.

In line with the agronomic targets in the cultivar breeding of vegetable species, DH technology offers great advantages to today's breeders and scientists dealing with biotechnology. With the development and optimization of DH techniques in the future, the breeding period will be shortened and the breeding efficiency will increase in many vegetable species. This should be considered as a great advantage, especially in countries that are still dependent on the outside in terms of vegetable seed production. Vegetable seed breeding organizations that stand out in seed production have established tissue culture laboratories and included DH technology in their breeding programs. When DH technology is combined with biotechnology and some other breeding methods (mutation breeding, backcrossing, F1 hybrid breeding) success in breeding will further increase and will play a decisive role in future vegetable breeding studies.

## References

- Alan, A.R., Mutschler, M.A., Brant, A., Cobb, E., & Earle, E.D. (2003). Production of gynogenic plants from hybrids of *Allium cepa* L. and *A. roylei* Stearn. *Plant Science*, 165, 1201–1211.
- Alan, A.R., Lim, W., Mutschler, M.A., & Earle, E.D. (2007). Complementary strategies for ploidy manipulations in gynogenic onion (*Allium cepa* L.). *Plant Science*, 173, 25–31.
- Araghi, Z.M., Abdollahi, M.R., & Asl, A.M. (2017). The study on the effect of anther orientation, type and composition of culture medium and ovary co-culture on callus induction from cultured anthers of pumpkin (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*). *Agr Biotec*, 8(1), 19-32.
- Bektemur, G., Yücel, N.K., Taşkın, H., Çömlekçiöğlü, S., & Büyükalaca, S. (2014). Effects of different genotypes and gamma-ray doses on haploidization using irradiated pollen technique in squash. *Turk J Biol*, 38, 318–327.
- Berber, M. (2009). *Production of haploids in naked seed pumpkins (Cucurbita pepo L. var. styriaca) by pollination with irradiated pollen*. (MSc), Cukurova University, Institute of Natural and Applied Science, Adana, Turkey.
- Domblides E.A., Shmykova N.A., Zayachkovskaya T.V., Khimich G.A., Korotseva I.B., Kan L.Y., & Domblides A.S. (2016, October). *Doubled haploid plant production from in vitro culture of unpollinated ovules of summer squash (Cucurbita pepo L.)*. Proc of the VII Int Sci and Prac Congress, Yalta, Crimea, Russia.
- Dong, Y., Zhao, W.X., Li, X.H., Liu, X.C., Gao, N.N., Huang, J.H., Wang, W.Y., Xu, X.L., & Tang, Z.H. (2016). Androgenesis, gynogenesis, and parthenogenesis haploids in cucurbit species. *Plant Cell Rep*, 35, 1991–2019.
- Ebrahimzadeh, H., Lotfi, M., Azizinia, S.H., & Ghanavati, F. (2013). Production of haploids in *Cucurbita pepo* L. through parthenogenesis induced by gamma-irradiated pollen. *Crop Biotech*, 4, 99.
- FAO. (2017). FAOSTAT Statistical Databases. [www.fao.org](http://www.fao.org). Erişim tarihi: 11.04.2020.
- Galazka, J., & Niemirowicz-Szczytt, K. (2013). Review of research on haploid production in cucumber and other cucurbits. *Folia Hort*, 25(1), 67–78.
- Habiba, R.M.M. (2016). Effect of genotypes, sucrose concentrations and their interaction on anther culture response on summer squash. *J Agr Chem and Biotec, Mansoura Univ*, 7 (4), 113–120.

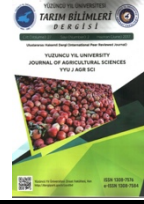
- Kara, B., & Sarı, N. (2019). Effects of spermidine and putrescine applications on haploid plant obtention via ovule culture in Sakız and Dark Green squashes (*Cucurbita pepo* L.). *Turk J Agr Res*, 6(2), 206-213.
- Karaağaç, O., & Balkaya, A. (2013). Interspecific hybridization and hybrid seed yield of winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) lines for rootstock breeding. *Sci Hort*, 149, 9-12.
- Kosmrlj, K., Murovec, J., & Bohanec, B. (2013). Haploid induction in hull-less seed pumpkin through parthenogenesis induced by X-ray irradiated pollen. *J Am Soc Hort Sci*, 138(4), 310-316.
- Kurtar, E.S. (1999). Haploid plant propagation by anther culture of squash (*Cucurbita pepo* L.). *J Agr. Fac. O.M.U.*, 14(2), 33-45.
- Kurtar, E.S., Sari, N., & Abak, K. (2002). Obtention of haploid embryos and plants through irradiated pollen technique in squash (*Cucurbita pepo* L.). *Euphytica*, 127 (3), 335-344.
- Kurtar, E.S. (2009). Influence of gamma irradiation on pollen viability, germinability and fruit and seed-set of pumpkin and winter squash. *Afr J Bio*, 8, 6918-6926.
- Kurtar, E.S., Balkaya, A., Ozbakir, M., & Ofluoglu T. (2009). Induction of haploid embryo and plant regeneration via irradiated pollen technique in pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex. Poir). *Afr J Bio*, 8, 5944-5951.
- Kurtar, E.S., & Balkaya, A. (2010). Production of *in vitro* haploid plants from *in situ* induced haploid embryos in winter squash (*Cucurbita maxima* Duchesne ex Lam.) via irradiated pollen. *Plant Cell Tis and Org Cul*, 102, 267-277.
- Kurtar, E.S., Balkaya, A., & Kandemir, D. (2016). Evaluation of haploidization efficiency in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) through anther culture. *Plant Cell Tis and Org Cul*, 127, 497-511.
- Kurtar, E.S., Balkaya, A., & Kandemir, D. (2016). Screening for salinity tolerance in developed winter squash (*Cucurbita maxima*) and pumpkin (*Cucurbita moschata*) lines. *YYU J Agr Sci*, 26(2), 183-195.
- Kurtar, E.S., Balkaya, A., Göçmen, M., & Karaağaç, O. (2017) Hıyara (*Cucumis sativus* L.) anaç olabilecek ümitvar kabak (*Cucurbita spp.*) genotiplerinde ışınlanmış polen tekniği ile dihaploidizasyon. *Selcuk J Agr Food Sci*, 31(1), 34-41.
- Kurtar, E.S., Balkaya, A., & Ozbakir Ozer, M. (2018). Production of callus mediated gynogenic haploids in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). *Check J of Gen and Plant Bre*, 54(1), 9-16.
- Kurtar, E.S. (2018). The effects of anti-mitotic agents on dihaploidization and fertility in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) androgenic haploids. *Acta Sci. Pol. Hort Cul*, 17(5), 3-14.
- Metwally, E.I., Moustafa, S.A., El-Sawy, B.I., & Shalaby, T.A. (1998a). Haploid plantlets derived by anther culture of *Cucurbita pepo*. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 52(3), 171-176.
- Metwally, E.I., Moustafa, S.A., El-Sawy, B.I., Haroun, S.A., & Shalaby, T.A. (1998b). Production of haploid plants from *in vitro* culture of unpollinated ovules of *Cucurbita pepo* L. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 52(3), 117-121.
- Min, Z.Y., Li, H., Zou, T., Tong, L., Cheng, J., & Sun, X.W. (2016). Studies of *in vitro* culture and plant regeneration of unfertilized ovary of pumpkin. *Chin Bull Bot*, 51(1), 74-80.
- Mohamed, M.F., & Refaei, E.F.S. (2004). Enhanced haploids regeneration in anther culture of summer squash (*Cucurbita pepo* L.). *Cucurbit genetics. Coop Rep*, 27, 57-60.
- Rakha, M.T., Metwally, E.I., Moustafa, S.A., Etman, A.A., & Dewir, Y.H. (2012). Evaluation of regenerated strains from six *Cucurbita* interspecific hybrids obtained through anther and ovule *in vitro* cultures. *Aust J Crop Sci*, 6(1), 23-30.
- Seymen, M., Kurtar, E.S., Dursun, A., & Türkmen, Ö. (2019). *In Sustainable Agriculture: Assessment of plant growth promoting rhizobacteria in cucurbitaceous vegetable crops*. In: Maheshwari D., Dheeman S. (eds) *Field Crops: Sustainable Management by PGPR. Sustainable Development and Biodiversity*, vol 23. Springer, Cham.
- Shalaby, T.A. (2006). Embryogenesis and plantlets regeneration from anther culture of squash plants (*Cucurbita pepo* L.) as affected by different genotypes. *J Agr Res Tanta Univ*, 32(1), 173-183.
- Shalaby, T.A. (2007). Factors affecting haploid induction through *in vitro* gynogenesis in summer squash (*Cucurbita pepo* L.). *Sci Hort*, 115(1), 1-6.

- Sun, S.R., Zhai, Q.H., Hu, J.B., Chen, J.F., & Zhang, P. (2009). Effects of several physiological factors on embryo formation in unpollinated ovary culture of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch. ex Poiret). *Plant Phy Com*, 45(10), 977–980.
- Wu, T., Zhou, J., Zhang, Y., & Cao, J. (2007). Characterization and inheritance of a bush-type in tropical pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne). *Scientia Horticulturae*, 1-4.
- Xie, M., Qin, L.Y., Pan, J.S., He, H.L., Wu, A.Z., & Cai, R. (2005). Flower morphogenesis and microspore development versus anther culture of cucumber. *Acta Bot Bor-Occ Sin*, 25(6), 1096–1100.
- Xie, B., Wang, X.F., & Fan, Z.C. (2006). Improved conditions of *in vitro* culture of unpollinated ovules and production of embryonary sac plants in summer squash (*Cucurbita pepo* L.). *Sci Agric Sin*, 39(1), 132–138.
- Yeşil, S. (2019). Some virus diseases of edible seed squash (*Cucurbita pepo* L.) in Aksaray province, Turkey. *YYU J Agr Sci*, 29, 63-71.
- Yılmaz, Ö. (2005). *Obtention of haploid plants via ovary culture in summer squash (Cucurbita pepo L.)*. (MSc), Sutcı Imam Univ Ziraat Fak, Kahramanmaraş, Turkey.
- Zou, T., Song, H., Chu, X., Tonga, L., Lianga, S., Gongga, S., Yanga, H., & Suna, X. (2020). Efficient induction of gynogenesis through unfertilized ovary culture with winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). *Sci Hort*, 264, 109152.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Araştırma Makalesi (Research Article)

**Çeşitli Kültür Bitkilerinden İzole Edilen Endofitik Bakterilerin Karakterizasyonu ve Bitki Patojeni Bakterilere Karşı Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi**

Yasin BABİER<sup>1</sup>, Ahmet AKKÖPRÜ<sup>1\*2</sup>

<sup>1</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Bölümü, Van, Türkiye

<sup>2</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Van, Türkiye

<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6052-4258> <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1526-6093>

\*Sorumlu yazar e-posta: [ahmetakkopru@yyu.edu.tr](mailto:ahmetakkopru@yyu.edu.tr)

**Makale Bilgileri**

Geliş: 27.04.2020  
Kabul: 07.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.727138

**Anahtar kelimeler**

ACC deaminaz,  
Antagonizm,  
Fosfatı çözündürme,  
İndol-3-asetik asit,  
PGPR,  
Siderofor,  
Van.

**Öz:** Bu çalışmanın amacı çeşitli kültür bitkilerinden izole edilen endofitik bakterilerin (EB) karakterizasyonunu yapmak ve bazı bitki patojeni bakterilere karşı antagonistik etkiye sahip olanlarını belirlemektir. Bu amaçla, Van ili ve civarında yaygın olarak yetiştirilen bazı kültür bitkilerinden fide ve vejetatif dönemde alınan örneklerin yoğun yüzey sterilizasyonuna tabi tutulan kök, gövde, sürgün ve yaprak dokularından 191 endofitik bakteri (EB) izole edilmiştir. Elde edilen bu izolatların PGPR markörlerinden olan; azot fiksasyonu kabiliyeti, fosfatı çözündürme kabiliyeti, aminociklopropan-1-karboksilat deaminaz (ACC-d) üretimi, indol-3-asetik asit (IAA) üretimi ve siderofor üretimi açısından *in-vitro* karakterizasyonları yapılmıştır. İzolatların %58.9'unun gram (-), %41.1'inin gram (+) olduğu tespit edilmiştir. V33K1, V35Y1, V34G1, V17G2, V30Y3, V38K1, V17K1 ve V36Y2 kodlu EB izolatlarının azot fiksasyonu dışında diğer tüm kategorilerde aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. 25 izolat 3 farklı kategoride, 59 izolat 2 farklı kategoride, 67 izolat sadece 1 kategoride aktivite gösterirken, 21 izolat hiçbir kategoride etkinlik göstermemiştir. Ayrıca V30Y3 ve V30G2 kodlu izolatların bitki patojeni 7 farklı bakteri izolatına karşı antagonistik etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Tartılı derecelendirme puanlarına ve antagonistik etkilerine göre seçilen izolatların 16s rDNA dizi analiz sonuçları ile V40K2'nin *Bacillus velezensis* (MN186863), V30Y3'ün *Bacillus megaterium* (MN187955), V30G2'nin *Pseudomonas caspiana* (MN128080), V31Y4'nin *Pantoea* sp. (MT249279) ve V33K2'nin *Bacillus* sp. (MT249109) olduğu belirlenmiştir.

**Characterization of Endophytic Bacteria Isolated from Various Cultivated Plants and Determination of their Antagonistic Effects on Plant Pathogenic Bacteria**

**Article Info**

Received: 27.04.2020  
Accepted: 07.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.727.138

**Abstract:** This study aims to characterize endophytic bacteria (EB) isolated from various cultivated plants and to identify isolates that have an antagonistic effect against some plant pathogenic bacteria. For this purpose, 191 endophyte bacteria (EB) were isolated from root, stem, shoot, and leaf tissues, which were subjected to intensive surface sterilization of samples taken from seedling and the vegetative period from some cultivated plants widely grown in Van province and its vicinity. *In-vitro* characterizations of these isolates were made in terms of nitrogen fixation ability, phosphate solubility ability, aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACC-d) production ability, indole-3-acetic acid (IAA) production ability and siderophore production ability which are PGPR markers. It was determined that

**Keywords**

ACC deaminase,  
Antagonisim,  
Phosphate solubilizing,  
Indole-3-acetic acid,  
PGPR,  
Siderophore,  
Van.

58.9% of the isolates were gram (-), and 41.1% were gram (+). It was revealed that EB isolates with codes V33K1, V35Y1, V34G1, V17G2, V30Y3, V38K1, V17K1, and V36Y2 showed activity in all other categories besides nitrogen fixation. Twenty-five isolates were active in 3 different categories, 59 isolates were in 2 different categories, and 67 isolates were active in only one category. In contrast, 21 isolates were not active in any category. It was also determined that isolate V30Y3 and V30G2 had an antagonistic effect against seven different plant pathogenic bacterial isolates. The 16s rDNA sequence analysis of the isolates selected according to weighted grading scores and antagonistic effects identified the isolates with codes V40K2, V30Y3, V30G2, V31Y4, V33K2 as *Bacillus velezensis* (MN186863), *Bacillus megaterium* (MN187955), *Pseudomonas caspiana* (MN128080), *Pantoea* sp. (MT249279) and *Bacillus* sp. (MT249109), respectively.

**1. Giriş**

Sürdürülebilir tarım kavramı, üretimde agronomik, çevresel, sosyal ve ekonomik boyutları dengelemeyi hedefleyen bir yaklaşımdır (Turhan, 2005). Entansif tarım uygulamalarının ekosisteme verdiği zararlar düşünüldüğünde, tarımda sürdürülebilir üretim modellerinin geliştirilmesi ve yaygınlaştırılması hayati önem arz etmektedir. Yapılan araştırmalar toprak mikroflorasında, bitki yüzeyinde ve içsel dokularda bulunan birçok mikroorganizmanın bitki gelişimini teşvik edebileceğini veya hastalıkları baskılayarak verim artışı sağlayabileceğini göstermektedir (Hardoim ve ark., 2008; Hardoim, 2011). Bu etkilere sahip ve bitki için olumsuz etkisi olmayan bakteriler “bitki gelişimini teşvik eden rizobakteriler” (Plant Growth Promoting Bacteria-PGPB) olarak ifade edilmektedir.

PGPR üyesi bazı bakteriler bitkilerin içsel dokularında kolonize olabilmektedir. Bunlar Endofitik Bakteriler (EB) olarak adlandırılmaktadır. Birçok tanımı olmakla birlikte genellikle; yüzey dezenfeksiyonu yapılmış bitki dokularından veya bitkilerin iç kısımlarından izole edilebilen, bitkilerin vasküler dokuları ile bitkinin tamamına yayılabilen, konukçuya zarar vermemek suretiyle yaşamının en azından bir bölümünü bitki bünyesinde geçiren mikroorganizmalar olarak tanımlanır (Hallmann ve ark., 1997; Azevedo ve ark., 2000; Rosenblueth ve Martínez-Romero, 2006; Ryan ve ark., 2008; Hardoim ve ark., 2008). EB’in bitkilerdeki yaygınlığının belirlenmesi için yapılan çalışmalarda test edilen tüm bitki türlerinin iç dokularının mikroorganizmalar tarafından kolonize olduğu tespit edilmiştir (Surette ve ark., 2003). EB’ler bitki sağlığı ve gelişimine PGPR ile benzer mekanizma ve şekilde katkı sağlayabilirler. Genel olarak PGPB veya EB’ler bitkinin gelişimini veya verimini doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyebilmektedir (Saharan ve Nehra, 2011; Pieterse ve ark., 2014). PGPR’lar bitki gelişim hormonlarını üretebilir veya fotosentezi arttırabilirler (Van Loon 2007; Pieterse ve ark., 2014). Bitkideki strese bağlı artan etilen seviyesini azaltarak (Glick, 2014), besin elementlerini bitkinin kullanabileceği forma dönüştürerek ve bitkinin direnç mekanizmalarını uyararak bitkiye direkt olarak katkıda bulunurlar (Antoun ve Prévost 2006; Saharan ve Nehra 2011). Bununla birlikte, antagonizm, rekabet veya savunma sistemlerini uyarma yoluyla bir biyokontrol ajanı olarak hareket edebilir veya faydalı simbiyotik ilişkileri teşvik ederek ya da ksenobiyotikleri etkisizleştirerek bitkiye dolaylı olarak katkı sağlayabilirler (Antoun ve Prévost, 2006; Saharan ve Nehra, 2011).

Yukarıda bahsedilen mekanizmaların yanı sıra diğer epifitik PGPR’lardan farklı olarak EB’ler bitki iç dokularında yaşamalarından dolayı bitkiyle daha yakın bir ilişki kurabilir ve ürettikleri metabolitler bitki tarafından doğrudan algılanabilir. Ayrıca kolonizasyonlarının bitkinin belirli bir bölgesi ile sınırlı olmaması (rizosfer gibi) ve iletim sistemleri yoluyla diğer dokulara taşınmaları patojenlerle her alanda ve birçok mekanizmayla mücadele olanağı sağlamaktadır (Rosenblueth and Martínez-Romero, 2006; Hardoim ve ark., 2008). Diğer yönüyle EB’lerin bitki içinde kolonize olmaları dış ortamda gelişimlerini sınırlandıran biyotik ve abiyotik faktörlerden korunmalarını sağlayabilir ve uzun süre bitkide varlıklarını sürdürmelerine yardımcı olabilir (Rosenblueth ve Martínez-Romero, 2006; Mercado-Blanco ve Lugtenberg, 2014).

Bu avantajlarından dolayı EB’in tarımsal üretime aktarılma çalışmaları her geçen gün artmaktadır. Bu amaç ile EB’lerin bazı markör özelliklerinin *in-vitro* testler ile belirlenmesi yolu ile ön seçimleri yapılmaktadır. Bunlar arasında özellikle Azot fikse etme, fosfor alımını kolaylaştırma, 1-aminoklopropan-1-karboksilat deaminaz (ACC-d) üretimi, indol-3-asetik asit (IAA) üretimi ve siderofor



üretimi, hedef patojenlere karşı antagonistik etki gibi bazı karakterler ön plana çıkan bazı özelliklerdir. Ayrıca bu markörlerin *in-vitro* çalışmalar ile taranması *in-vivo* çalışmalarda yüksek maliyet, emek ve zaman kaybını azaltmada çok önemlidir. Böylece bu süreç sonunda *in-vivo* testlere alınan aday izolatlar içinden hedeflere uygun adayları belirleme şansı arttırılmaktadır.

Yürütülen bu çalışmada Van Gölü Havzasında yaygın olarak yetiştirilen kültür bitkilerinden EB adaylarının izolasyonu, karakterizasyonu ve tanılanması hedeflenmiştir. Elde edilen izolatların azot fikse etme kabiliyetleri, fosfatı çözündürme kabiliyetleri, ACC-d, IAA ve siderofor üretimleri *in-vitro*'da araştırılmıştır. Karakterizasyon testlerinin değerlendirilmesi için tartılı derecelendirme yöntemi kullanılmış ve en başarılı bulunan izolatlar bitki patojeni bakterilere karşı antagonistik etkileri *in-vitro* çalışmalarla belirlenmiştir. Ümitvar bulunan izolatların tanılanması 16s rRNA dizi analizi ile yapılmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

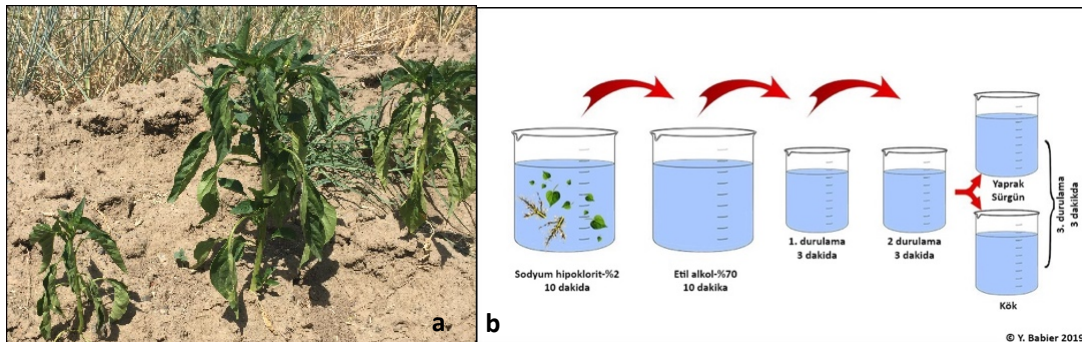
### 2.1. Endofitik bakterilerin izolasyonu

Endofit bakteriler fide veya vejetatif dönemde olan biber, domates, fasulye, hıyar, kabak, karpuz, kavun, marul, nohut ve patlıcan gibi 10 farklı bitki türünün kök, gövde, sürgün ve yapraklarından izole edilmiştir. EB izolasyonu amaçlı bitki örnekleri 12 Haziran-15 Temmuz 2018 tarihleri arasında Van ili Edremit, Erciş, Gevaş, Muradiye ve Tuşba, ilçelerinde açıkta yetiştiricilik yapılan işletmelerden toplanmıştır (Babier, 2019).

EB izolasyonu yapılacak bitkilerin seçiminde biyotik ve/veya abiyotik stres faktörlerinin görüldüğü yerlerden sağlıklı bitkilerin toplanması yöntemi izlenmiştir (Şekil 1a). Bitki örnekleri, kökleri ve bir miktar toprakla birlikte polietilen torbalara konarak soğuk zincirde laboratuvara getirilmiş ve izolasyon yapıncaya kadar (maksimum 24 saat) 4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Musluk suyuyla yıkanarak toprak atıklarından temizlenen bitki örneklerinin kök, gövde, sürgün ve yapraklarında steril bisturi yardımıyla alınan yaklaşık 1 cm boyutundaki örneklerden izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Örnekler sırasıyla 10 dakika %2'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) ardından 10 dakika %70'lik etil alkolde bekletilerek yüzey sterilizasyonu gerçekleştirilmiş ve sonrasında steril saf su ile 3'er dakikalık 3 durulama yapılmıştır (Şekil 1b.). Yüzey sterilizasyonu tamamlanan örnekler kurutma kağıtları yardımı ile kurutulduktan sonra steril havan ve havan eli yardımıyla ezilmiş ve 1-2 mL steril saf su ilave edilmiştir. Elde edilen ekstraktan 100 µL örnek alınıp cycloheximide (100 µg/L) içeren nutrient broth agar (NBA) (Merck) besiyerine steril bağıet yardımıyla yayılarak ekim yapılmıştır. Aynı miktar son durulama suyundan alınarak besi yerine ekim yapılmış ve örneklerin yüzey sterilizasyonu başarısı kontrol edilmiştir. İnkübasyon periyodunun (25±2°C – 48 saat) sonunda durulama suyuna ait Petri kaplarında herhangi bir mikrobiyal gelişim gözlenmesi durumunda ait olduğu örneğin sterilizasyonunun başarısız olduğuna karar verilmiş ve örnek elenmiştir.

Yüzey sterilizasyonu başarılı olan örneklerin bulunduğu Petri kaplarında (7cm Ø) gelişen bakteri kolonileri; renk, koloni çapı vb. morfolojik özelliklerine göre değerlendirilmiştir. Birbirlerinden farklı olduğu düşünülen koloniler saflaştırılmak üzere King' B besiyerine (KB) (20 g/L Pepton; 1.5 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1.5 g/L MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O; 10 mL/L gliserol; 16 g/L agar, 1 L saf su; pH:7) ekilmiştir ve 24-48 saat inkübe edilmiştir. Saflaştırılmış kültürler daha sonra %15 gliserol katkılı 8g NB içeren besiyerlerine aşılınmış ve sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.



Şekil 1. a) Komşu bitkilere göre pozitif yönde gelişme farklılığı gösteren EB izolasyonu için seçilen bitkiler. b) EB izolasyon çalışmalarında yüzey sterilizasyonu çalışmalarında izlenen yöntem.

## 2.2. Endofitik bakterilerin karakterizasyonu

Aday EB'lerin gram reaksiyonu testleri 48 saatlik kültürler kullanılarak potasyum hidroksit (KOH) testi ile değerlendirilmiştir. İzolatlar tütün yapraklarına enjeksiyon yoluyla uygulanmış ve 48 saat beklenmiştir. Yapraklarda aşırı duyarlılık belirtisine (HR) neden olan örnekler patojen olma ihtimallerine karşı elenmiştir. (Schaad ve ark., 2001).

HR ve gram reaksiyonlarının belirlenmesi ile birlikte, KB besi yerinde gelişimi, -80°Cde depolanma sonrası hayatlarını sürdürebilme özellikleri belirlenen izolatlar, diğer karakterizasyon testlerine tabi tutulmuştur. Karakterizasyon çalışması iki aşamalı yürütülmüştür. Birinci aşamada izole edilen ve saflaştırılan endofit bakteri izolatlarının markör PGPR karakterlerinin belirlenmesi, ikinci aşama ise birinci aşama sonuçlarına göre seçilen izolatların bitki patojeni bakterilere karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi şeklindedir.

### 2.2.1 Azotu fikse etme yeteneklerinin belirlenmesi

EB'lerin 24 saatlik saf kültürleri azot içermeyen (N-Free) besiyerine (Döbereiner ve ark., 1972) birbirine eşit uzaklıkta 4 noktaya iğne uçlu öze yardımıyla nokta ekim yoluyla ekilmiş ve 4 gün süreyle 25-27°C'de inkübasyona bırakılmıştır. N-Free besiyeri: 10 g/L sukroz; 5 g/L L-malik asit; 0.1 g/L  $K_2HPO_4$ ; 0.4 g/L  $KH_2PO_4$ ; 0.2 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0.01 g/L  $FeCl_3$ ; 0.1 g/L NaCl; 0.02 g/L  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ; 0.02 g/L  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ ; 0.05 g/L Bromtimol blue (5 ml etil alkolde çözülmüş) içeren süspansiyonun pH'sı 6.9'a ayarlanarak 12 g/L agar eklenmiş ve otoklav edilmiştir. Besiyerinde gelişen ve amonyak üretimine bağlı olarak, besiyerinin orijinal rengi olan yeşilden maviye renk değişimine sebep olan izolatların azotu fikse edebilme kabiliyetlerinin var olduğu kabul edilmiştir.

### 2.2.2. Fosfatı çözündürme aktivitesinin belirlenmesi

EB'lerin 24 saatlik saf kültürleri NBRIP Agar besiyerine birbirine eşit uzaklıkta 4 noktaya nokta inokülasyon yoluyla ekilmiştir. NBRIP Agar besiyeri; 10 g/L glukoz; 5 g/L  $Ca_3(PO_4)_2$ ; 0.1 g/L  $(NH_4)_2SO_4$ ; 0.2 g/L KCl; 0.25 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 5 g/L  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ; ilave edilmiş ortamın pH'sı 7'ye ayarlanarak 15 g/L agar eklenmiş ve otoklav edilmiştir. İzolatlar 14 gün boyunca 24°C'de inkübasyona bırakılmış ve sürenin sonunda koloni çevresinde oluşan saydam zonlar bakterilerin fosfatı çözündürme aktivitelerinin varlığı olarak değerlendirilmiş ve oluşan zonlar ölçülerek izolatın etkinliği belirlenmiştir (Nautiyal, 1999).

### 2.2.3. ACC-deaminaz üretiminin belirlenmesi

ACC-deaminaz üretim aktivitesi Penrose ve Glick (2003)'in belirttiği yöntemin uyarlanması ile DF besiyeri kullanılarak değerlendirilmiştir. DF besiyeri: 5 mM (670 mg/L) malik asit; 2 g/L glukoz; 2 g/L sitrik asit; 4 g/L  $KH_2PO_4$ ; 6 g/L  $Na_2HPO_4$ ; 0.2 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 1 µg/L  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 10 µg/L  $MnSO_4$ ; 70 µg/L  $ZnSO_4$ ; 50 µg/L  $CuSO_4$ ; 10 µg/L  $MoO_3$ ; 18 µg/L agar 121°C'de 20 dk. otoklav edilmiştir. Azot kaynağı içermeyen bu ortam negatif kontrol (NK) olarak kullanılmıştır. Pozitif kontrol (PK) için aynı içeriğe 2 g/L  $(NH_4)_2SO_4$  azot kaynağı eklenmiştir. ACC-deaminaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla azot kaynağı  $(NH_4)_2SO_4$  yerine 6 mM steril ACC solüsyonu (filtre edilerek sterilize edilmiş) hazırlanmış ve bu solüsyondan her bir  $(NH_4)_2SO_4$  içermeyen katı besiyeri yüzeyine 100 µL yayılmıştır. Petriler, ACC-deaminaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmak için oda sıcaklığında kurumaya bırakılmışlardır. İzolatların 24 saatlik saf kültürlerinin negatif kontrol, pozitif kontrol ve ACC grubu olarak ayrılan petrilere inokülasyonu çizgi ekim yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Petriler 28°C'de 48-72 saat boyunca inkübe edilerek koloni gelişimleri gözlemlenmiştir. Test gruplarına ait ve koloni gelişimi gözlenen petrilere alınan koloniler, tekrar NK, PK ve ACC grubu petrilere ekilmiştir. İkinci aşamada da yalnızca PK ve ACC grubu petrilere gelişim gösteren izolatların ACC deaminaz üretim yeteneklerinin olduğuna karar verilmiştir. İzolatların gelişim yoğunluğu baz alınarak belirlediğimiz 0-3 skalasına göre (0: gelişim yok, 1: tek ve kesin sınırlarla ayrılan az sayıda koloniler,

2: koloniler bitişik fakat birbirinden ayırt edilebilir durumda, 3: yoğun gelişim sonucu koloniler tamamen birleşmiş ve ayırt edilemez durumda) skorlanmıştır.

#### 2.2.4. Indol asetik asit üretme yeteneğinin belirlenmesi

EB'lerin IAA üretimi Akbari ve ark. (2007)'ın belirttiği yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak L-triptofan (L-TRP) varlığında kolorimetrik olarak incelenmiştir. 50 mL Nutrient Broth (NB) besiyeri 100 mL'lik erlenlere konarak otoklavda sterilize edilmiş, daha sonra her erlen için daha önce filtrasyon yöntemiyle steril edilmiş 5 mL L-TRP (%0.05) ilave edilmiştir. Daha sonra bu karışıma EB izolatlarının 48 saatlik kültürlerinden hazırlanan süspansiyonlarından ( $OD_{600nm}$ : 0.1) 100 µL eklenmiş ve  $26 \pm 2^\circ C$ 'de, 120 rpm'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen sıvı kültür 1000 rpm de 10 dk. santrifüj edilmiş ve oluşan süpernatant alınarak Whatman (No: 2) filtre kağıdından geçirilmiştir. Filtre edilen süpernatanttan 3 mL alınarak bir tüpe aktarılmış ve üzerine 2 mL Salkowski ayırıcı (2 mL 0.5 M  $FeCl_3$  + 98 mL %35'lik  $HClO_4$ ) ilave edilmiş ve 30 dk. renk oluşumu için beklenmiştir. Süre sonunda spektrofotometrede 535 nm'de okuma yapılarak absorbans (Abs) değeri belirlenmiştir. Elde edilen Abs değerlerini µg/mL'ye dönüştürmek için 1'den 50'ye kadar farklı ppm düzeylerinde IAA süspansiyonu hazırlanarak ölçümler yapılmış ve excel paket programı ile probit analizi yapılarak bir standart eğri oluşturulmuştur. Oluşturulan kurveye göre izolatların IAA üretimi hesaplanmıştır (Akbari ve ark., 2007; Akköprü, 2012).

#### 2.2.5. Siderofor etkinliğinin belirlenmesi

Siderofor aktivitesi, Schwyn ve Neilands (1987)'nin önerdiği Blue-CAS Agar metodunun uyarlanması ile belirlenmiştir (Schwyn ve Neilands, 1987; Loudon ve ark., 2011).

*Blue-CAS Agar besiyeri:*

A. *CAS solüsyonu:* a) 0.06 g CAS (Fluka Chemicals) 50 mL steril distile su (ddH<sub>2</sub>O) içinde çözülmüştür. b) 0.0027 g  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  10 mL (10 mM) HCl içinde çözülmüştür. c) 0.073 g HDTMA 40 mL ddH<sub>2</sub>O içinde çözülmüştür. "a" solüsyonundan alınan 9 mL solüsyon "b" ile karıştırılmış ardından "c" ilave edilmiştir (final solüsyonun koyu mavi renkte olmasına dikkat edilmiştir). Karışım, otoklav işleminden geçirildikten sonra ışık geçirmeyecek şekilde bir kaptaki saklanmıştır.

B. *Minimal tuz ortamı (MM9):* 15 g  $KH_2PO_4$ ; 25 g NaCl ve 50 g  $NH_4Cl$  500 ml ddH<sub>2</sub>O içinde çözülmüştür. 20 g glikoz 100 mL steril distile su çözüldürülmüş filtre ile sterilize edilmiştir.

C. *CAS agarın hazırlanması:* 100 mL MM9 tuz çözeltisi 750 mL ddH<sub>2</sub>O'ya eklenmiştir. b) Daha sonra 32.24 g piperazin-N, N'-bis (2-etansülfonik asit) (PIPES) çözülmüştür. Bu amaçla, NaOH ile pH 6'ya ayarlanıp karıştırılırken yavaşça PIPES eklenmiştir. PIPES çözüldükçe düşen pH dengelenmiş ve 6.8'e ayarlanmıştır. c) 15 g agar eklenmiş ve otoklav edilmiştir. d) 50°C'ye soğutulmuş MM9 / PIPES karışımına, 30 mL steril Casamino asit çözeltisi (3 g Casamino asit 27 mL steril ddH<sub>2</sub>O ve filtre ile sterilize edilmiştir) ve 10 mL steril %20 glikoz çözeltisi ilave edilmiştir. e) Cam duvar boyunca yavaşça 100 mL CAS solüsyon (A) eklenmiş ve karıştırılarak aseptik olarak petri kaplarına dökülmüştür.

Hazırlanan mavi renkli CAS agar besiyerine EB'lerin 24 saatlik saf kültürleri birbirine eşit uzaklıkta bulunan dört noktaya ekilmiş, 7 gün süreyle 24°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Koloni çevresinde oluşan ve koloninin bittiği yerden başlayan sarı zonun 4 farklı noktasından ölçülerek aritmetik ortalaması alınmıştır. Elde edilen değerlere göre EB izolatlarının siderofor üretme seviyesi değerlendirilmiştir

#### 2.3. Tartılı derecelendirme ve antagonizm çalışmaları

Aday EB izolatları karakterizasyon çalışmalarında gösterdikleri başarıya göre önceden belirlenen ve aşağıdaki formül kullanılarak tartılı derecelendirme puanlamasına (TDP) tabi tutulmuştur (Formül 1). TDP değerine göre ilk 30 adet EB izolatu antagonizm çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir.

TDP hesaplaması için her bir karakter için araştırmacılar tarafından önem derecesine göre belirlenmiş olan bir katsayı verilmiştir. Çalışmamızda katsayılar ACC-d üretimi için 5, fosfat çözüldürme yeteneği için 6, siderofor üretimi için 7, azot fiksasyon kabiliyeti ve IAA üretimi için 8 olarak belirlenmiştir (Babier, 2019).

### Hesaplama;

- Formülde pay kısmı; her bir karakter için izolatin oluşturduğu değer, aynı karakterde varlık gösteren tüm izolatların ortalamasına (a) bölündükten sonra kategori için belirlenen katsayı ile çarpılarak hesaplanmıştır

- Formüldeki payda kısmı her karakterin en yüksek değeri (b), o karakterin genel ortalamasına (a) bölünerek ve karaktere ait kat sayı ile çarpılarak hesaplanmıştır. Bu şekilde her bir karakter için hesaplanan değerler toplanarak tüm karakterleri temsil eden bir maksimum değere ulaşılmıştır.

- Daha sonra bir izolatin tüm karakterlere ait değerleri toplanmış ve maksimum değere bölünmüştür. Çıkan sonuç 100 ile çarpılmış ve o izolatin TDP değeri hesaplanmıştır (Babier, 2019).

$$TDP = \left[ \frac{5 \left( \frac{ACC^*}{a} \right) + 6 \left( \frac{P}{a} \right) + 7 \left( \frac{Sid}{a} \right) + 8 \left( \frac{N}{a} \right) + 8 \left( \frac{IAA a}{a} \right)}{\sum \left[ 5 \left( \frac{ACC b}{a} \right) + 6 \left( \frac{P b}{a} \right) + 7 \left( \frac{Sid b}{a} \right) + 8 \left( \frac{N b}{a} \right) + 8 \left( \frac{IAA b}{a} \right) \right]} \right] 100 \quad (1)$$

Formülde; ACC-d: ACC-deaminaz aktivitesini, P: fosfat çözme aktivitesi, Sid: siderofor aktivitesini, N: azot fikse etme kabiliyetini, IAA: indol asetik asit üretme kabiliyetini, \*: izolatin o karakterdeki değeri, a: o karakterin izolatları arasındaki ortalaması (aktivite göstermeyenler ortalamaya dahil edilmemiştir), b: o karakterin izolatları arasında aldığı en yüksek değeri ifade etmektedir.

## 2.4. Endofitik bakterilerin bitki patojeni bakterilere karşı *in-vitro* antagonistik etki testleri

TDP sonuçlarına göre seçilen en başarılı 30 adet EB izolatinın laboratuvar stoklarımızda bulunan bitki patojeni *Erwinia amylovora* (Ea), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss), *P. syringae* pv. *lachrymans* (Psl), *P. syringae* pv. *tomato* (Pst), *Clavibacter michiganensis* sub. sp. *michiganensis* (Cmm), *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) ve *X. euvesicatoria* (Xe)'ya karşı *in-vitro* koşullarda antagonistik etkileri araştırılmıştır. Patojen bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden hazırlanan  $10^7$  CFU/mL yoğunluğundaki stok süspansiyonlardan 80 µL alınarak 7 cm çaplı petrilere bulunan KB besiyerlerinin yüzeyine yayılmış ve kurumaya beklenmiştir. Daha sonra 48 saatlik EB kültürlerinden bu petrilere birbirlerine eşit mesafede dört noktaya ekilmiştir. Bu test işlemi her EB-patojen ikilisi için tesadüf parselleri deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Varsa oluşturdukları engelleme zonu (mm) 48 saat sonra ölçülerek *in vitro* antagonistik etkileri değerlendirilmiştir.

## 2.5. Endofitik bakteri izolatlarının moleküler tanılaması

Karakterizasyon ve antibiyosis çalışmalarında başarılı bulunan EB izolatlarının tanılaması 16s rRNA bölgesinin dizi analizi ile yapılmıştır. Bu amaçla spesifik primerler 27F (5'- AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG -3') ve 1492R (5'- TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACTT -3') Baker ve ark. (2003) önerdikleri metot doğrultusunda kullanılmıştır. Yaklaşık  $10^7$  CFU/mL yoğunluğunda hazırlanan bakteri süspansiyonları kuru blok ısıtıcıda 10 dk. süreyle 95°C'de ısıtılarak hücrelerin parçalanması sağlanmış, sonrasında oluşan süspansiyonlar 5000 rpm'de 3 dk. süre ile santrifüj işleminden geçirilerek hücre kalıntıları uzaklaştırılmıştır. DNA içeren süpernatant PCR reaksiyonlarında kalıp DNA kaynağı olarak kullanılmıştır (Newton, 1995). PCR ürünlerinin değerlendirmesi %1.5'lik agaroz jelde 100 Volt'ta 30 dakika yürütülerek yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin dizi analizi sonucu tanılama gerçekleştirilmiştir.

## 3. Bulgular

Sörvey çalışmaları sonucu farklı bölgelerden toplam 11 adet biber, 8 adet domates, 5 adet patlıcan, 1 adet nohut, 1 adet fasulye, 3 adet hıyar, 2 adet kabak, 3 adet karpuz, 5 adet kavun, 2 adet salata marul örneği olmak üzere toplam 41 adet örnek toplanmıştır.

Toplanan sağlıklı bitkilerden 191 adet aday EB izolatu elde edilmiştir (Babier, 2019). Bu izolatlardan 11 tanesi tütünde HR oluşumuna neden olmaları veya -80°C'den çıkarıldıktan sonra tekrar

canlandırılmadığı için elenmiştir. Geriye kalan 180 adet izolatın %58.9'unun gram (-), %41.1'inin gram (+) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1).

### 3.1. Endofitik bakteri izolatlarının karakterizasyonu, tartılı derecelendirilmesi ve antagonistik etkileri

Karakterizasyon çalışması yapılan 180 adet izolatın her biri azotsuz besiyerine ekilmiştir. Besi yerlerinde koloni gelişimi gözlenmiş fakat hiçbir izolat besiyerlerinde mavi renk dönüşümü gerçekleştirilememiştir (Şekil 2a). Ancak bazı bakterilerin besiyerinde yeşilden sarıya bir renk değişimi oluşturduğu gözlenmiştir. Bu durum izolatın pH değişimine neden olduğu, fakat azot fiksasyonunun gerçekleştirilemediği yönünde değerlendirilmiştir. Koloni gelişimi tek başına yeterli olmadığı için 180 adet izolatın hiçbirinin azot fiksasyonu kabiliyetine sahip olmadığına karar verilmiştir.

180 adet izolatın %20'lik kısmının fosfatı çözme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlardan V33K2 kodlu izolat 11.75 mm zon oluşturarak fosfotaz aktivitesi gösteren en başarılı izolat olarak saptanmıştır. Fosfataz aktivitesi gösteren 36 adet izolatın 17 tanesinin gram (+), 19 tanesinin gram (-) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1, Şekil 2b).

Tüm izolatların %13.9'unun ACC-deaminaz aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. 12 adet izolatın gram (+), 13 adet izolatın gram (-) olduğu belirlenmiştir. Şekil 2c'de, besiyerinde gelişim gösteren ve ACC-d aktivitesi bakımından en başarılı izolatlardan biri olan V40K1 izolatu görülmektedir. Çalışma sırasında bazı izolatlar az da olsa gelişim gösterdiği görülmüştür. Bu nedenle ACC-d varlığına karar vermekteki zorluk, gelişim düzeylerinin pozitif ve negatif kontroller ile kıyaslanması ile aşılmıştır (Çizelge 1, Şekil 2c).

Farklı düzeylerde dahi olsa IAA üretim kabiliyetine sahip izolatlar tüm izolatların %53.3'ünü oluşturduğu belirlenmiştir. IAA üreten 96 adet izolatın 41 adeti gram (+), 55 adeti gram (-) olarak kaydedilmiştir. Aktivite gösteren izolatların 1ppm ile 25 ppm aralığında IAA ürettiği belirlenmiştir. Bu konudaki en başarılı izolat 25.03 ppm IAA üreten V31Y4 kodlu izolat olmuştur. 1 ppm altında IAA üreten izolatların IAA üretimi 0 kabul edilmiştir (Çizelge 1, Şekil 2d).

İzolatların %75'inin Blue-CAS agar ortamında zon oluşturduğu ortaya konmuştur (Şekil 2e). Siderofor aktivitesi 0.5 mm- 7 mm aralığında olan 135 adet izolatın 53 adetinin gram (+), 82 adetinin gram (-) olduğu kaydedilmiştir. Siderofor üretiminde en başarılı izolat 7 mm ile V40K2 kodlu izolat olmuştur (Çizelge 1)

Yapılan çalışmalar ile markör PGPR karakterleri TDP göre değerlendirilmiştir. Bu tartılı puanlamaya göre en başarılı izolat 51.28 puan ile V31Y4 kodlu izolat olmuştur. TDP ile belirlenen en başarılı 30 adet izolat antagonist etki testlerine alınmıştır (Çizelge 1).

Bitki patojeni yedi adet bitki patojeni bakteriye karşı antagonistik etkilerinin araştırıldığı *in vitro* çalışmalarda; V30Y3 ve V30G2 kodlu izolatların bütün patojenlere karşı engelleme zonu oluşturduğu gözlenmiştir. V27Y3 izolatu 6 adet patojene; V14G3 izolatu 5 adet patojene; V34G1, V40K1 ve V31K3 kodlu izolatlar 4 adet patojene; V33K2, V37Y1, V40K2 ve V37Y3 kodlu izolatlar 3 adet patojene; V31G1, V41K3, V29Y1 ve V17K2 kodlu izolatlar 2 adet patojene; V32Y2 ve V31K2 kodlu izolatlar 1 adet patojene karşı engelleme zonu oluştururken 13 adet izolat ise hiçbir patojene karşı engelleme zonu oluşturmamıştır. Yalnızca 3 adet izolat *Psl* ve *Pst*'ye karşı engelleme zonu oluştururken, 5 adet izolat *Pss*'ye, 7 adet izolat *Ea*'ya, 14 adet izolat *Cmm* ve *Xph*'ye ve 13 adet izolat *Xe*'ye karşı engelleme zonu oluşturmuştur (Çizelge 1; Şekil 2f).

Çizelge 1. Değerlendirilen 180 izolat içinden TDP değeri 10'un üzerinde olan 65 adet aday EB'nin karakterizasyon ve bazı bitki patojeni bakterilere karşı antagonistik etki testi sonuçları.

İzolat Kodu	Gram Reak.	PGPR karakteri *				TDP	Engelleme zonu (mm)**							
		ACC-d	Sid. (mm)	P (mm)	IAA (ppm)		<i>Psl</i>	<i>Pss</i>	<i>Pst</i>	<i>Ea</i>	<i>Cmm</i>	<i>Xe</i>	<i>Xph</i>	
1	V31Y4	(-)	3	2.25	-	25.03	51.28	-	-	-	-	-	-	-
2	V33K2	(+)	-	1.50	11.70	7.68	47.25	-	-	-	-	4.33	1.33	2.00
3	V33K1	(+)	1	1.75	2.58	14.32	36.38	-	-	-	-	-	-	-
4	V37Y1	(-)	-	5.5	0.75	8.56	35.98	-	-	-	-	7.00	2.00	2.00
5	V40K2	(-)	3	7.00	-	1.38	35.22	-	-	-	-	1.33	2.67	2.00
6	V31Y3	(-)	-	1.63	3.17	12.21	32.36	-	-	-	-	-	-	-
7	V35Y1	(+)	2	1.5	2.17	10.91	31.28	-	-	-	-	-	-	-
8	V14G3	(+)	3	3.00	-	9.09	30.86	-	1.00	-	8.00	3.00	6.00	9.00

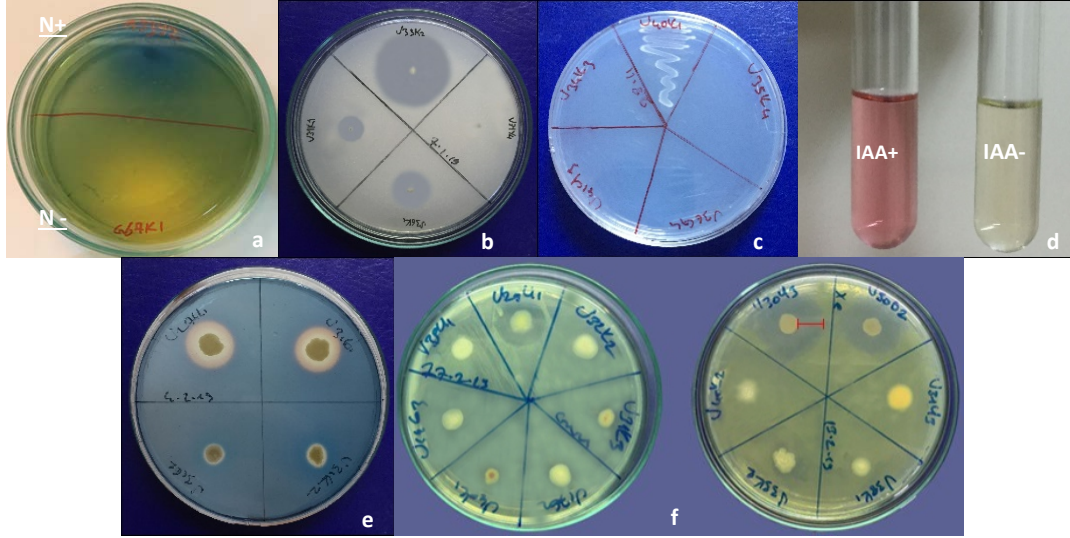
9	V31G1	(-)	-	4.50	3.42	1.79	28.99	-	-	-	-	-	8.00	19.00
10	V37G2	(-)	-	2.25	-	13.5	28.58	-	-	-	-	-	-	-
11	V41K3	(+)	3	2.00	-	9.74	27.89	-	-	-	-	3.00	-	2.00
12	V34G1	(+)	3	1.00	0.50	10.97	27.07	-	-	-	4.00	2.00	5.33	4.33
13	V32Y2	(+)	-	5.88	-	2.62	26.82	-	-	-	-	1.00	-	-
14	V29Y1	(+)	-	5.00	-	4.32	25.90	-	-	-	-	4.00	3.00	-
15	V17G2	(-)	3	0.50	3.84	5.09	25.05	-	-	-	-	-	-	-
16	V32K2	(-)	2	4.50	-	2.03	24.45	-	-	-	-	-	-	-
17	V30Y3	(+)	3	1.50	1.00	6.91	24.37	2.33	2.33	2.00	2.00	9.67	8.67	16.00
18	V36K1	(+)	-	1.25	6.42	1.21	23.11	-	-	-	-	-	-	-
19	V17K2	(+)	3	1.75	-	7.09	23.04	-	-	-	-	2.33	-	1.00
20	V38K1	(+)	3	1.13	1.50	5.79	22.54	-	-	-	-	-	-	-
21	V30G2	(-)	-	4.50	1.84	-	22.31	2.00	2.00	2.00	2.00	9.67	8.33	16.00
22	V40Y2	(-)	3	2.00	-	5.03	21.00	-	-	-	-	-	-	-
23	V29Y2	(-)	-	2.25	-	8.09	20.65	-	-	-	-	-	-	-
24	V40K1	(-)	3	1.75	2.88	-	20.03	-	-	-	1.00	15.00	4.00	15.00
25	V37Y3	(+)	-	2.25	2.84	2.68	20.00	-	-	-	4.00	-	1.00	4.00
26	V31K1	(-)	3	-	1.88	6.32	19.88	-	-	-	-	2.67	-	-
27	V27Y3	(+)	-	2.00	2.25	3.26	18.38	3.00	2.00	4.00	4.33	-	4.00	8.00
28	V31K3	(-)	-	2.13	2.92	1.74	18.33	-	1.50	-	-	15.00	6.00	15.00
29	V31K5	(+)	3	1.25	-	5.09	18.15	-	-	-	-	-	-	-
30	V17G1	(-)	1	2.25	-	4.68	17.59	-	-	-	-	-	-	-
31	V8G2	(-)	-	1.50	-	7.91	17.46	-	-	-	-	-	-	-
32	V41Y3	(+)	-	2.00	0.75	4.74	16.69	-	-	-	-	-	-	-
33	V17K1	(-)	2	1.00	1.00	4.32	16.68	-	-	-	-	-	-	-
34	V31Y1	(+)	-	0.75	2.75	4.56	16.67	-	-	-	-	-	-	-
35	V9G2	(-)	-	1.50	-	7.09	16.25	-	-	-	-	-	-	-
36	V27Y1	(-)	-	4.13	-	-	16.14	-	-	-	-	-	-	-
37	V12K2	(+)	3	0.75	-	3.68	14.13	-	-	-	-	-	-	-
38	V36Y2	(+)	1	1.00	2.17	1.85	14.12	-	-	-	-	-	-	-
39	V37G1	(-)	-	2.50	0.50	1.91	13.86	-	-	-	-	-	-	-
40	V11K1	(+)	-	1.13	-	6.38	13.75	-	-	-	-	-	-	-
41	V36K6	(-)	-	-	4.50	1.26	13.39	-	-	-	-	-	-	-
42	V6Y3	(-)	-	2.38	-	2.62	13.13	-	-	-	-	-	-	-
43	V18G2	(+)	-	1.25	-	5.5	12.95	-	-	-	-	-	-	-
44	V2G1	(+)	-	1.50	-	4.79	12.89	-	-	-	-	-	-	-
45	V7G3	(-)	-	-	-	8.74	12.80	-	-	-	-	-	-	-
46	V2K2	(-)	-	1.75	-	3.97	12.66	-	-	-	-	-	-	-
47	V1G3	(-)	-	2.63	-	1.62	12.64	-	-	-	-	-	-	-
48	V1G1	(-)	-	1.00	-	5.91	12.57	-	-	-	-	-	-	-
49	V30G3	(-)	-	1.50	-	4.56	12.55	-	-	-	-	-	-	-
50	V36G1	(-)	-	1.38	-	4.74	12.32	-	-	-	-	-	-	-
51	V14Y1	(-)	3	1.63	-	-	12.17	-	-	-	-	-	-	-
52	V41G2	(-)	-	1.75	-	3.62	12.15	-	-	-	-	-	-	-
53	V36K3	(-)	-	1.00	2.00	2.09	12.10	-	-	-	-	-	-	-
54	V6K5	(+)	-	2.25	-	2.21	12.03	-	-	-	-	-	-	-
55	V5K2	(+)	-	1.75	-	3.38	11.80	-	-	-	-	-	-	-
56	V4G1	(-)	-	1.63	-	3.56	11.57	-	-	-	-	-	-	-
57	V32G1	(-)	-	2.50	-	1.21	11.55	-	-	-	-	-	-	-
58	V17K3	(-)	-	2.00	-	2.38	11.32	-	-	-	-	-	-	-
59	V3G1	(-)	-	2.00	-	2.21	11.06	-	-	-	-	-	-	-
60	V3Y2	(-)	3	1.25	-	-	10.70	-	-	-	-	-	-	-
61	V36G3	(-)	-	1.63	-	2.91	10.62	-	-	-	-	-	-	-
62	V37G3	(-)	-	0.50	-	5.91	10.62	-	-	-	-	-	-	-
63	V6Y1	(+)	-	1.75	-	2.56	10.60	-	-	-	-	-	-	-
64	V9G3	(-)	-	1.50	-	3.15	10.48	-	-	-	-	-	-	-
65	V9Y2	(-)	-	1.50	-	2.91	10.13	-	-	-	-	-	-	-

\* Çizelgedeki sıralama en yüksek TAD göre yapılmıştır. Çizelgede Gram reaksiyonu (Gram Reak), ACC deaminaz aktivitesi (ACC), Blue-Cas Agar ortamında Siderefor üretim düzeyi (mm) (Sid.), NBRIP Agar besiyerinde fosfat çözme yeteneği (mm) (P), L-TRP'lı ortamda IAA üretimi (ppm) (IAA) olarak belirtilmiştir. Azot fikse eden izolat bulunamadığı için çizelgede verilmemiştir. TAD puanına göre seçilen ilk 30 izolatın çeşitli bitki patojeni bakterilere *in vitro* da antagonistik etkileri değerlendirilmiştir.

\*\*Patojenlerin kısaltmaları; *Ea*: *Erwinia amylovora*, *Pss*: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Psl*: *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, *Pst*: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Cmm*: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xap*: *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, *Xe*: *Xanthomonas euvesicatoria*'yı ifade etmektedir.

Bütün karakterizasyon sonuçları ele alındığında 5 kategorinin hepsinde birden etkinlik gösteren izolat bulunmamıştır. Fakat V33K1, V35Y1, V34G1, V17G2, V30Y3, V38K1, V17K1 ve V36Y2 kodlu EB izolatlarının azot fiksasyonu dışında diğer kategorilerde aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bunu takiben, 25 adet izolat 3 farklı kategoride, 59 adet izolat 2 farklı kategoride, 67 adet izolat sadece 1 kategoride aktivite gösterirken, 21 adet izolat hiçbir kategoride etkinlik gösterememiştir.

Karakterizasyon sonuçlarına göre elde edilen TDP'na göre antagonizm testlerine tabi tutulan en başarılı ilk 30 izolatın 15 tanesinin gram (+) ve 15 tanesinin gram (-) olduğu kaydedilmiştir.



Şekil 2. EB izolatların karakterizasyon testleri. **a:** Azot fiksasyon testi, **b:** Fosfat çözme aktivitesi, **c:** ACC-d aktivitesinin, **d:** IAA üretimi, **e:** Siderefor üretimi, **f:** *in-vitro* antagonistik etki testleri.

### 3.2. Tanılama

Karakterizasyon ve antagonizm çalışmaları sonucunda seçilen V40K2, V30Y3, V30G2, 31Y4 ve V33K2 kodlu izolatların moleküler tanılaması yapılmış ve NCBI GenBank veri tabanına yüklenerek kabul numaraları alınmıştır. Veri tabanı kullanılarak yapılan karşılaştırmalı veri analiz sonucunda 16s rRNA dizi analizine göre bu izolatlardan V40K2 kodlu izolatın *Bacillus velezensis* (Acces. Num.: MN186863), V30Y3 kodlu izolatın *Bacillus megaterium* (Acces. Num.: MN187955), V30G2 kodlu izolatın *Pseudomonas caspiana* (Acces. Num.: MN128080), V31Y4 kodlu izolatın *Pantoea sp.* (Acces. Num.: MT249279) ve V33K2 kodlu izolatın *Bacillus sp.* (Acces. Num.: MT249109) türlerine en yakın olduğu tespit edilmiştir.

### 4. Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda yapılan çalışmalar PGPR'ların bitki sağlığına ve gelişimine katkı sağlayan yeni yollar veya metabolitler ürettiğini ortaya koymaktadır (Van Loon, 2007; Pieterse ve ark., 2014.). Bitkilerde oluşan etki mekanizmasında bakteri, bitki ve çevre kombinasyonunda hangi faktörün daha belirleyici ve etkili olduğunu tespit etmek çok güçtür. Kesin bulguları ortaya koymak bitki, bakteri ve hedef biyotik veya abiyotik stres koşullarını bir araya getirmek ile mümkün olabilir. En iyimser bakışla, PGPR'ların toprak mikroflorasının yaklaşık %2-5'ini oluşturabileceği belirtilmiştir (Antoun ve Prévost, 2006). Bu mikroflora içerisinde aranan uygun kombinasyonu bulma şansının daha düşük olacağını söylemek yanlış olmayacaktır. En etkin bakteriyi bulmak için yapılacak bakteri-bitki etkileşim denemeleri çok fazla zaman ve emek gerektirecek bir süreçtir. Bu nedenle belirli karakterlerin *in-vitro* koşullarda belirlenmesi ve en başarılı izolatların veya aranan karakterlere sahip olanların bitki denemelerine aktarılması sıklıkla başvurulan bir metottur. Genel olarak markör olarak seçilen karakterler; bizim de çalışmamızda seçmiş olduğumuz IAA gibi bitki hormonlarının üretimi, etilen stresini azaltabilen ACC deaminaz üretimi, demir ve fosfor alımında rol oynayan siderofor üretimi ve fosfatı çözme yeteneği gibi özelliklerdir. Ayrıca patojenlere karşı kullanım amacı var ise *in-vitro* antagonistik testler ön plana çıkmaktadır. *In-vitro* koşullarda yapılan ön seçimin dezavantajı ise seçilen markör karakterlere sahip olmayan fakat bitkiye bilinen veya bilinmeyen diğer yollar veya metabolitler ile katkı sunabilecek izolatların elenme riskinin olmasıdır. Fakat zaman, işgücü ve maliyet düşünüldüğünde bu dezavantaj genellikle göz ardı edilmektedir.

Araştırmacılar endofitik ve rizosferik bakterilerin bitki gelişimine ve sağlığına katkı sağlamaları için IAA (Khalid ve ark., 2004) ve ACC deaminaz üretim yeteneklerinin gerekli olabileceğini ve markör olarak kullanılacaklarını belirtmişlerdir (Etesami ve ark., 2015). Bu özelliklere sahip izolatların, bitkilere kolonizasyon şanslarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Etesami ve ark., 2015). Araştırmacılar IAA üretiminin bakterilerin bitkilerle etkileşimlerini sağlayabileceğini (Etesami ve ark., 2015) ve bu bakterilerin bitkide endofit yaşam formuna girmelerinde rolünün olabileceğini bildirmiştir (Verma ve ark., 2001). Gül ve ark. (2013), topraksız tarım yetiştiriciliğinde PGPR uygulaması ile hıyarlarda verim artışı elde etmiş ve bu izolatların *in-vitro* koşullarda ürettiği IAA düzeyi ile verim artışı arasında önemli düzeyde bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalara paralel olarak Akköprü ve Özaktan (2018), yüksek düzeyde IAA üreten *P. putida* AA11/1'nin farklı hıyar çeşitlerinde %33-68 oranında verim artışı sağladığını belirlemişlerdir.

Araştırmacılar bitkiler ile birlikte bulunan bakterilerin %80'inin IAA ürettiğini tahmin etmektedir (Patten ve Glick, 2002; Spaepen ve ark., 2007). Calvo ve ark. (2010), patates rizosferinden elde ettiği 63 izolatın %81'inin, Ashrafuzzaman et al. (2009), pirinç rizosferinden izole edilen bakterilerin %60'nun IAA ürettiğini tespit etmiştir. Fakat izolatların ürettiği IAA düzeyi farklılık gösterebilir ve üretim miktarı PGPR etkide önemli bir faktördür. Poonguzhali ve ark. (2008), *Brassica campestris* rizosferinden izole ettiği PGPR izolatlarının 6.02-27.75 ppm aralığında IAA ürettiğini belirlemiştir. Majeed ve ark. (2015), buğdaydan izole ettiği rizosferik ve endofitik bakterilerin 0.27 ppm-77.98 ppm aralığında IAA ürettiğini ortaya koymuştur. Yürüttüğümüz çalışma kapsamında izole edilen EB'lerin %53.3'ünün 1 - 25.03 ppm aralığında IAA ürettiği belirlenmiştir.

Bilindiği gibi, etilen üretimi, stres altındaki bitkilerde artmaktadır, bu da hücre bölünmesini, DNA sentezini ve kök/filiz büyümesi gibi fizyolojik fonksiyonları engellemektedir. PGPR etilenin öncüsü olan ACC'yi ACC-d ile parçalayarak kendisi için azot kaynağı olarak kullanabilir. Bu da bitkide üretimi artan etilenin dengelenmesini sağlayarak olası zararları engeller ve bitki gelişimine yardımcı olur (Glick, 2014). Bu nedenle EB seçiminde ACC-d üretimi önemli bir markördür. Belimov ve ark. (2001), çeşitli toprak örneklerinden izole edilmiş olan ACC-d üretim kabiliyetindeki bakterilerin özellikle olumsuz çevresel koşullar altında bitki gelişimine önemli katkı sunduğunu göstermiştir. Diğer taraftan *in-vitro* ve moleküler testler ile ACC-d aktivitesi belirlenmiş izolatların normal koşullar ve stres altındaki bitkilerin gelişimini arttırdığı ve bu etkinin ACC-d aktivitesinden kaynaklandığı ortaya konmuştur (Onofre-Lemus ve ark., 2009; Gupta ve Pandey, 2019). Putri ve ark. (2015), incelediği bakteri izolatlarından, kullanılan tekniğe göre değişmekle birlikte, %17'sinin ACC-d üretme kabiliyetinde olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, çalışmamızda elde ettiğimiz izolatların %13.9'nün ACC-d üretme yeteneğinde olduğu tespit edilmiştir.

Fosfor noksanlığı tarımsal üretimin temel sınırlayıcı faktörlerinden birisidir (Israr ve ark., 2016). Bitkiler, fosforu ortofosfat anyonları olarak toprak çözeltisinden alırlar. Fakat ortofosfat çok reaktif olduğu için çökme veya adsorpsiyon yoluyla toprak yapılarına bağlanabilir. Bu da fosfatı çözünmez hale getirir ve bitkiler bu formdan faydalanamaz (Holečková ve ark., 2017). PGPR ürettikleri mikrobiyal metabolitler veya organik asitler ile pH'yı düşürerek kullanılamaz formdaki fosfatı bitki tarafından alınabilir forma dönüştürebilirler (Gupta ve Pandey, 2019). Çetinkaya Yıldız ve Aysan (2014), 39 farklı toprak örneğinden izole ettikleri 499 adet aday PGPR izolatının %15'inin fosfataz aktivitesine sahip olduğunu bildirmiştir. Benzer birçok çalışma endofit ve rizosferik bakterilerde fosfat çözme aktivitesinin varlığını ortaya koymaktadır (Ahmad ve ark., 2008; Özaktan ve ark., 2015). Fosfat çözme yeteneğinin bakteri cinsleri arasında yaygınlık derecesi farklılık gösterebilmektedir. Çalışmamızdaki EB izolatlarının %20'sinin farklı düzeylerde de olsa bu yeteneğe sahip olduğu gözlenmiştir. Bu izolatların %47'sinin gram (+), %53'ünün gram (-) olduğu belirlenmiştir. Ahmad ve ark., (2008), farklı rizosferik toprak ve bitki kök nodüllerinden izole ettiği 72 PGPR izolatından; *Bacillus* sp.'ye ait olanların %80'i, *Azotobacter* sp.'ye ait olanların %74.47'si, *Pseudomonas* sp.'ye ait olanların %55.56'sı ve *Mesorhizobium* sp.'ye ait olanların %16.67'sinin fosfat çözme yeteneğine sahip olduğunu belirlemiştir.

Siderofor üretme yeteneği, mikroorganizmaların ortamdaki diğer mikroorganizmalarla rekabet etmelerinde önemli katkı sağlayan, bitki-bakteri iletişimini kolaylaştıran ve kök kolonizasyonuna yardımcı olan özelliklerden birisidir (Loaces ve ark., 2011). İyi bir siderofor üretim yeteneğine sahip PGPR bakterileri bitki gelişimi ve verimini direkt veya indirekt olarak arttırabilirler. Rizosfer çevresinde çözünmez formdaki demirin alınımını kolaylaştırarak doğrudan veya fitopatojenlerin ihtiyaç duydukları demir için yüksek afiniteli sideroforlarla rekabete girerek gelişimlerini sınırlandırmasıyla dolaylı olarak katkı sağlayabilirler (Glick, 2015; Kumar ve ark., 2018). Bazı çalışmalar siderofor üretiminin



bakterilerin bitkinin demir dışında nikel, kurşun veya çinko gibi diğer metaller ile olan etkileşiminde rol oynadığını ve fitoremediasyonda önemli görevler üstlendiğini belirtmişlerdir (Burd ve ark., 2000; Crowley 2000; Kumar ve ark., 2018). Ayrıca siderofor üretiminin bitkinin uyarılmış dayanıklılık sistemini aktive ettiği de bilinmektedir (Van Loon, 2007). Bu nedenle siderofor üretim kabiliyeti PGPR için önemli bir karakterdir. Çalışmamızda toplanan izolatların %75'inin siderofor üretimine sahip oldukları belirlenmiştir. Siderofor aktivitesi gösteren 135 adet izolatın 0.5 -7 mm aralığında zon oluşturabildikleri tespit edilmiştir. Ahmad ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada, inceledikleri izolatlar içerisinde *Azotobacter* cinsine ait olanların %12.77'sinin siderofor ürettiğini, bunu sırasıyla *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinslerinin takip ettiğini ortaya koymuştur. Aynı çalışmada anti fungal aktivitenin de benzer yönde olduğu; *Azotobacter* izolatlarının %12.77'sinin, *Pseudomonas* izolatlarının %11.11'inin ve *Bacillus* izolatlarının %10'unun bu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Antagonizm çalışmamızda, en az bir patojene karşı engelleme zonu oluşturan 17 adet bakteri izolatı belirlenmiştir. Bunlardan 1 izolat dışında hepsinin siderofor aktivitesi göstermesi dikkat çekicidir. Ahmad ve ark. (2008) ve Priyanka ve ark. (2017), çalışmalarında antifungal etki ile siderofor üretiminin güçlü bir ilişkisi olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte antagonistik faaliyetlerden antibiyotikler, toksinler, yüzey aktif bileşikler ve hücre dışı sindirim enzimleri gibi çeşitli mekanizmalar sorumlu olabilir (de Souza ve ark. 2003). Mohamad ve ark. (2018), inceledikleri 114 EB izolatın %49.1'inin çeşitli bakterilere karşı 8.6 mm ile 11.8 mm arasında zon oluşturarak patojen bakterilerin gelişimlerini sınırladığını belirlemiştir. *Arabidopsis thaliana*'daki hastalık belirtilerini azaltmada en etkili olan izolatın patojen ile birlikte *in-vitro* koşullarda geliştirildiğinde antimikrobiyal etkileri olan en az 13 bileşik ürettiği belirlenmiştir. Ayrıca bu izolatların antimikrobiyal bileşikleri kodladığı bilinen poliketid sentaz (PKS) ve ribozomal olmayan protein genlerine sahip olmalarının yanı sıra, kitinazlar, selülozlar, lipazlar ve proteazlar dahil olmak üzere çeşitli hücre dışı sindirim enzimleri ürettikleri de belirlenmiştir.

Karakterizasyon çalışmaları sonucunda en başarılı bulunan beş adet izolatın 16s rRNA bölgesi dizi analizi ile tanılaması yapılmış ve bu izolatların *Bacillus velezensis* V40K2 (MN186863), *Bacillus megaterium* V30Y3 (MN187955), *Pseudomonas caspiana* V30G2 (MN128080), *Pantoea* sp. V31Y4 (MT249279) ve *Bacillus* sp. V33K2 (MT249109) olduğu belirlenmiştir. Birçok çalışma da bu cinslerin PGPR ve biyokontrol özellikleri ortaya konmuştur (Chakraborty ve ark., 2006; Gao ve ark., 2017; Rashid ve ark., 2017; Akköprü ve Özaktan, 2018). Bilindiği üzere bu izolatlar geniş bir ekolojik yelpazede yayılım göstermektedir. Buda onların yüksek adaptasyon yeteneklerinin olduğuna ve tarımsal uygulama bakımında büyük avantajlara sahip olduğunu göstermektedir. Böylece izlenen yolun potansiyeli yüksek, aday PGPR'ın elde edilmesi için uygun olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında çeşitli kültür bitkilerinden izole edilen endofitik bakterilerin karakterizasyon çalışması sonucunda bitki gelişimine ve sağlığına katkı sağlama potansiyeline sahip bazı EB izolatları tespit edilmiştir. Yapılan moleküler tanılama testlerinden elde ettiğimiz sonuçların mevcut literatür çalışmaları ile karşılaştırılması bu kanıyı güçlendirmiştir. Özellikle *Bacillus megaterium* V30Y3 ile *Pseudomonas caspiana* V30G2 izolatlarının çalışmadaki tüm patojenlere karşı antagonistik etki göstermesi ve birçok PGPR belirteciye sahip olması, bunun ile birlikte *Bacillus* sp. V33K2 (MT249109) ve *Pantoea* sp. V31Y4 (MT249279) PGPR markör özellikleri bakımından yüksek puan alması hedefler doğrultusunda çeşitli konukçularda bitki sağlığı ve gelişimine katkı sunma potansiyelinin olduğu görülmektedir. Bu izolatlar ile ileride yapılacak *in-vivo* denemeler ve tarla çalışmaları ile etkinliklerinin tam olarak ortaya konulabilmesi mümkün olacaktır. Fakat başarı potansiyeli yüksek, nispeten az sayıda izolat ile çalışılacak olması, zaman ve iş gücü tasarrufunun yanı sıra başarı şansını da arttırmış olacaktır.

## Kaynakça

- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*, 163, 173–181.
- Akbari, G. A., Arab, S. M., Alikhani, H. A., Allakdadi, I., & Arzanesh, M. H. (2007). Isolation and selection of indigenous *Azospirillum* spp. and the IAA of superior strains effects on wheat roots. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3, 523-529.
- Akköprü, A. (2012). *Hıyar Bakteriyele Köşeli Yaprak Leke Hastalığının (Pseudomonas syringae pv. lachrymans) Bazı Kök Bakterileriyle Biyolojik Savaşımı Üzerinde Araştırmalar*. (PhD), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.

- Akköprü, A., & Özaktan, H. (2018). Identification of rhizobacteria that increase yield and plant tolerance against angular leaf spot disease in cucumber. *Plant Protection Science*, 54, 67–73.
- Antoun, H., & Prévost, D. (2006). Ecology of Plant Growth Promoting. IN: Z. A. Siddiqui. (Eds) *PGPR: Biocontrol and Biofertilization* (pp 1-39). Netherlands: Springer.
- Ashrafuzzaman, M., Hossen, F. A., Ismail, M. R., Hoque, A., Islam, M. Z., Shahidullah, S. M., & Meon, S. (2009). Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology*, 8, 1247-1252.
- Azevedo, J. L., Maccheroni Jr, W., Pereira, J. O., & de Araújo, W. L. (2000). Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, 3, 15-16.
- Babier, Y. (2019). *Van gölü havzasından izole edilen endofit bakterilerin karakterizasyonu ve in vitro koşullarda bazı bitki patojeni bakterilere karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi*. (MSc), Van YYÜ, Fen bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye.
- Baker, G. C., Smith, J. J., & Cowan, D. A. (2003). Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods*, 55, 541- 555.
- Belimov, A. A., Safronova, V. I., Sergeeva, T. A., Egorova, T. N., Matveyeva, V. A., Tsyganov, V. E., Borisov, A. Y., Tikhonovich, I. A., Kluge, C., Preisfeld, A., Dietz, K. J., & Stepanok, V. V. (2001). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Canadian Journal of Microbiology*, 47, 642-52.
- Burd, G. I., Dixon, D. G., & Glick, B. R. (2000). Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Canadian Journal of Microbiology*, 46, 237-245,
- Calvo, P., Ormeño-Orrillo, E., Martínez-Romero, E., & Zúñiga, D. (2010). Characterization of *Bacillus* isolates of potato rhizosphere from Andean soils of Peru and their potential PGPR characteristics. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 899-906.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B., & Basnet, M. (2006). Plant growth promotion and induction of resistance in *Camellia sinensis* by *Bacillus megaterium*. *Journal of Basic Microbiology*, 46, 186-195.
- Crowley, D. (2000). Function of Siderophores in the Plant Rhizosphere. In: Willig S, Varanin Zi, Nannipieri P.(ed) *The Rhizosphere Biochemistry and Organic Substance at the Soil-Plant Interface*. CRC Press.
- Çetinkaya Yıldız, R., & Aysan, Y. (2014). Domates bakteriyel solgunluk hastalığının bitki büyüme düzenleyici kökbakterileri ile biyolojik mücadelesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Der.*, 5, 9-22.
- de Souza, J. T., de Boer, M., de Waard, P., van Beek, T. A., & Raaijmakers, J. M. (2003). Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. *App. Environ. Microbiol.*, 69, 7161–7172.
- Döbereiner, J., Day, J. M., & Dart, P. J. (1972). Nitrogenase activity and oxygen sensitivity of the *Paspalum notatum*-*Azotobacter paspali* association. *Microbiology*, 71, 103-116.
- Etesami, H., Alikhani, H. A., & Mirseyed Hosseini, H. (2015). Indole-3-Acetic Acid and 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase: Bacterial Traits Required in Rhizosphere, Rhizoplane and/or Endophytic Competence by Beneficial Bacteria. In: Maheshwari D. (eds) *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem. Sustainable Development and Biodiversity*, vol 12. (pp.183–258). Springer, Cham
- Gao, Z., Zhang, B., Liu, H., Han, J., & Zhang, Y. (2017). Identification of endophytic *Bacillus velezensis* ZSY-1 strain and antifungal activity of its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, 105, 27-39.
- Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169, 30– 39.
- Glick, B. R. (2015). Biocontrol mechanisms. In: Glick, B. R. (Eds) *Beneficial plant-bacterial interactions* (pp. 123–157). Springer, New York.
- Gupta, S. & Pandey, S. (2019). ACC Deaminase Producing Bacteria with Multifarious Plant Growth Promoting Traits Alleviates Salinity Stress in French Bean (*Phaseolus vulgaris*) Plants. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1506.
- Gül, A., Özaktan, H., Kıdoğlu, F., & Tüzel, Y. (2013): Rhizobacteria promoted yield of cucumber plants grown in perlite under Fusarium wilt stress. *Scientia Horticulturae*, 153, 22–25.

- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F., & Kloepper, J. W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43, 895-914.
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., & van Elsas, J. D. (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology*, 16, 463-471.
- Hardoim, P. R. (2011). *Bacterial endophytes of rice: their diversity, characteristics and perspectives*. (PhD), University of Groningen, Mathematics and Natural Sciences, Netherlands.
- Holečková, Z., Kulhánek, M., & Balík, J. (2017). Use of Active Microorganisms in Crop Production—A Review. *Journal of Food Process Technology*, 8, 696.
- Israr, D., Mustafa, G., Khan, K. S., Shahzad, M., Ahmad N, & Masood, S. (2016). Interactive effects of phosphorus and *Pseudomonas putida* on chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth, nutrient uptake, antioxidant enzymes and organic acids exudation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 108, 304-312
- Khalid, A., Arshad M., & Zahir Z.A. (2004). Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiology*, 96, 473-480.
- Kumar, P., Thakur, S., Dhingra, G. K., Singh, A., Pal, M. K., Harshvardhan, K., Dubey, R. C., & Maheshwari, D. K. (2018). Inoculation of siderophore producing rhizobacteria and their consortium for growth enhancement of wheat plant. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 15, 264-269.
- Loaces, I., Ferrando, L. & Fernández Scavino, A. (2011). Dynamics, Diversity and Function of Endophytic Siderophore-Producing Bacteria in Rice. *Microbial Ecology*, 61, 606-618.
- Louden, B. C., Haarmann, D., & Lynne, A. M. (2011). Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology & Biology Education*, 12, 51-53.
- Majeed, A., Abbasi, M. K., Hameed, S., Imran, A., & Rahim, N. (2015). Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion. *Frontiers in Microbiology*, 6, 198.
- Mercado-Blanco, J., & Lugtenberg, B. J. J. (2014). Biotechnological Applications of Bacterial Endophytes. *Current Biotechnology*, 3, 60-75.
- Mohamad, O., Li, L., Ma, J. B., Hatab, S., Xu, L., Guo, J. W., Rasulov, B. A., Liu, Y. H., Hedlund, B. P., & Li, W. J. (2018). Evaluation of the Antimicrobial Activity of Endophytic Bacterial Populations From Chinese Traditional Medicinal Plant Licorice and Characterization of the Bioactive Secondary Metabolites Produced by *Bacillus atropheus* Against *Verticillium dahliae*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 924.
- Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170(1), 265-270.
- Newton, C. R. (1995). PCR: Essential data. *John Wiley & Sons*, Chichester, UK.
- Onofre-Lemus, J., Hernández-Lucas, I., Girard, L., & Caballero-Mellado, J. (2009). ACC (1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate) Deaminase Activity, a Widespread Trait in *Burkholderia* Species, and Its Growth-Promoting Effect on Tomato Plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 6581- 6590.
- Özaktan, H., Gül, A., Çakir, B., Yolageldi, L., & Akköprü, A. (2015). *Bakteriyel Endofitlerin Hıyar Yetiştiriciliğinde Biyogübre ve Biyopestisit Olarak Kullanılma Olanakları*. Tubitak-COST 1110505 no'lu Proje kesin raporu.
- Patten, C.L., & Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system, *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 3795-3801.
- Penrose, D. M., & Glick, B. R. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118, 10-15.
- Pieterse, C. M. J., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C. M., & Bakker P. A. H. M. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology*, 52, 347-375.
- Poonguzhali, S., Madhaiyan, M., & Sa, T. (2008). Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria from Chinese cabbage and their effect on growth and phosphorus utilization of plants. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, 773-777.
- Priyanka, Agrawal, T., Kotasthane, A. S., Kosharia, A., Kushwah, R., Zaidi, N. W., & Singh, U. S. (2017). Crop specific plant growth promoting effects of ACCd enzyme and siderophore producing and corynetogenic fluorescent *Pseudomonas*. *3 Biotech*, 7, 27-38.

- Putri, A. Z., Sasongko, D., & Susilowati, D. N. (2015). Screening of rhizosphere bacteria from rice fields in the coastal area as ACC-deaminase and auxin producer. *International Journal on Advanced Science*, 5, 27-30.
- Rashid, M., Khan, A., Hossain, M. T., & Chung, Y. R. (2017). Induction of systemic resistance against aphids by endophytic *Bacillus velezensis* YC7010 via expressing PHYTOALEXIN DEFICIENT4 in arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 8, 211.
- Rosenblueth, M., & Martínez-Romero, E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19, 827–837.
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., & Dowling, D. N. (2008). Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters*, 278, 1-9.
- Saharan, B., & Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, 2011, 1-30.
- Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (2001). Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. *American Phytopathological Society*, USA.
- Schwyn, B., & Neilands, J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160, 47-56.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31, 425-448.
- Surette, M. A., Sturz, A. V., Lada, R. R., & Nowak, J. (2003). Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. *sativus*): their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth. *Plant and Soil*, 253, 381-390.
- Turhan, Ş. (2005). Tarımda sürdürülebilirlik ve organik tarım. *Tarım Ekonomisi Dergisi*, 11, 13-24.
- Van Loon, L. C. (2007). Plant responses to plant growthpromoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119, 243–254.
- Verma, S. C. Ladha, J. K., & Tripathi, A. K. (2001). Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *Journal of Biotechnology*, 91, 127–141.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

**Effect of Freezing and Drying Methods on Some Biochemical Properties of Prickly Fig (*Opuntia ficus-indica*) Fruit**

**Meltem ÇAKMAK<sup>1</sup>, Büşra BAKAR<sup>2</sup>, Muhammad Salihu IBRAHİM<sup>3</sup>, Dursun ÖZER<sup>4</sup>,  
Fikret KARATAS\*<sup>5</sup>, Sinan SAYDAM<sup>6</sup>**

<sup>1,2,4</sup>Chemical Engineering Department, Faculty of Engineering, Fırat University, 23119 Elazığ, Turkey.

<sup>3,5,6</sup>Chemistry Department, Faculty of Science, Fırat University, Elazığ, Turkey.

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-6291-863X> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-7793-1119> <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-7535-4140>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0002-7225-8903> <sup>5</sup><https://orcid.org/0000-0002-0884-027X> <sup>6</sup><https://orcid.org/0000-0003-1531-5454>

\*Corresponding author e-mail: [fkartas@firat.edu.tr](mailto:fkartas@firat.edu.tr).

**Article Info**

Received: 16.02.2020

Accepted: 06.08.2020

Online Published 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.689862

**Keywords**

Antioxidant capacity,  
Conservation methods,  
Glutathione,  
*Opuntia ficus-indica*,  
Phenolic substances.

**Abstract:** In this study, the fruit of *Opuntia ficus-indica* was examined in the fresh, frozen, sun and in microwave dried samples. In fresh *Opuntia ficus-indica* samples, the total phenolic and flavonoid content was found to be 3.30 µg GAE/g DW and 1.46 µg QE/g DW, whereas in sun-dried samples found to be 2.60 µg GAE/g DW and 0.56 µg QE/g DW respectively. TEAC and IC<sub>50</sub> are indicators of antioxidant capacity, and in fresh fruits TEAC and IC<sub>50</sub> found to be 66.91 µmol Trolox/g DW and 45.95 mg ml<sup>-1</sup>, while 39.01 µmol Trolox/g DW and 57.36 mg ml<sup>-1</sup> in sun-drying, respectively (p<0.05). While the amount of ghrelin, GSH, GSSG and MDA in fresh prickly fig were found to be 19.20; 372; 20.85; 3.00 µg/g DW, on the other hand in sun-dried samples were found to be 9.90; 210.00; 33.60; 4.78 µg/g DW, respectively. In addition, ghrelin and GSH in dried fruits decreased while GSSG and MDA increased in comparison to fresh sample (p<0.05). It can be concluded that the fruit of *Opuntia ficus-indica* is rich in ghrelin and GSH. The most suitable preservation techniques for *Opuntia ficus-indica* fruits is freezing to consume it in all season and microwave drying appears to be more advantageous than sun-dried in terms of time.

**Dondurma ve Kurutma Yöntemlerinin Dikenli İncir (*Opuntia ficus-indica*) Meyvesinin Bazı Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi**

**Makale Bilgileri**

Geliş: 16.02.2020

Kabul: 06.08.2020

Online Yayınlanma 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.689862

**Anahtar kelimeler**

Antioksidan kapasite,  
Değerlendirme yöntemleri,  
Glutatyon,  
*Opuntia ficus-indica*,  
Fenolik maddeler.

**Öz:** Bu çalışmada, dikenli incir (*Opuntia ficus-indica*) meyvesi taze, dondurulmuş, güneş ve mikrodalga ile kurutularak incelenmiştir. Taze *Opuntia ficus-indica* örneklerinde toplam fenolik ve flavonoid madde içeriği sırasıyla 3.30 µg GAE/g KM ve 1.46 µg QE/g KM bulunurken, güneşte kurutulmuş örneklerde ise 2.60 µg GAE/g KM ve 0.56 µg QE/g KM olarak bulunmuştur. Antioksidan kapasitenin göstergesi olan TEAC ve IC<sub>50</sub> değerleri taze meyvelerde sırasıyla 66.91 µmol Trolox/g KM ve 45.95 mg/mL iken, güneşte kurutulmuş örneklerde ise 39.01 µmol Trolox/g KM ve 57.36 mg ml<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur (p<0.05). Taze dikenli incirdeki grelin, GSH, GSSG ve MDA miktarları sırasıyla 19.20; 372; 20.85; 3.00 µg/g KM iken, güneşte kurutulmuş örneklerde ise 9.90; 210.00; 33.60; 4.78 µg/g KM olarak bulunmuştur. Ayrıca, kurutulmuş meyvelerdeki grelin ve GSH miktarı azalırken, GSSG ve MDA miktarları artmıştır (p<0.05). Dikenli incir meyvesinin grelin ve GSH açısından zengin olduğu, bu meyvelerin tüm mevsimlerde faydalanılabilmesi için en uygun koruma metodu, dondurarak

saklamaktır. Mikroalga ile kurutma, zaman açısından güneşte kurutma yöntemine göre daha avantajlı görünmektedir

## 1. Introduction

*Opuntia ficus-indica* is important in terms of nutrient values such as ascorbic acid, potassium, phosphorus, magnesium, sodium, calcium glutamine, proline, taurin, amino acids, phenolic substances, and antioxidants. It is also reported that it has a positive effect on health due to the richness of high antioxidant activity and phenolic substances (El-Mostafa et al., 2014). The antioxidants in *Opuntia ficus-indica* show anticancer, anti-inflammatory, hypoglycemic, hypolipidemic and hypocholesterolemic properties (Bensadón et al., 2010). *Opuntia ficus-indica*, fruits, and stems have been used in folk medicine for different medicinal purposes. *Opuntia ficus-indica* has been reported to be useful in the treatment of many chronic diseases (Osuna-Martínez et al., 2014). It has been proved that non-nutritive components such as active antioxidant and phytochemicals contained in the fruit of *Opuntia ficus-indica*, against oxidative stress have been found protective effects in rats (Livrea and Tesoriere, 2006).

Phenolic compounds found as secondary metabolites in plants consist of different compounds such as complex flavonoids, simple flavonoids, phenolic acids and anthocyanins (Babbar et al., 2014). Flavonoids constitute the largest group of phenolic compounds in the plant. They are among the substances responsible for the coloring of fruits and vegetables. Flavonoids are very important in the function of some enzymes. These substances were found to have anti-oxidative, anti-inflammatory, anti-cancer and anti-mutagenic properties (Panche et al., 2016).

Ghrelin is a peptide hormone that stimulate growth hormone release from the pituitary gland. It has affected on the brain to regulate the modulation of glucose metabolism. It has been proved that ghrelin, which is a hormone found in animals can also be found in various plants and fruits (Aydin et al., 2006).

The protective effects of *Opuntia ficus-indica* against oxidative damage can be explained by the presence of various antioxidants such as vitamins C, and E, carotenoids, reduced glutathione, flavonoids, and phenolic acids (Stintzing et al., 2001). Oxidized glutathione, is an indicator of oxidative stress, inhibits the protein synthesis in cells, while reduced glutathione has many physiological functions, such as reducing the toxicity of xenobiotics, transport of amino acids and act as co-enzymes in some enzymatic reactions. (Mendoza-Cózatl et al., 2005). Reactive carbon compounds are formed as a result of lipid peroxidation and malondialdehyde (MDA) is the indicator of this process (Gawel et al., 2004).

*Opuntia ficus-indica* is a seasonal fruit; to be able to consume it all year around different preservation methods applied (Fadda and Mulas, 2010). Preservation techniques have a profound effect on the nutritional value and medicinal benefits of the fruits. Although drying in the sun is widely used methods, they can also be dried in ovens, drying tunnels and under vacuum as well. Microwave drying is a relatively new technique to be investigated for many foodstuffs. The drying temperature, drying time, light intensity and humidity are important factors on the nutritional content of fruits (Maisnam et al., 2016).

In our previous work, water and oil-soluble vitamins with some elements in *Opuntia ficus-indica* fruits have been studied (Bakar et al. 2020). The purpose of this study to investigate the effect of processing methods such as freezing and drying on total phenolic, flavonoid content, antioxidant capacity, ghrelin, glutathione, malondialdehyde content of prickly pear fruit.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Materials

Ripe *Opuntia ficus-indica* (k17533923) fruits were harvested from Osmaniye province (GPS location: 37.272707, 36.122754), in August, 2018. Samples collected were identified by Faculty of Science, Department of Biology, at Firat University. Fruit samples were collected from different parts of the region for a good sampling. The prickles of the collected samples were cleared. Five samples of the cleaned fruit samples were randomly taken into each storage bag secured. The fresh fruit samples were analyzed as soon as the fruits were collected, while sun and microwave-dried samples with frozen

samples were analyzed after ten days of drying. Frozen samples were kept at -20 °C until assayed. Chemicals and equipment used by Bakar et al (2020), were also used in this study.

## 2.2. Microwave and sun drying

Drying processes were carried out according to the processes applied by Bakar et al. (2020)

## 2.3. Extraction of *Opuntia ficus-indica* fruit

The prickly pear fruits samples were homogenized in a blender and 15.0 gram of homogenized samples were Soxhlet extracted with 300 mL of methanol (1:20 g ml<sup>-1</sup>) for four hours. The solvent was removed at 40 °C in a vacuum rotary evaporator. The weighed solid extract was dissolved in 50 mL of methanol. This solution was stored at 4 °C in the refrigerator until analyzed.

## 2.4. Determination of total phenolic content

The spectrophotometer was used to determine the total phenolic content according to the Folin-Ciocalteu method modified by Dewanto et al. (2002). 0.50 mL of distilled water, 0.250 mL of sample or Gallic acid and 0.125 mL of Folin-Ciocalteu reagent were mixed and shaken. After 6 minutes, 1.250 mL of 7 % sodium carbonate solution was added and the total volume completed to 3.00 mL with distilled water. After 90 minutes, the absorption was measured at 760 nm by a UV-Visible spectrophotometer. A working graph of Gallic acid solutions prepared at different concentrations was established. The total phenolic content of the samples was determined and the results were given as µg Gallic acid per g dry weight sample (µg GAE/g DW).

## 2.5. Determination of total flavonoid

The total flavonoid substance was determined by UV-visible spectrophotometer as described by Dewanto et al. (2002) 0.025 mL sample or quercetin, 1.250 mL distilled water and 0.075 mL 5% sodium nitrite solution, 0.150 mL 10% solution of aluminum chloride were mixed in a glass tube and allowed to stand for 5 minutes then 0.500 mL 1.0 M sodium hydroxide solution was added and total volume was completed to 2.500 mL with distilled water followed by measurement of absorbance at 510 nm. A working graph was formed with quercetin solutions prepared in different concentrations. The total phenolic content of the samples was determined using the working graph and the results were given as µg QE/g DW.

## 2.6. Total antioxidant capacity

Total antioxidant capacity was determined by two different methods DPPH and TEAC.

### 2.6.1. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method

The antioxidant capacity was measured according to the method based on the scavenging activities of the stable 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical as described by Nile et al. (2013). A solution of 25 µg ml<sup>-1</sup> DPPH in methyl alcohol was prepared, and the absorption of DPPH solution was measured at 510 nm. Then different amount of the sample extracts was added to DPPH solution and kept in dark for 30 minutes before measurement of absorbance at 510 nm. The percentage of DPPH scavenging effect was calculated using the following equation (1):

$$\text{DPPH Scavenging effects (\%)} \text{ or } \text{Percent Inhibition} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \cdot 100 \quad (1)$$

A<sub>0</sub> is the absorbance of the sample free DPPH solution, and A<sub>1</sub> is the absorbance of the sample containing DPPH solution after 30 minutes. The results of DPPH were given as IC<sub>50</sub> (µg ml<sup>-1</sup>). The IC<sub>50</sub>

values indicates the concentration of the antioxidant substance which inhibits 50% of the DPPH radical in the medium. Low IC<sub>50</sub> values indicate high antioxidant activity.

### 2.6.2. TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

The ABTS free radical-scavenging activity was determined according to the method described by Re et al., (1999). The stock solutions including 7.0 mM ABTS solution and 2.4 mM potassium persulfate allowed to stand in the dark at room temperature for 12–16 h. The ABTS<sup>•+</sup> solution was diluted with phosphate buffer (pH=7.4) to obtain an absorbance of 0.800 ± 0.010 at 734 nm. Then 20 µL of the sample or Trolox standard was added to 2.0 mL ABTS<sup>•+</sup> solution and allowed to stand at room temperature for 15 minutes then absorption was measured at 734 nm. Previously prepared ABTS<sup>•+</sup> solution used as the control group. All measurements were performed in four parallel for every sample. The percentage inhibition of ABTS<sup>•+</sup> was calculated the formula given below (2):

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A_{C(0)} - A_{A(t)})}{A_{C(0)}} \cdot 100 \quad (2)$$

where A<sub>C(0)</sub> is the absorbance of the control at t=0 minute, and A<sub>A(t)</sub> is the absorbance of the (Trolox + ABTS<sup>•+</sup>) or (Sample + ABTS<sup>•+</sup>) at t=15 minute. The free radical scavenging capacity of the sample was calculated as percent inhibition of ABTS<sup>•+</sup>. The standard calibration curve was generated using Trolox concentration of 1.0-4.0 µg ml<sup>-1</sup>. The antioxidant capacity of the sample was calculated as Trolox equivalent as µmol Trolox/g DW.

### 2.7. Determination of ghrelin, glutathione, and MDA

From each sample of *Opuntia ficus-indica*, 2.0 g of homogenized sample was weighed and 1.00 mL of 0.50 M perchloric acid was added to each homogenate to precipitate proteins then incubated for 10 minutes in the sonicator. Each sample was made up to 6.0 mL with distilled water and vortexed then centrifuged for 5 minutes at 6000 rpm. The supernatant was filtered off (Whatman No 1) and taken into 1.0 mL of HPLC vials to determine the ghrelin, glutathione (reduced and oxidized) and MDA levels. Ghrelin, glutathione, and MDA were determined according to the method of Ibrahim et al. (2017), by HPLC (Exsil column 100-5 ODS 25 cm, 4.6 mm ID, 5 µm), the mobile phase (pH=4.0) consisted of 50 mM NaClO<sub>4</sub> in 1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> with a flow rate of 1.0 mL/minute. Ghrelin and glutathione were determined at 215 nm and MDA at 254 nm respectively.

### 2.8. Statistical Analysis

Statistical analysis was carried out on four different samples in parallel. A pc computer was used for variance analysis and LSD multiple comparison test was performed at p<0.05 level.

## 3. Results and Discussion

The total phenolic and flavonoids content with total antioxidant capacity, glutathione, ghrelin and stress biomarkers were investigated. The results are given in Figures 1-3. Phenolic compounds happened to be the most known secondary metabolites found in plants and their distribution is seen throughout the metabolic processes. These phenolic substances consist of different kinds of compounds that include: complex flavonoids, simple flavonoids, phenolic acids and anthocyanins (Babbar et al., 2014).

The total phenolic content in prickly pear samples found to be in between 2.60±0.15 to 3.30±0.25 µg GAE /g DW (Figure 1). According to the obtained results, the highest amount of phenolic substance was seen in fresh samples, then frozen and in microwave dried samples while the lowest amount was observed in the sun-dried sample. The results indicate that drying processes significantly decrease of phenolic content in the fruit samples (p<0.05).



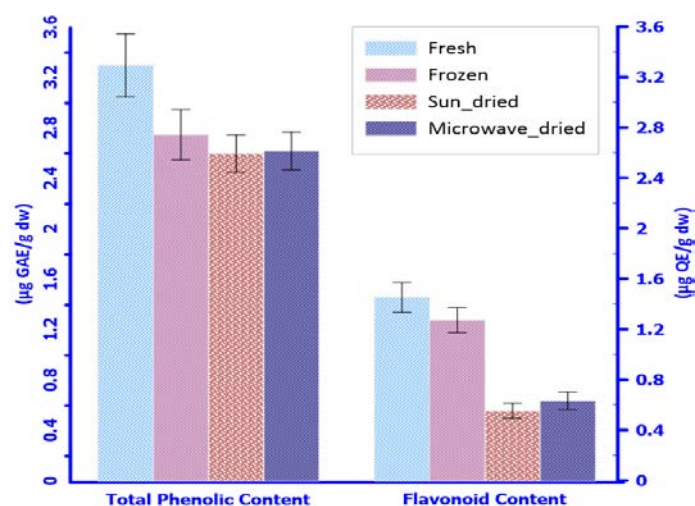


Figure 1. Total phenolic and flavonoid content in fresh, frozen, sun and microwave dried *Opuntia ficus-indica* fruits.

In the study conducted by Patil et al. (2019), the phenolic content of prickly pears was found as 42.454 mg GAE/100g in 50% methanol extract and 38.736 mg of GAE/100g in the water extract.

In the study conducted by Cha et al. (2013), the content of total phenolic and flavonoids in *Opuntia humifusa* reported to be 125.10 µg GAE/g and 48.90 µg CE g<sup>-1</sup>, respectively. It has been reported that the total phenolic content in different seeds, fruits and vegetables varies between 169-1048 mg/100g DW (Velioğlu et al., 1998). There are different studies on the effect of drying on phenolic content in fruits. In some studies, they reported that drying process caused a decrease in the total phenolic content (Zanoelo et al., 2006; Meral, 2017) on the other hand a study conducted by Carranza-Concha et al., (2012) reported that the total phenolic content was increased as a result of drying. Because of the heat treatment, some phenolic compounds are converted and some are released to medium. Therefore, it can be said that the drying process on different products does not have the same effect on the total phenolic content (Miletic et al., 2013).

Fruits and vegetables can be consumed either fresh or processed. Flavonoids content in fruits and vegetables may be affected by different preservation methods including drying (Kamiloglu et al., 2015). In this study, the flavonoid content in fresh, frozen, sun-dried and microwave dried samples were found to be 1.46±0.12, 1.28±0.10, 0.56±0.06 and 0.64±0.07 µg QE/g DW respectively (Figure 1). The highest amount was observed in the fresh samples followed by frozen, microwave dried then sun dried samples.

In a study by Hahm et al. (2015), the total flavonoid in the fruit of *Opuntia ficus-indica* was reported to be 1.91±0.29 mg QE/g DM. It has been reported that flavonoid amounts have been decreased as a result of freezing and drying of fresh vegetables and fruits (Kamiloglu et al., 2015). When the fruits are subjected to various preservation processes the total flavonoid content might decrease as a result of some interactions in their structure. Some phenolic components and antioxidant substances are destroyed and reduced by heat treatment. Generally, it is expected that antioxidant activity and total phenolic content will decrease with heat treatment.

Two different methods, DPPH and TEAC, were used to determine the antioxidant capacity of the samples in this work. While calculating IC<sub>50</sub> values in the DPPH method, Trolox equivalent was calculated in TEAC method. The IC<sub>50</sub> value refers to the concentration of the antioxidant substance which inhibits 50% of the DPPH radical in the medium. The antioxidant capacity is inversely proportional to IC<sub>50</sub> value. The IC<sub>50</sub> recorded from our work in fresh, frozen, sun and microwave dried *Opuntia ficus-indica* fruit sample were 45.95±2.24, 50.24±2.84, 57.36±2.11 and 52.12±3.10 µg ml<sup>-1</sup> respectively (Figure 2). In the study conducted by Cha et al. (2013), they found the radical scavenging activity (DPPH) of methanol extract of *Opuntia humifusa* as 72.5%. Surinrut et al. (2005), found that IC<sub>50</sub> values of mangosteen, orange, pomelo, grape and papaya fruits ranged from 11.18 to 32.80 mg ml<sup>-1</sup>. In another study, Reynertson et al. (2005), reported that IC<sub>50</sub> values between 15.9-247 mg ml<sup>-1</sup> in

seven different fruits of the Myrtle family. TEAC method is widely used in determining the antioxidant capacity of food samples due to easy of application in both aqueous and lipid phases.

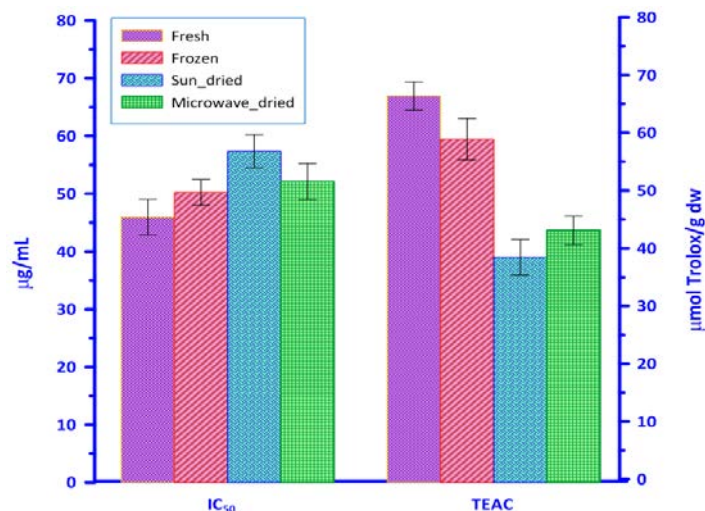


Figure 2. Total antioxidant capacity (TEAC and IC<sub>50</sub> value) in fresh, frozen, sun and microwave dried *Opuntia ficus-indica* fruits

In this study, free radical scavenging activity (TEAC) of the fresh, frozen, sun and microwave-dried *Opuntia ficus-indica* fruit samples were found to be  $66.91 \pm 3.58$ ,  $59.47 \pm 3.10$ ,  $39.01 \pm 2.45$  and  $43.67 \pm 2.46$   $\mu\text{mol Trolox/g DW}$ , respectively (Figure 2). Su et al. (2007) found that antioxidant activity level of 80% methanol extracts of rosehip fruit was  $190 \pm 4.81$   $\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$ . The trolox equivalent antioxidant capacities of fruit samples were found to be lower than that of rosehip fruit. As seen in Figure 2, the antioxidant capacity decreased as a result of drying processes. Experimental findings indicate that the changes in IC<sub>50</sub> and TEAC values as a result of drying are statistically significant ( $p < 0.05$ ). The experimental result showed that the heat treatment decreases the total antioxidant capacity due to the decrease in the total phenolic, flavonoids and antioxidant vitamins in the fruits (Miletic et al., 2013).

Ghrelin, is also called growth hormone, present in the peptide structure can be affected by applied heat treatments. This study showed that the ghrelin content in fresh, frozen, sun and microwave dried fruit samples found to be  $19.20 \pm 1.40$ ,  $18.80 \pm 1.31$ ,  $9.90 \pm 0.74$ , and  $10.10 \pm 0.79$   $\mu\text{g/g DW}$ , respectively (Figure 3). The higher amount of ghrelin was observed in the fresh samples followed by frozen and microwave then sun-dried samples ( $p < 0.05$ ). It was reported by İbrahim et al., (2017), that the amount of ghrelin in *Crataegus laevigata* fruits in different regions was found between  $18.96 \pm 6.73$  and  $79.96 \pm 12.14$   $\mu\text{g g}^{-1}$ .

Glutathione, which is necessary for the immune system of the cells, has a peptide structure is the most important intracellular antioxidant molecule, also involve in the transport of amino acids in metabolism and reduction of sulfhydryl groups in proteins (Mendoza-Cózatl et al., 2005). In this study, the amount of GSH in fresh, frozen, sun and microwave dried samples of *Opuntia ficus-indica* fruit was found to be  $372 \pm 31.90$ ,  $344 \pm 28.80$ ,  $210.00 \pm 15.00$  and  $235.00 \pm 17.00$   $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectively. The amounts of GSSG in the same samples were  $20.85 \pm 1.24$ ,  $21.70 \pm 1.85$ ,  $33.60 \pm 1.80$  and  $31.20 \pm 1.64$   $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectively. While the amount of GSH decreased as a result of drying processes, the amount of GSSG increased ( $p < 0.05$ ) (Figure 3). Tesoriere et al. (2005) reported that the amounts of GSH in three different cultures of prickly pears were found to be in between 3.40 to 8.10 mg/100 g.

Both glutathione and ghrelin are known as peptides. Preservation methods applied to foods can significantly affect the biological activity of peptides. Ultrasound, heat, and irradiation processing might affect protein structure and functions. In addition, these processes may cause Millard reactions in food (Davis et al., 2001). As a result of the factors mentioned above, might leads to changes in the amount of peptides.

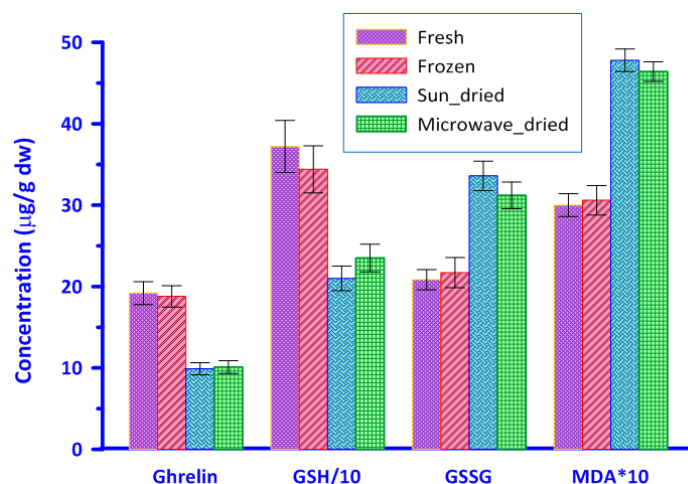


Figure 3. Ghrelin, GSH, GSSG and MDA content in fresh, frozen, sun and microwave dried *Opuntia ficus-indica* fruits (GSH values divided by 10, MDA values multiplied by 10).

Free radicals cause lipid peroxidation by affecting the unsaturated fatty acids in the membranes and MDA forms as a result of lipid peroxidation (Gawel et al., 2004). In this study, the MDA content in fresh, frozen, sun and microwave dried *Opuntia ficus-indica* samples was found to be  $3.00 \pm 0.14$ ,  $3.06 \pm 0.18$ ,  $4.78 \pm 0.14$ , and  $4.64 \pm 0.12 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectively. The amount of MDA was found to be the highest in the sun-dried samples, while it was the lowest in fresh samples ( $p < 0.05$ ) (Figure 3). The amount of MDA in ripe ber (*Ziziphus mauritiana Lam*) fruit was found to be  $4.498 \text{ nmol/g}$  (Kumar et al., 2011). It has been reported that the amount of MDA is increased in microwave and infrared dried apricot samples (Karatas and Kamisli, 2007).

The GSH/GSSG ratio and MDA are used as stress biomarkers. The stress is inversely proportional to the ratio of GSH/GSSG and is proportional to the amount of MDA. GSH/GSSG ratios of fresh, frozen, sun and microwave-dried fruits were calculated as 17.84, 15.85, 6.25 and 7.53 respectively. The increase in the amount of MDA in fruits and the decrease in the GSH/GSSG ratio indicate that oxidative stress occurs by drying processes. It can be said from these results that, preservation methods applied cause stress on the fruits.

## Conclusion

The total phenolic, flavonoids and antioxidant capacity in fresh and frozen *Opuntia ficus-indica* fruit were higher than the amounts in the sun and microwave dried fruits. In addition, the amount of ghrelin and reduced glutathione in dried fruits decreased while the amount of oxidized glutathione and malondialdehyde increased. These results suggest that the best preservation methods for *Opuntia ficus-indica* fruit are freezing. In addition, microwave drying seems more advantageous than drying under the sun in terms of drying time.

## References

- Aydin, S., Geckil, H., Zengin, F., Özer, H.I., Karatas, F., Aydin, S., Turgut-Balik, D., Ozkan, Y., Dagli, F., & Celik, V. (2006). Ghrelin in plants: What is the function of an appetite hormone in plants? *Peptides*. 27(7), 1597-1602.
- Babbar, N., Oberoi, H.S., Sandhu, S.K., & Bhargav, V.K. (2014). Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. *J Food Sci Technol*. 51, 2568–2575.
- Bakar, B., Çakmak, M., Ibrahim, M.S., Özer, D., Saydam, S., & Karatas, F. (2020), Investigation of amounts of vitamins, lycopene, and elements in the fruits of *Opuntia ficus-indica* subjected to different pretreatments. *Biol Trace Elem Res*.
- Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S.G., & Goñi, I. (2010). Byproducts of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant Foods Hum Nutr*. 65, 210-216.

- Carranza-Concha, J., Benlloch, M., Camacho, M.M., & Martínez-Navarrete, N. (2012). Effects of drying and pretreatment on the nutritional and functional quality of raisins. *Food Bioprod Process.* 90(2), 243-248.
- Cha, M.N., Jun, H.I., Lee, W.J., Kim, M.J., Kim, M.K., & Kim, Y.S. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of Korean cactus (*Opuntia humifusa*) fruit. *Food Sci Biotechnol* 22(2), 523–529.
- Davis, P.J., Smales, C.M., & James, D.C. (2001). How can thermal processing modify the antigenicity of proteins? *Allergy.* 56, 56–60.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., & Liu, R.H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem.* 50, 3010–3014.
- El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., Kebbaj, M.H.S.E., Latruffe, N., Lizard, G., Nasser, B., & Cherkaoui-Malki, M. (2014). Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as Source of bioactive compounds for nutrition, *Health and Disease, Molecules.* 19(9), 14879-14901.
- Fadda, A. & Mulas, M. (2010), Chemical changes during myrtle (*Myrtus communis* L.) fruit development and ripening. *Sci Horti* (Amsterdam), 125, 477–485.
- Gawel, S., Wardas, M., Niedworok, E., & Wardas, P. (2004). Malondialdehyde as lipid peroxidation marker. *Wiadomosci Lekarskie.* 57 (9-10), 453-455.
- Hahm, S.W., Park, J., Oh, S.Y., Lee, C.W., Park, K.Y., Kim, H., & Son, Y.S. (2015). Anticancer properties of extracts from *Opuntia humifusa* against human cervical carcinoma cells. *J Med Food.* 18 (1), 31–44.
- Ibrahim, M.S., Ibrahim, Y.I., Mukhtar, Z.G., & Karatas, F. (2017). Amount of vitamin a, vitamin e, vitamin c, malondialdehyde, glutathione, ghrelin, beta-carotene, lyco-pene in fruits of hawthorn, midland (*Crataegus laevigata*). *J Hum Nutr Food Sci.* 5(3), 1112-1117.
- Kamiloglu, S., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Beekwilder, J., Hall, & R.D., Capanoglu, E. (2015). A review on the effect of drying on antioxidant potential of fruits and vegetables. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 56(1), S110-S129.
- Karatas, F., & Kamisli, F. (2007). Variations of vitamins (A, C and E) and MDA in apricots dried in IR and microwave. *J Food Eng.* 78, 662–668.
- Kumar, S., Yadav, P., Jain, V., & Malhotra, S.P. (2011). Oxidative stress and antioxidative system in ripening ber (*Ziziphus mauritiana* Lam.) fruits. *Food Technol Biotechnol* 49(4), 453-459.
- Livrea, M.A., & Tesoriere, L. (2006). Health benefits and bioactive components of the fruits from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. *J Prof Assoc Cactus.* 8, 73-90.
- Maisnam, D.; Rasane, P.; Dey, A.; Kaur, S. & Sarma, C. (2016). Recent advances in conventional drying of foods. *J Food Technol Pres.*, 1(1), 25-34.
- Mendoza-Cózatl, D., Loza-Tavera, H., Hernández-Navarro, A., & Moreno-Sánchez, R. (2005). Sulfur assimilation and glutathione metabolism under cadmium stress in yeast, photosynthetic protists and plants. *FEMS Microbiol Rev.* 29(4), 653–671.
- Meral, R. (2017). Farklı Sıcaklık Derecelerinin Uşkun Bitkisinin Antioksidan Aktivitesi ve Fenolik Profili Üzerine Etkisi. *YYÜ TAR BİL DERG.* 27(1), 88-94.
- Miletic, N., Mitrovic, O., Popovic, B., Nedovic, V., Zlatkovic, B., & Kandic, M. (2013). Polyphenolic content and antioxidant capacity in fruits of plum (*Prunus Domestica* L.) cultivars “valjevka” and “mildora” as influenced by air drying. *J Food Qual.* 36, 229-237.
- Nile, S.H., Kim, S.H., Ko, E.Y., & Park, S.W. (2013). Polyphenolic Contents and antioxidant properties of different grape (*V. vinifera*, *V. labrusca*, and *V. hybrid*). *Cultivars.* 2013, 1-5.
- Osuna-Martínez, U., Reyes-Esparza, J., & Rodríguez-Fragoso, L. (2014). Cactus (*Opuntia ficus-indica*): A review on its antioxidants properties and potential pharmacological use in chronic diseases. *Nat Prod Chem Res.* 2(6), 1-8.
- Panche, A.N., Diwan, A.D., & Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci.* 5 (47), 1-15.
- Patil, K.V., Dagadkhair, A.C., Bhoite, A.A., & Andhale, R.R. (2019). Physico-functional characteristics of *Opuntia Ficus-indica*. *Int J Food Sci. Nutr.* 4(6), 124-127.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 26, 1231–1237.

- Reynertson, K.A., Basile, M.J., & Kennelly, E.J. (2005). Antioxidant potential of seven Myrtaceous fruits. *Ethnobotany Res Appl.* 3, 25–35.
- Stintzing, F.C., Schieber, A., & Carle, R. (2001). Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Eur Food Res Technol.* 212, 396-407.
- Su, L., Yin, J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J., & Yu, L. (2007). Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chem.* 100, 990-997.
- Surinrut, P., Kaewsutthi, S., & Surakarnkul, R. (2005). *Radical Scavenging Activity in Fruit Extracts*. Proc. WOCMAP III, Vol. 5: Quality, Efficacy, Safety, Processing & Trade in MAPs
- Tesoriere, L., Fazzari, M., Allegra, M., Livrea, M.A. (2005). Biothiols, taurine, and lipid-soluble antioxidants in the edible pulp of Sicilian cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits and changes of bioactive juice components upon industrial processing. *J. Agric. Food Chem.* 53, 7851-7855
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4113-4117.
- Zanoelo, E.F., Cardozo-Filho, L., & Cardozo-Junior, E.L. (2006). Superheated steam drying of mate leaves and effect of drying conditions on the phenol content. *J Food Process Eng* 29(3), 253-268.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

**Farklı Ekolojilerde Yetişen Fındık (*Corylus avellana* L.) Çeşit ve Genotiplerinin Stoma Yoğunluk ve Dağılımlarının Belirlenmesi**

**Haydar HURT<sup>\*1</sup>, Adnan DOĞAN<sup>2</sup>**

<sup>1,2</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 65080, Van, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-4637-1996> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-8623-0629>

\*Sorumlu yazar e-posta: kurthaydar61@gmail.com

**Makale Bilgileri**

Geliş: 18.03.2020  
Kabul: 07.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.705671

**Anahtar kelimeler**

Fındık,  
Stoma,  
Stoma yoğunluğu,  
Stoma indeksi

**Öz:** Bu çalışmada, iki farklı ekoloji olan Trabzon ve Hizan (Bitlis) ilçesinde yetiştirilen 11 fındık çeşidi ve tipinin yapraklarındaki stoma sayıları ve dağılımı incelenmiştir. Stomalar, hipostomatik olarak sadece yaprak alt yüzeyinde gözlenmiştir. Stoma sayısı birim alanda (mm<sup>2</sup>) 90.00 (Turşink) ile 111.60 (Himdi) adet arasında değişim göstermiştir. Çeşitlerin stoma uzunluğu ve genişliği 23.31 (Herişte) - 32.03 (Foşa) ve 19.20 (Cavreş) - 26.78 (Foşa) aralığında belirlenmiştir. Stoma uzunluğu ve genişliği açısından üst değerler Foşa fındık çeşidinde belirlenmiştir. Fındık çeşitleri ve türleri arasında Himdi en yüksek stoma indeksine (%19.43) sahipken Cavreş en düşük stoma indeksine (%13.26) sahiptir. Çeşit ve tiplerin yaprak epidermis hücrelerinin sayısı 462.82 ile 612.46 adet / mm<sup>2</sup> arasında değişim göstermiştir. Stoma sayısı ile stoma uzunluğu (-0.684-0.358) ve stoma genişliği (-0.706-0.856) arasında negatif korelasyonlar bulunmuştur. Bu sonuçlar, fındık çeşitlerinin ve genotiplerinin farklı stoma özelliklerine sahip olduğunu göstermiştir. Fındıklarda stoma yapılarının belirlenmesinde en iyi yöntemin saydamlaştırma yöntemi olduğu gözlemlenmiştir.

**Determination of Stoma Density and Distribution of Hazelnut (*Corylus avellana* L.) Cultivars and Genotypes Grown in Different Ecologies**

**Article Info**

Received: 18.03.2020  
Accepted: 07.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.705671

**Keywords**

Hazelnut,  
Stomata,  
Stomata density,  
Stomata index

**Abstract:** In this study, the numbers and distribution of stomata in the leaves of eleven hazelnut cultivars and types grown in Trabzon and Hizan (Bitlis) district, which are two different ecologies, were examined. Stomata were observed hypostomatically only on the lower leaf surface. The number of stoma in unit area (mm<sup>2</sup>) ranged from 90.00 (Turşink) to 111.60 (Himdi). The stoma length and stoma width of the cultivars were measured in the range of 23.31 (Herişte) - 32.03 (Foşa) and 19.20 (Cavreş) - 26.78 (Foşa). The highest values in terms of stoma length and stoma width were determined in Foşa hazelnut variety. Among the hazelnut cultivars and types, Himdi had the highest stoma index (19.43%), while Cavreş had the lowest stoma index (13.26%). The number of epidermis cells in the leaves of the cultivars and types ranged from 462.82 to 612.46 stoma mm<sup>2</sup>. Negative correlations were found between the number of stoma and stoma length (-0.684-0.358) and stoma width (-0.706-0.856). These results showed the hazelnut varieties and genotypes have different stomata characteristics. It has been observed that the best method for determining the stomata structures in hazelnuts is the method of transparency.

## 1. Giriş

Stoma bitkinin toprak üstündeki organlarının hava alışverişini sağlayan epiderma hücreleri arasında oluşan bir yapıdır. Bitkilerin adapte olma kabiliyetleri yapraklarda meydana gelen transpirasyon ve fotosentez ile ilişkilidir. Stoma olarak adlandırılan küçük gözenekler ile atmosfer ile yaprak arasında su buharı, CO<sub>2</sub>, ve O<sub>2</sub> alışverişini sağlayarak transpirasyon ve fotosentezin oluşumuna etki etmektedir. Su stresi stoma açıklıklarının küçülmesine ya da tamamen kapanmasına neden olarak gaz alışverişini sınırlandırmaktadır. Ayrıca, birim yaprak yüzeyindeki stoma sayısı gaz alışverişini etkilemektedir (Brownlee, 2001).

Stomalar türlere göre yaprağın her iki yüzeyinde (amfistomatik), sadece alt yüzeyinde (hipostomatik) ya da üst yüzeyinde (epistomatik) bulunabilmekte olup bir mm<sup>2</sup> yaprak alanındaki stoma sayısı (stoma yoğunluğu) tür ve çeşitlere göre değişiklik arz etmektedir (Brownlee, 2001; Çağlar ve ark. 2004). Yaprakları tamamen güneşte bulunan bitkilerde stomalar yaprakların alt yüzeylerinde yer alırlar. Stomalar genel olarak epidermisle aynı yüzeyde bulunmaktadır. Stoma üzerine yapılan araştırmalarda, stoma sayısının kuraklığa dayanım (Şahin ve Soylu, 1991; Düzenli ve Ergenoğlu, 1991; Küçükyumruk ve ark., 2015), net fotosentez üretimi (Bierhuizen ve ark., 1984) ve vejetatif gelişme (Çağlar ve Tekin, 1999; Çağlar ve ark., 2004) gibi çeşitli özelliklerle bağlantılı olduğunu farklı araştırmacılar rapor etmektedirler.

Stoma sayısı ve anatomisi bitki türlerine, çeşitlere ve hatta klonlara göre değişebildiği bildirilmektedir (Çağlar ve ark., 2004; Sohie ve ark., 2008). Stoma bitki-su ilişkilerinin düzenlenmesinde önemli role sahip olup su kaybının yaklaşık %85-90'ını stomalardan gerçekleşmektedir (Yentür, 1984). Bu nedenle, stoma anatomisini, sayısını ve yapraklardaki yerini bilmek önemlidir. Stoma anatomisi ve sayısı; elmada, kestane, ceviz, üzüm, kiraz, mahlep ve incir üzerinde çalışmalar yapılmış olmasına rağmen fındıklarda yapılan çalışmalar çok azdır (Avcı ve Aygün, 2014). Stomaların fotosentez, fizyolojik süreçler, terleme, çevresel faktörlere tepkiler gibi süreçler üzerine önemli etkileri bulunmaktadır (Sarwar ve ark., 2013; Aras ve Eşitken, 2019).

Türkiye en büyük fındık üreticisi ve gen merkezleri arasında bulunmaktadır. Ülke olarak Dünya fındık üretim ve ticaretinin yaklaşık %70'ini karşılamaktayız. Türk fındık çeşitleri benzersiz nitelik ve özellikleri nedeniyle ithalatçılar tarafından oldukça rağbet görmektedir. Türkiye orjinli fındık çeşit ve tiplerinin stoma özellikleri üzerine çalışmalara literatürde çok az rastlanılmıştır (Avcı ve Aygün, 2014). Bu çalışmada iki farklı ekolojilerde yetişen (Trabzon ve Bitlis-Hizan) fındık çeşit ve tiplerinin stoma yoğunlukları ve anatomisinin saptanması amaçlanmıştır.

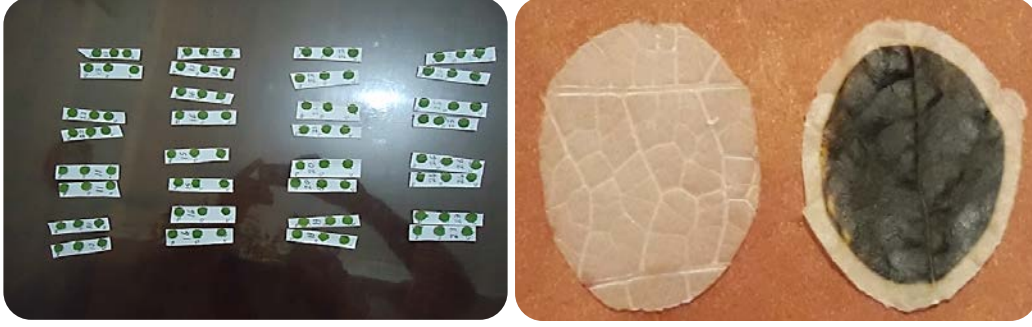
## 2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışma, Trabzon ilinde yetiştirilen Tombul, Foşa çeşitleri ve Giresun genotipi ile Hizan (Bitlis) ilçesinde yetiştirilen 8 farklı fındık genotipi üzerinde 2019 yılında yürütülmüştür. Toplamda 11 fındık çeşit ve genotipi çalışma kapsamında yer almaktadır. Farklı iki ekolojiden alınan fındıklar aynı bahçeden alınmış benzer yetiştirilme düzeylerine sahiptirler. Denemedeki fındıklardan Trabzon'dan seçilmiş olanlar Karadeniz iklimi etkisinde, Hizan (Bitlis)'ten seçilmiş olanlar ise karasal iklimin etkisindedir. Çalışmanın amacı; fındık çeşit ve genotiplerinin yapraklarında kalıp alma ve saydamlaştırma yöntemleri kullanılarak stoma yoğunlukları ve büyüklüklerini, epidermal hücre sayıları ile stoma indeksini belirlemek amaçlanmıştır.

Seçilen fındık çeşit ve genotiplerinde stoma sayım ve ölçümleri için fındık ocaklarının 4 farklı yönünde bulunan dalların yıllık sürgünlerinin uç kısmından itibaren geriye doğru 3. ve 4. yaprakları kullanılmıştır. Yaprak temmuz ayının ikinci yarısında alınmış olup, gözlemler taze yapraklar üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Yaprak örneklerinin ana damarları boyunca alt yüzeyinin sağından ve solundan 2 cm çapında özel bir zımba ile üç farklı kısımdan (dip orta uç kısımlardan) parça alınarak hazırlanan solüsyonun içine üzerine kurşun kalemle yazılabilen muşamba üzerine tel zımba ile zımbalanarak yerleştirilmiştir.

Saydamlaştırma yönteminde %5'lik sodyum hipokloritin içine konulan örnekler oda sıcaklığında (22-23 °C) 24-36 saat bekletilerek istenen düzeyde saydamlaşmanın olması sağlanmıştır (Durmaz, 2014).



Şekil 1. Saydamlaştırma yöntemine ait fotoğraflar.

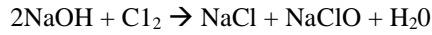
### Saydamlaştırma solüsyonu

Yaprakların dip uç orta kısımlarından alınan örnekler saydamlaştırılmasında sodyum hipokloritin ( $\text{NaClO}$ ) %5 solüsyonu kullanılmıştır. Yapraklardan alınan parçalar solüsyon içerisine muşambaya tel zımba ile zımbalanarak tutturulmuştur. Oda sıcaklığında ( $22-23\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 24-36 saat bu solüsyon içerisinde tutulan örnekler tamamen saydam hale geldikten sonra lam üzerine alınarak Mikroskopta 40x büyütmede kareli oküler mikrometrede kalıptaki stoma adedi belirlenmiştir (Eriş ve Soylu, 1992). Stoma sayısı ve birim alandaki epidermal hücreler ( $1\text{ mm}^2$ ) belirlendi ve stoma indeksi (SI) yüzde olarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Meidner ve Mainsfield, 1969).

$$\text{Stoma indeksi (SI)} = \frac{\text{Birim alandaki stoma sayısı}}{\text{Birim alandaki stoma sayısı} + \text{Birim alan başına epidermal hücre sayısı}} \times 100 \quad (1)$$

### Sodyum hipoklorit

Bir tür tuz olan Sodyum hipoklorit ( $\text{NaClO}$ ) günlük hayatta çamaşır beyazlatıcı olarak kullanılmaktadır. Bu madde oda koşullarında sabunlardaki sodyum hidroksit ve klorun birleşmesi ile üretilmektedir. Sodyum hipoklorit formülü aşağıdaki gibidir:

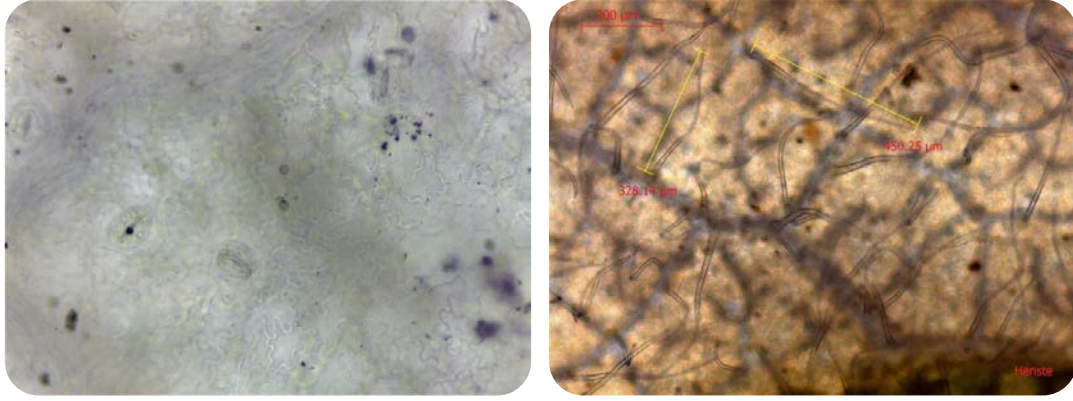


### İstatistiksel analizler

Çalışma üç tekerrürlü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Çalışma her bir çeşit veya genotipten dokuz örnek, toplamda ise 99 örnek üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Statgraphics istatistiksel paket programı kullanılmıştır. Veriler faktöriyel varyans analizine tabi tutulmuş olup gruplar arasında ki istatistiksel farkı ortaya çıkarmak amacıyla LSD ( $P < 0.05$ ) testinden yararlanılmıştır.

Yapraklarda stoma dağılımları Tombul çeşidinin yaprağındaki stoma hücresi ve epidermal hücre yapıları Şekil 2. gösterilmiştir. Yöntem olarak kalıp alma yöntemi kullanılmadığından saydamlaştırma yönteminin tercih edilmesinin nedeni tüm fındık çeşit ve tiplerinin yapraklarında Şekil 2'de görüleceği üzere yüksek tüylülük oranları, fındık yapraklarının gevrek (yırılmaya yatkın) yapıda olması ve yaprak yüzey dalgalanmalarının çok fazla olması nedeni ile kalıp alma yönteminin kullanışlı olmadığına kanaat getirilmiş olup çalışmada saydamlaştırma metodu ile devam edilmiştir.





Şekil 2. Tombul fındık çeşidinin yapraklarındaki stoma ve epidermal hücrelerin ve yaprak tüylülüğünün görünüşü.

### 3. Bulgular ve Tartışma

Yapılan araştırmada fındık çeşit ve genotiplerinde yaprakların üst yüzeyinde stomaya rastlanmamıştır. Fındık yapraklarının sadece alt yüzeyinde stomalar tespit edilmiştir. Üzerinde çalışılan fındık çeşit ve genotiplerinin hipostomatik olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 1. Stoma yoğunlukları ve boyutlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	S.D.	Stoma yoğunluklarına ilişkin varyans analizi		
		K.T.	K.O.	F-Değeri
A: Çeşit-Genotip	10	22805.8	2280.58	88.95 ***
B: Dip / Orta / Uç	2	217.375	31.0535	1.21 Ö.D.
C: Tekerrür	2	190.865	95.4327	4.20 *
Hata	84	1794.67	25.6381	
Toplam	98	24817.8		

Varyasyon Kaynağı	S.D.	Stoma boylarına ilişkin varyans analizi		
		K.T.	K.O.	F-Değeri
A: Çeşit-Genotip	10	620.109	62.0109	7.80 ***
D: Dip / Orta / Uç	2	74.8124	10.6875	1.34 Ö.D.
C: Tekerrür	2	9.34767	4.67384	0,58 Ö.D.
Hata	84	556.675	7.9525	
Toplam	98	1251.6		

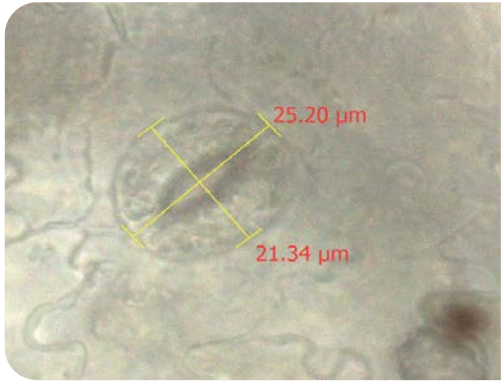
Varyasyon Kaynağı	S.D.	Stoma enlerine ilişkin varyans analizi		
		K.T.	K.O.	F-Değeri
A: Çeşit-Genotip	10	394.774	39.4774	6.34 ***
D: Dip / Orta / Uç	2	50.9725	7.28179	1.17 Ö.D.
C: Tekerrür	2	12,7981	6,39905	1,03 Ö.D.
Hata	84	435.536	6.22194	
Toplam	98	881.283		

\*\*\*: (P<0.001); \*: (P<0.05); Ö.D.: Önemli Değil.

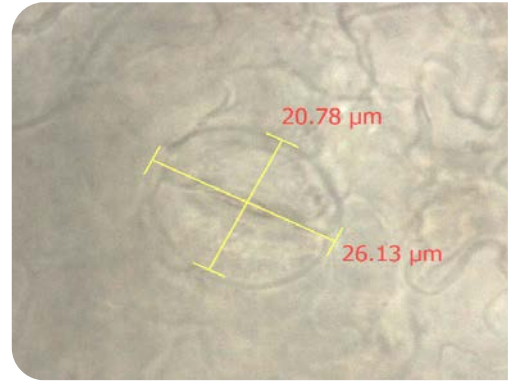
Fındık çeşit ve genotipleri açısından yapraklardaki stoma yoğunluğu, stoma genişliği ve stoma uzunluğu üzerine olan etkileri istatistiki olarak oldukça önemli (P<0.001) bulunmuştur. Yaprak yüzeyinin farklı yerlerinden (dip, orta, uç) örnek alınmanın stoma yoğunluğu, stoma eni ve stoma boyu üzerine etkisinin istatistiki olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. (Çizelge 1).

Üzerinde çalışılan fındık çeşit ve genotiplerinde ortalama stoma sayısı 97.69 mm<sup>2</sup> olarak belirlenmiştir. En yüksek stoma sayısı Himdi genotipinde (111.6 mm<sup>2</sup>) gözlenirken en düşük stoma sayısı Hizan genotipinde (82.8 mm<sup>2</sup>) tespit edilmiştir. En önemli standart fındık çeşidimiz olan Tombul stoma sayısı (99.00 mm<sup>2</sup>) açısından tespit edilen ortalama stoma sayısının üzerinde bir değere sahip olmuştur. Stoma boyu 23.31 (Herişte) - 32.03 (Foşa) µm arasında ve stoma eni 19.20 (Cavreş) - 26.78

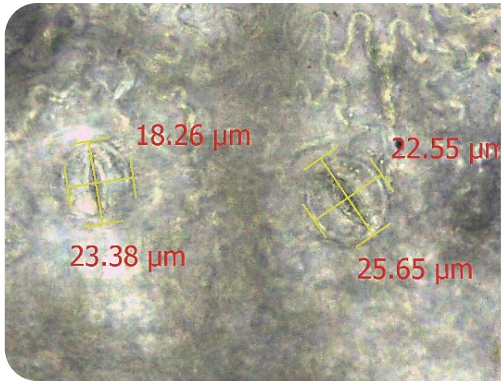
(Foşa)  $\mu\text{m}$  aralığında saptanmıştır. Stoma uzunluğu ve genişliği açısından Foşa fındık çeşidi öne çıkmıştır. İncelenen fındık çeşit ve genotiplerinde stoma yapıları Şekil 3’de sunulmuştur.



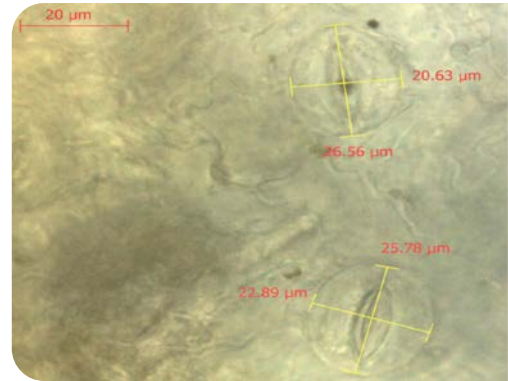
Giresun



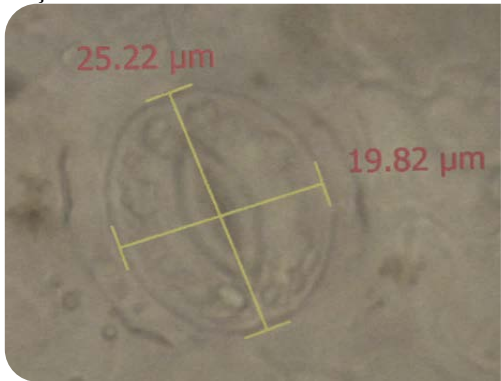
Tombul



Foşa



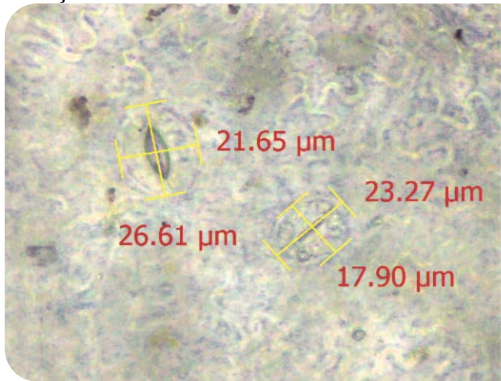
Gevrik



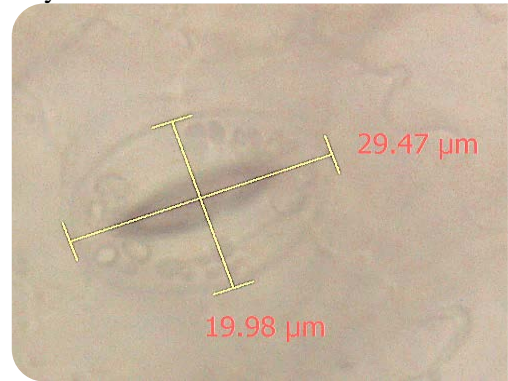
Herište



Beynane

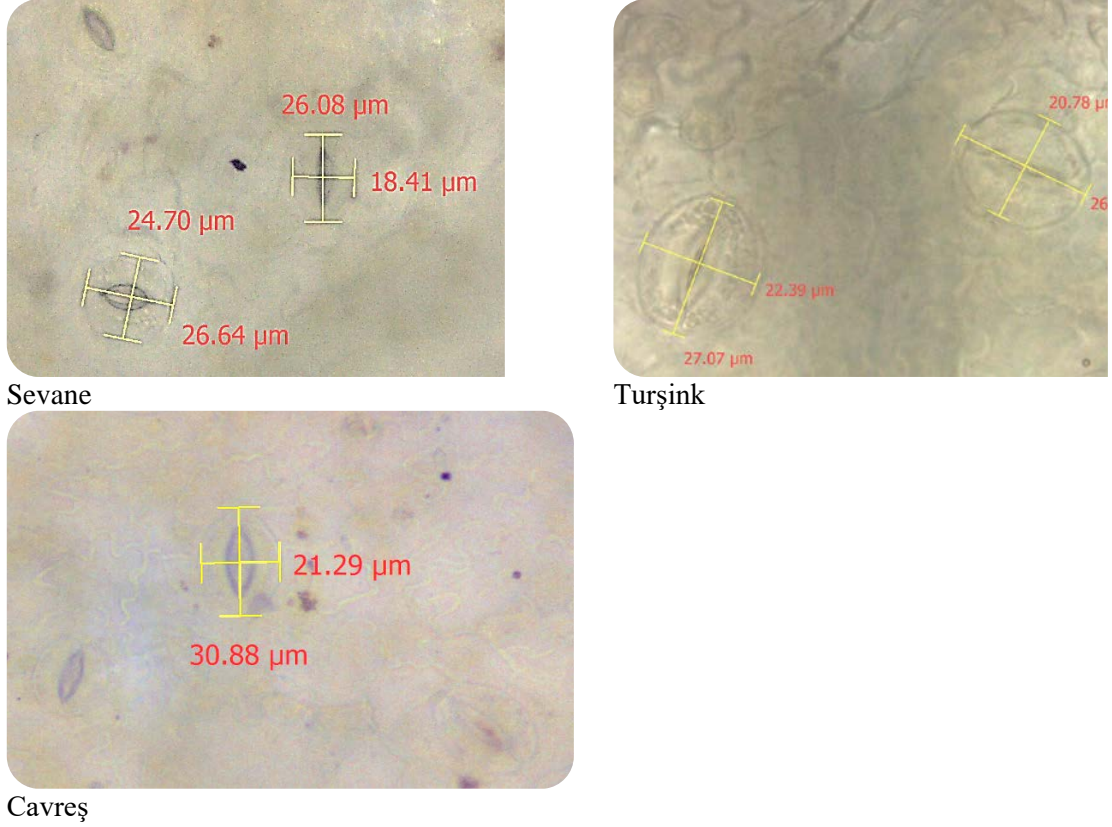


Himdi



Hizan

Şekil 3. İncelenen fındıklardaki stoma görünüşleri.



Şekil 3. İncelenen fındıklardaki stoma görünüşleri (devamı).

Stoma indeksi açısından Himdi (%19.43) çeşidinde ve Cavreş (%13.26) genotipinde üst ve alt değerler olarak saptanmıştır. Epidermis hücre sayısı 462.82-612.46 adet/mm<sup>2</sup> arasında değişiklik göstermiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Fındık çeşit ve genotiplerinde tespit edilen stoma ve epidermal hücre değerleri

Çeşit/Genotip	Stoma Sayısı (mm <sup>2</sup> )		Stoma Genişliği (µm)		Stoma Uzunluğu (µm)		Stoma İndex (%)		Epidermal Hücre sayısı (mm <sup>2</sup> )	
Tombul	99	cd	23.55	b	30.41	ab	15.44	cde	542.24	c
Foşa	97.2	d	26.78	a	32.03	a	17.53	b	457.12	f
Giresun	91.8	ef	22.72	bc	25.19	de	16.29	bcd	471.85	ef
Gevrik	106.2	b	21.01	bcde	25.53	de	18.07	b	481.38	e
Herişte	100.8	c	19.43	de	23.31	e	14.50	def	594.35	b
Beynane	104.4	b	22.08	bcd	30.47	ab	17.10	bc	506.12	d
Himdi	111.6	a	20.41	cde	25.39	de	19.43	a	462.82	f
Hizan	82.8	g	23.31	b	29.67	ab	13.92	efg	512.08	d
Cavreş	93.6	e	19.20	e	27.72	bcd	13.26	g	612.46	a
Sevane	97.2	d	23.81	b	29.22	abc	13.76	fg	609.08	a
Turşink	90	f	21.08	bcde	26.27	cde	14.09	efg	548.60	c
Ortalama	97.69		22.13		27.75		15.76		527.10	

\*: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir LSD (P<0.05).

Avcı ve Aygün, (2014) yapmış oldukları çalışmada, 18 yerli fındık çeşidinde stoma özelliklerini belirlemişlerdir. Stomaların hipostomatik olduklarını gözlemişlerdir. Stoma yoğunluğu 83.08 (Kalınkara) - 117.73 (Sivri) adet/mm<sup>2</sup> aralığında değiştiğini rapor etmektedirler. Stoma uzunluğu 22.00-27.45 µm ve stoma genişliği 17.00-22.61 µm aralığında belirlenmiş olup değerler yapmış olduğumuz çalışmayla paralellik arz etmektedir.

Çağlar ve ark., (2004) yapmış oldukları bir çalışmada araştırdıkları cevizdeki stoma yoğunluğunu (*Juglans regia* L.) 120-217 mm<sup>2</sup> arasında değiştiğini rapor etmektedirler. Mert ve ark.,

(2009), elma çeşitlerinde tespit ettikleri stoma sayısının 344.21-619.36 mm<sup>2</sup> aralığında olduğunu bildirmektedirler. Antepfıstığı çeşitlerinde stoma yoğunluğu üst ve alt yaprak yüzeyinde epidermis 114-151 mm<sup>2</sup> ve 171-221 mm<sup>2</sup> arasında değiştiği rapor edilmektedir (Çağlar ve Tekin, 1999).

Asmalarda stoma yoğunluğu ve boyutlarının gübreleme (Boselli ve Scienza, 1983), fungusit uygulamaları (Sekera, 1983); anaç ve terbiye sistemi (İşçi ve ark., 2015; Atık ve Dardeniz, 2018), çevre koşullarına ve çeşide (Eriş ve Soylu, 1990) göre değişiklik gösterdiği rapor edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre fındık çeşit ve genotiplerde stoma sayısının farklılık göstermesi ve bu farklılığın istatistiki açıdan ( $P < 0.05$ ) önemli olması bitki genetik farklılığının etkisinden kaynaklandığı şekliyle açıklanabilir (Çağlar ve ark., 2004). Genel olarak stoma sayısı türler, çeşitler göre farklılık gösterdiği gibi ekolojik faktörlerin, büyüme koşullarının ve özellikle rakım stoma sayısı üzerine çok önemli bir etkisi bulunmaktadır. Deniz seviyesinden yukarılara çıkıldıkça, rakım arttıkça stomalar artar (Çağlar ve ark., 2004). Benzer şekilde toprakta su eksikliği, bitki besin maddeleri ve ışık yoğunluğuna dayalı koşullar stoma sayısının artmasına neden olabilir. Çalışmamızda Hizan ilçesinde yetiştirilen fındık genotiplerinde belirlenen stoma sayılarının 82.80-111.60 mm<sup>2</sup> olarak belirlenmesi rakımdan ziyade stoma dağılımlarındaki farklılığın kuvvetli olarak bir çeşit özelliği olduğunu ortaya koymaktadır.

Farklı iki bölgeden örneklenen fındık çeşit ve genotiplerinde stoma sayısı ve genişlikleri arasında anlamlı negatif korelasyonlar ( $r = -0.698$  -  $-0.706$ ) Giresun ve Tumbul çeşitlerinden elde edilirken Turşink ve Sevane genotiplerinin pozitif korelasyonlar ( $r = 0.620$ - $0.856$ ) belirlenmiştir tespit edilmiştir (Çizelge 3). Genelde negatif korelasyonlar Trabzon yöresinden örneklenen çeşitlerde bulunurken pozitif korelasyonlar karasal iklimin hüküm sürdüğü 1470 rakımda yetişen genotiplerden elde edilmiştir. Rakım değerleri yüksek olan yörede yetişen fındık genotiplerinde stoma sayısının artması ile birlikte stoma genişliklerinin de artmasına neden olduğu gözlemlenmiştir.

Yaprakları daha büyük stomalar içeren tür ve çeşitler fotosentetik kapasite ve oranın daha yüksek olduğu kaynaklarda rapor edilmektedir (Chandra ve Das, 2000; Çeliktöpus ve ark., 2018). Genel olarak, yapraklardaki stoma yoğunluğu yüksek çeşitlerin stoma genişliklerinin daha dar olduğu bildirilmektedir (Mert ve ark., 2009). Tespit etmiş olduğumuz sonuçlar genel olarak bu ifadeyi destekler niteliktedir.

Stoma yoğunluğu ve stoma genişliklerinin ortalama korelasyon katsayısı  $r = -0.247$  tespit edilirken, stoma yoğunluğu ve stoma uzunluklarının tüm çeşit ve genotiplerinin ortalama korelasyon katsayısı  $r = -0.380$  olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3. Fındık çeşit ve genotiplerinde stoma adedi ile stoma uzunluğu ve stoma genişliği arasındaki korelasyon katsayıları

Çeşit/Genotip	Stoma Sayısı-Stoma Genişliği (r)	Stoma Sayısı-Stoma Uzunluğu (r)
Tumbul	-0.698	-0.684
Foşa	0.154	-0.004
Giresun	-0.706	-0.258
Gevrik	0.391	0.358
Herişte	-0.147	-0.396
Beynane	0.323	-0.458
Himdi	-0.077	-0.170
Hizan	-0.276	-0.030
Cavreş	0.428	0.120
Sevane	0.620	-0.112
Turşink	0.856	0.461
Genel	-0.247	-0.216

Avcı ve Aygün, (2014) fındıkların stoma özellikleri üzerine yapmış oldukları çalışmada stoma sayısı ile stoma boyu arasında ( $-0.407$ ) ve stoma sayısı ile stoma eni arasında ( $-0.380$ ) negatif korelasyon belirlenmişlerdir. İnceledikleri çeşitlerin korelasyon katsayıları  $-0.451$  (Kan) ile  $0.192$  (Uzunmusa) aralığında değişim göstermiş olup yapmış olduğumuz çalışmayla benzer niteliktedir. Stoma yoğunluğu ile stoma büyüklüğü arasında ceviz ve elmada negatif korelasyon olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Çağlar ve ark., 2004; Mert ve ark., 2009). Elma çeşitlerinde stoma yoğunluğu ve büyüklükleri arasındaki korelasyon katsayıları Vista Bella'da  $r = -0.805$ , Fuji'de  $r = -0.860$ ; Granny

Smith'de  $r=-0.205$  ve Mondial'de  $r=0.659$  rapor edilmektedir (Mert ve ark., 2009). Görüldüğü üzere farklı elma çeşitlerinde stoma yoğunluğu ve büyüklükleri hem negatif hem de pozitif korelasyonun bulunduğu bildirilmiş olup çalışmamızda da benzer durum Çizelge 3'de gözlenmektedir.

#### 4. Sonuç

Bu çalışma neticesinde stomanın fındık çeşit ve genotiplerinin yapraklarının alt yüzeyinde bulunduğu (hipostamik) belirlenmiştir. Üzerinde çalışılan 11 farklı fındık çeşit ve genotipinde stoma sayıları açısından istatistiki anlamda farklılık belirlenmiştir. Fındıklarda stoma üzerine Avcı ve Aygün, (2014) çalışması dışında şu ana kadar yapılan çalışmalarda stoma özelliklerinin fotosentez, bitki gelişimi ve verimi bitki su ilişkileri üzerine etkisi hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmada çeşit ve genotipin stoma yoğunluğu üzerine olan etkisinin önemli olduğu ancak yaprak yüzeyinin farklı yerlerinden örnek almanın stoma yoğunluğu üzerine etkisinin önemsiz olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde, çeşit ve genotipin stoma boyutları üzerine olan etkilerinin önemli olduğu ancak yaprağın alınma yerinin ve yaprak yüzeyinin farklı yerlerinden örnek almanın stoma boyutları üzerine olan etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir. Stoma yoğunluğu açısından çeşit ve genotipler arasındaki farklılığın önemli bulunması, stoma yoğunluğunun fındık çeşit ve genotiplerine özgü olduğunu ortaya koymaktadır.

Fındık yapraklarında stomaların bir kısmı yaprak mezofil dokusunun mantar tabakası içinde gömülmüş olarak bulunması, yaprak tüylülüğünün çok fazla olması, yaprakların gevrek yapıda olması, yaprak yüzeyinin pürüzlü ve dalgalı olması nedeniyle fındık yapraklarında daha iyi bir stomatal gözlemlenmenin yapılmasında saydamlaştırma yönteminin kullanılabilir olduğu gözlenmiştir.

Elde edilen bulgulara dayanarak, saydamlaştırma yönteminde yaprakların tam olarak saydamlaşmasının 24-36 saat aldığı, kullanılacak olan piyasada satılan hipoların %17-20 saflıkta bulunduğu unutulmamalıdır. Kaliteli hipo markaların tercih edilmesi ile daha net ve şeffaf saydamlaşmış yüzey elde edilebildiği saptanmıştır.

#### Kaynakça

- Aras, S., & Eşitken, A. (2019). Responses of apple plants to salinity stress. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29(2), 253-257. DOI: 10.29133/yyutbd.494677.
- Atik, F., & Dardeniz, A. (2018). Yalova İncisi üzüm çeşidinde farklı taç yönetimi uygulamalarının yaprakların stoma özellikleri üzerine etkileri. *ÇOMÜ, Ziraat Fakültesi Der*, 6(özel sayı), 33-37.
- Avcı, N., & Aygün, A. (2014). Determination of stomatal density and distribution on leaves of Turkish hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Tarım Bilimleri Dergisi J. of Agricultural Sciences*, 20, 454-459.
- Bierhuizen, J. F., Bierhuizen, J. M. & Martakis, G. F. P. (1984). The effect of light and CO<sub>2</sub> on photosynthesis of various pot plants. *Gartenbauwissenschaft*, 49(5-6), 251-257.
- Boselli, M., & Scienza, A. (1983). Effects of potassium fertilization on density and morphological characteristics of stomata in grapevines. *Vignevini (Bologna)*, 10(1-2), 27-32.
- Brownlee, C. (2001). The long and short of stomatal density signals. *Trends in Plant Science*, 6, 41-442.
- Çağlar, S., & Tekin, H. (1999). Farklı *Pistacia* anaçlarına aşılı antepfıstığı çeşitlerinin stoma yoğunlukları. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(5), 1029-1032.
- Çağlar, S., Sütyemez, M., & Bayazıt, S. (2004). Seçilmiş bazı ceviz (*Juglans Regia*) tiplerinin stoma yoğunlukları. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(2), 169-174.
- Çeliktöpus, E., Kapur, B., Sarıdaş, M., & Paydaş Kargı, S. (2018). Determining the yield and morpho-physiological responses of 'fortuna' strawberry cv. of using different irrigation levels with bio-stimulant application. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(4), 368-374. DOI: 10.29133/yyutbd.426079.
- Chandra, K., & Das, A., K. (2000). Correlation and interaction of physiological parameters in rice under rainfed transplanted condition. *Journal of Research Assam Agriculture University*, 19, 251-254.
- Durmaz, N.E., (2014). *Asma yapraklarında stoma yoğunluğunun saptanmasında saydamlaştırma ve kalıp alma yöntemlerinin karşılaştırılması*. (Yüksek Lisans Tezi, basılmamış). Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Tekirdağ.

- Düzenli, S., & Ergenoğlu, F. (1991). Yüksek terbiye sisteminde değişik şekiller verilmiş ve farklı anaçlar üzerine aşılı bazı *Vitis vinifera* çeşitlerinde stoma yoğunluklarının araştırılması. *Doğa - J. of Agriculture and Forestry*, 15, 308-317.
- Eriş, A., & Soylu, A. (1990). Stomatal density in various Turkish grape cultivars. *Vitis Special Issue*, 382-389.
- İşçi, B., Altındişli, A., & Kaçar, E. (2015). Farklı anaçlar üzerine aşılı farklı üzüm çeşitlerinde stoma dağılımı üzerine araştırmalar. *ÇOMÜ, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3(1), 35-39.
- Küçükyumuk, C., Sarısu, H., Yıldız, H., Kaçal, E., & Koçal, H. (2015). Farklı anaçlar üzerine aşılı 0900 ziraat kiraz çeşidinde su stresinin bazı vejetatif gelişim parametrelerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(2), 180-192 . DOI: 10.29133/yyutbd.236404.
- Meidner, H., & Mansfield, T. A. (1969). *Physiology of stomata*. Mc Graw-Hill, Newyork, USA
- Mert, C., Barut, E., & Uysal, T. (2009). Farklı anaçlar üzerine aşılı elma çeşitlerinin stoma morfolojilerinin araştırılması. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2(2), 61-64.
- Şahin, T., & Soylu, A. (1991). *Seleksiyonla Elde Edilmiş Bazı Kestane Çeşitlerinin Yaprak Morfolojileri ve Stoma Dağılımları Üzerinde Araştırmalar*. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bilimsel Raporlar serisi:10, 20 s.
- Sarwar, A. K. M., Golam Abdul Karim, A., & Masud Rana, S. M. A. (2013). Influence of stomatal characteristics on yield and yield attributes of rice. *Journal of Bangladesh Agricultural University*, 11(1), 47-52.
- Sekera, D., (1983). The effect of fungicides and fungicide combinations on grape leaf stomata size and aperture. *Vinohrad (Bratislava)*, 21, 29-31.
- Sophie, Y. D., Marron, N., Barbra, K., & Reinhart, C. (2008). Genetic variation of stomatal traits and carbon isotope discrimination in two hybrid poplar families (*Populus deltoides* 'S9-2' x *P. nigra* 'Ghoy' and *P. deltoides* 'S9-2' x *P. trichocarpa* 'V24'). *Annals of Botany*, 102, 399-407.
- Yentür, S. (1984). *Bitki Anatomisi*. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları İstanbul, No:191.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Araştırma Makalesi (Research Article)

**The Effects of Hungarian Vetch (*Vicia pannonica* Crantz.) and Triticale (*x Triticosecale* sp. Wittmack) Sown in Different Seed Rates on Feed Value and Ruminant Degradability Characteristics of Nutrients**

Numan KILIÇALP<sup>\*1</sup>, Mahir ÖZKURT<sup>2</sup>, Yaşar KARADAĞ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science, Agricultural Faculty, Gaziosmanpaşa University, 60240 Taşlıçiftlik/Tokat, Turkey

<sup>2,3</sup>Department of Crop Science, Faculty of Applied Sciences, Muş Alparslan University Complex, 49250, Muş/Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-1431-6810> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-0058-3026> <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-0523-9470>

\*Corresponding author e-mail: numankilicalp@hotmail.com

**Article Info**

Received: 11.03.2020

Accepted: 07.08.2020

Online Published: 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.702354

**Keywords**

Hay yield,  
Hungarian vetch,  
Nutritive value,  
Ruminant degradability,  
Triticale.

**Abstract:** The aim of the study was to determine forage yield, forage quality and in situ rumen degradation characteristics of Hungarian vetch (*Vicia pannonica* Crantz.) mixtures with triticale (*x Triticosecale* sp. Wittmack) in different seeding rates (HV, 75:25 HVT, 50:50 HVT, 25:75 HVT and T) during the flowering period of triticale. The research was carried out in the experimental lands of Gaziosmanpaşa University Agricultural Application and Research Center during the 2015-2016 vegetation period. Field experiment was designed as Randomized Block Design with 3 replicates. Besides, three rumen cannulated Karayaka rams (average 3 year old) were used to determine dry matter degradability characteristics of pure and mixtures by using in situ method according to randomized design. The results that biomass and dry matter yield were not different among the groups, whereas the highest crude protein concentration (13.12%) was determined in the pure sown Hungarian vetch ( $P<0.01$ ). In addition, the maximum crude protein yield was obtained from 75:25HVT group. In terms of effective dry matter digestibility, 50:50HVT experimental group, ED2, ED5 and ED8 (720.82, 706.1 and 692.64 g kg<sup>-1</sup>) was found to have the highest dry matter degradability. It was concluded that in case of mixed cultivation of Hungarian vetch and triticale, more digestible dry matter yield and crude protein yield can be obtained compared to pure cultivation.

**Farklı Tohum Oranlarında Ekilen Macar Fiği (*Vicia Pannonica* Crantz.) ve Tritikalenin (*Xtriticosecale Wittmack*) Yem Değeri ve Rumende Parçalanabilirlik Özellikleri Üzerine Etkileri**

**Makale Bilgileri**

Geliş: 11.03.2020

Kabul: 07.08.2020

Online yayınlanma: 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.702354

**Anahtar kelimeler**

Ot verimi,  
Macar fiği,

**Öz:** Bu çalışmanın amacı, tritikale (*x Triticosecale* sp. Wittmack) ile Macar fiğinin (*Vicia pannonica* Crantz.) farklı tohum karışım oranlarının (HV, 75:25 HVT, 50:50HVT, 25:75 HVT ve T.) tritikalenin çiçeklenme dönemindeki ot verimi ve kalitesi ile rumende parçalanabilirlik özelliklerine etkisini belirlemektir. Araştırma, 2015-2016 vejetasyon döneminde Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi deneme sahalarında gerçekleştirilmiştir. Deneme tesadüf blokları deneme deseninde 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Ayrıca, saf ve karışım kuru otların rumende kuru madde parçalanabilirlik özelliklerini belirlemek amacıyla rumenlerine kanül takılmış üç baş Karayaka koçu (50 kg canlı ağırlık ve ortalama 3 yaşında) kullanılmıştır.

Yem değeri,  
Rumende parçalanabilirlik,  
Tiritikale.

Yeşil ot ve kuru madde veriminin gruplar arasında farklı olmadığı, en yüksek ham protein konsantrasyonu (% 13.12) ise saf ekili Macar fiğinde olduğu belirlenmiştir. (P<0.01). Ayrıca, maksimum ham protein verimi 75:25HVT karışım grubundan elde edilmiştir. Etkin kuru madde sindirilebilirliği (ED2, ED5 ve ED8) açısından, en yüksek kuru madde parçalanabilirliğine 50: 50HVT karışım grubunda (720.82, 706.1 ve 692.64 g/kg) bulunmuştur. Sonuç olarak, Macar fiğ ve tritikale karışık ekim durumunda, saf ekime göre daha fazla sindirilebilir kuru madde verimi ve ham protein veriminin elde edilebileceği sonucuna varılmıştır.

## 1. Introduction

The Hungarian vetch (*Vicia pannonica*) is an annual and cool season legume plant that can survive freezing without any damage. It is generally recommended for arid regions, with delicious leaf, forage and crude protein yield (CP) is high (Tuna and Orak, 2007). Due to the weak body of the Hungarian vetch, it easily lies in the growing period and is very difficult to harvest. There are rotting in the lower parts of the plant. For this reason, it is recommended to be mixed with grains and planted. When the vetches are planted mixed with cereals, they grow upright by wrapping them in cereal crops. With mixed cultivation, harvesting becomes easier (Kusvuran et al., 2014). It has been reported by the researchers that the most suitable form of time in the plantings mixed with the wheat crops is 30-36% of the dry matter of the plant mixtures or in the milk stage of wheat (Aksoy and Nursoy, 2010). On the other hand, triticale plant is a hybrid of wheat and rye and has been obtained as a result of long-term improvement studies in many countries. Triticale plants as forage are a great source of energy for ruminant animals (Avellaneda et al., 2009). It is stated that cultivation of triticale together with legumes may increase roughage quality and product amount according to growing triticale alone (Karadag and Buyukburc, 2003). The quality of legume-wheat mixtures as roughage varies depending on seed rates. In this context, Lithourgidis et al. (2006) stated that the common vetch: triticale seed rates were sown as 55:45 and 65:35, Green feed production and crude protein level were found 10.3 ton ha<sup>-1</sup> and 10.9 % respectively. Also, NDF levels were determined to be 40.3 and 45.6%. One of the most important differences between the cereals and legumes is cell wall digestibility of plant fragmentation. Legumes leaves have a faster cell wall digestion rate than cereals. Because higher rates of non-lignified tissues are higher than those of cereals (Paulson et al., 2008). In addition, since there are less lignified tissues in legume leaves, the rate of cell wall digestion is faster than that of cereals. However, the digestibility of wheat grain is higher than that of legumes (Paulson et al., 2008). Although the digestibility of wheat plants has increased for a long time in the rumen, the lignified xylem leguminous walls show minimal digestion over long periods of time (Jung, 2012). Obviously, the complexity of the legume cell wall, how it affects digestion, remains unclear. The objective of this study was to examine in terms of hay production and nutritive value of different seed rates of triticale-Hungarian vetch grown under the Central Black Sea region area in Tokat.

## 2. Materials and Methods

This study was carried out in accordance with the permission of the Local Ethics Committee of the Animal Experiments on 03.08.2015 dated 51879863-113 (HADYEK-38).

### 2.1. Climate and soil characteristics of the research area

A field experiment was carried out in Tokat Gaziosmanpaşa University Agricultural Research Center application area during 2015-2016 vegetation period.

Soil of trial area clayey, fertile and soil salt (2S / cm), pH, lime (%), P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (kg/ha) K<sub>2</sub>O (kg/ha) Organic matter (%) were respectively 0.032, 7.47, 2.42 2.04, 1523.2, 19.8. The data related to the climate characteristics of the trial area are given in (Table 1).

In the study, Aegean white Hungarian vetch (HV) (*Vicia pannonica* Crantz.) variety and Tatlicak- 97 Triticale (T) (x *Triticosecale* sp. Wittmack) variety were used as plant material. The field experiment was designed in a Randomized Complete Block Design with three replications. Seeds of



plant species pure 80 kg ha<sup>-1</sup> Aegean white (Hungarian vetch) and 250 kg ha<sup>-1</sup> Tatlıcak-97 varieties were planted in the last week of October 2015. Experimental groups were sown as pure Hungarian vetch, triticale, 75% Hungarian vetch+25% triticale, 50% Hungarian vetch+50% triticale and 25% Hungarian vetch+75% triticale mixtures. The seeds of triticale, Hungarian vetch and their mixture were sown with 15 markers and 20 cm row spacing. Each plot was 3m x 6m (18 m<sup>2</sup>) and the net research area was 17x23m: 391m<sup>2</sup>. Pure and mixed plants were harvested during the flowering period of triticale. At harvest, plants were left as 2 rows from the edge of each plot and 0.5 m from the plot heads as a side effect and harvested in a net 2.6 x 5 = 13 m<sup>2</sup> area in each plot. Also weed control was done by hand.

Table 1. Climatic characteristics of trial area

Items	March	April	May	June	July	August	Sept.	October	Total
Precipitation (mm)	59.0	34.5	34.8	35.4	0.2	7.6	0.2	55.6	227.3
Long years mean (mm)	57.1	23.6	31.9	48.5	3.8	4.4	19.6	51.8	240.7
Average Temp (°C)	8.1	10.0	16.9	20.0	23.5	24.3	23.2	16.1	17.8
Long years mean (°C)	9.7	13.5	18.0	21.0	24.8	25.6	22.5	15.7	18.9

Sept.: September.

## 2.2. Chemical analysis

The trial plants were harvested as 3 replicates and dried at 70 °C for 48 hours to determine the dry matter (DM) contents. For the chemical analysis of the feed samples milled and passed through a 1 mm sieve. The ash content of the forage samples were found in the muffle furnace at 525 °C for 8 hours. Crude protein content of forage samples was determined by multiplying the total nitrogen amount determined by Kjeldahl method with 6.25 coefficient (AOAC, 2012). Also, NDF and ADF contents of the feed samples were determined by Ankom (Ankom 200 Fiber Analyzer. Ankom tech.) (Van Soest et al., 1991).

## 2.3. Calculation

Net energy lactation (NEL) values of dry herbage samples were calculated by the formulas given below.

$$\text{NEL, Mcal/kg} = 2.0575 - (0.0199 * \text{ADF}) \text{ (legumes)} \quad (1)$$

$$\text{NEL, Mcal/kg} = 2.149 - (0.0223 * \text{ADF}) \text{ (legume and grass mixture)} \quad (2)$$

$$\text{NEL, Mcal/kg} = 2.296 - (0.0257 * \text{ADF}) \text{ (grass)} \quad (3)$$

Equations were used (NRC, 2007).

Digestible dry matter (DDM) of forages were calculated by using this equation

$$\text{DDM} = 88.9 - (0.779 * \text{ADF} \%), \quad (4)$$

Dry matter intake potential (as percent of body weight) (PDMI) was determined by using this equation,

$$\text{PDMI} = 120 / (\text{NDF} \%) \quad (5)$$

Specified by Jaranyama and Garcia (2004).

## 2.4. In situ incubations

DM, OM and NDF degradabilities and degradation characteristics of feed samples were determined by in situ method. Three Karakaya rams (50±0.3 kg live weight, 3 years old) fitted with a ruminal cannula (3.5 cm inner diameter, Diamond Inc.) were employed for the rumen degradability study. Rams were placed into individual compartments three weeks before the trial start to adapt the trial conditions. Rams were fed with a mixture of 70 % alfalfa hay and 30 % grass (8.00 in the morning

and 16.30 in the evening) also minerals and salt. During the trial, fresh and clean water were kept in front of them. Forage samples of trial were ground at a length of 2.5 mm, and 5 g was placed in bags which made of polyester with a pore diameter of 40-50 microns. Digestibility experiment was carried out a completely randomised design with rams as block. Feed samples were put in to the rumen as three replicates for incubations and incubated at 0, 24, 48, 96 hours in the rumen. Ruminant degradability (D) of nutrients (DM, OM and NDF) were calculated by the formula given below.

$$D = \frac{\text{Initial sample weight (g)} - (\text{weight of sample at end of incubation (g)})}{(\text{Initial sample weight (g)} \times 100)} \quad (6)$$

Degradation characteristics of nutrients (DM, OM and NDF) were calculated by Ørskov and McDonald (1979) and Van Soest et al (1991) using the equation,

$$D = a + b(1 - e^{-ct}) \quad (7)$$

Where; D: disappearance rate of nutrients at time *t*. a: the portion of nutrients (DM, OM) solubilized at the beginning of incubation (time 0). b = slowly degraded nutrients (DM, OM and NDF) in the rumen c: rate constant of disappearance of 'b', t = time of incubation, e= the natural logarithm of a number. Degradation characteristics; a, b, c and effective ruminant degradability of DM, OM and NDF were calculated by Van Soest et al (1991). The effective DM and OM degradability were calculated by using equation,

$$ED_{(DM \text{ and } OM)} = a + (bc / c+k) \quad (8)$$

In addition, the effective NDF degradability were calculated by using this equation,

$$ED_{(NDF)} = b + (bc / c+k) \quad (9)$$

Where: k = ruminant out flow rate,  $k_1 = 0.02/h$ ,  $k_2 = 0.05/h$  and  $k_3 = 0.08/h$ , for DM, OM and NDF.

## 2.5. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the GLM procedure of SPSS Software-16 for Windows (SPSS, 2007). As a mathematical model for the effect of pure and mixture groups;

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + e_{ijk} \quad (10)$$

This equality,  $Y_{ijk}$ : Observation value,  $\mu$ : General average,  $a_i$ : Effect of research groups ( $i = 1,2,3,4,5$ ),  $e_{ijk}$ : Used as error value. "Tukey" multiple comparison test was used to determine the difference between research groups. SPSS (2013) package program was used for all operations.

## 3. Results

### 3.1. Biomass yield and dry matter content

Hungarian vetch had the lowest dry matter in the other groups (Table 2). Dry matter increased with increasing triticale ratio in mixtures. The difference between the Hungarian vetch and other groups of dry matter was also statistically significant ( $P < 0.001$ ).

### 3.2. Chemical content of forages

Crude protein concentration was highest in monoculture sown HV and 75:25 HVT mixture in the experimental groups, while the lowest crude protein content was obtained from the pure sowing

triticale (Table 2). Differences in crude protein content were significant among the experimental groups ( $P < 0.01$ ).

It was determined that there was no statistical difference between the experimental groups in terms of ash concentrations. Although, there was no difference among the research groups, the highest ash content was obtained from 25:75 HVT group and at least 75:25 HVT mixture group.

Table 2. Forage yield and chemical composition of pure species and mixtures

Items	Research groups					Mean	SEM	P value
	HV	HV: T	HV:T	HV:T	T			
Seed rates (%)	100	75:25	50:50	25:75	100			
Nutrients (g kg <sup>-1</sup> )								
DM	262.3 <sup>b</sup>	335.1 <sup>a</sup>	336.1 <sup>a</sup>	340.6 <sup>a</sup>	340.3 <sup>a</sup>	322.9	0.88	<0.00***
CP	131.2 <sup>a</sup>	111.3 <sup>a</sup>	100.9 <sup>ab</sup>	90.9 <sup>ab</sup>	52.5 <sup>b</sup>	97.3	0.80	0.004**
Hemicellulose	161.5	157.1	127.2	168.5	155.9	154.0	0.80	0.598
ADF	291.9	297.6	291.7	287.9	317.1	297.2	0.40	0.119
NDF	453.4	454.7	418.8	456.3	473.0	451.3	0.83	0.413
Ash	75.2	68.9	74.2	93.5	65.3	75.4	0.37	0.121
Production (kg ha <sup>-1</sup> )								
Biomass	16.757	22.167	17.820	18.845	16.323	18.382	106.1	0.474
C PY	575.1 <sup>ab</sup>	832.4 <sup>a</sup>	603.2 <sup>ab</sup>	554.3 <sup>ab</sup>	292.2 <sup>b</sup>	571.4	5.63	0.018*

HV: Hungarian vetch, T: Triticale, DM: dry matter, CP: crude protein, ADF: acid detergent fiber, CPY: crude protein yield, SEM: standard error mean, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$

Crude protein yield was significantly influenced by mixture, the highest crude protein yield was obtained from 75:25 HV:T group followed by pure Hungarian vetch and other mixture groups (Table 2). The lowest protein yield was found to be as pure sown triticale group. Differences between the groups were found to be statistically significant ( $P < 0.05$ ).

Table 3. Nutritive values of pure species and mixtures

Items	Research groups					Mean	SEM	P value
	HV	HV: T	HV:T	HV:T	T			
Seed rates (%)	100	75:25	50:50	25:75	100			
DDM (g kg <sup>-1</sup> )	661.6	642.0	657.2	661.0	664.8	657.5	0.31	0.118
DDMY (kg ha <sup>-1</sup> )	2907.6	3550.1	4882.8	3937.8	4222.9	3900.2	25.09	0.084
PDMI (kg % BW <sup>-1</sup> )	2.66	2.87	2.64	2.63	2.63	2.67	0.049	0.188
NE <sub>L</sub> (M.cal kg <sup>-1</sup> )	1.48	1.48	1.51	1.49	1.50	1.49	0.007	0.718

HV: Hungarian vetch, T: Triticale, DDM: digestible dry matter, DDMY: Digestible dry matter yield, PDMI: potential dry matter intake, NE<sub>L</sub>: net energy lactation, SEM: Standard error mean

The highest digestible dry matter value was taken from the HV group, followed by 25:75 HV+T group and the lowest value was in the 75:25 HVT group (Table 3). Although there was no significant difference between the experimental groups in terms of digestible dry matter

Dry matter intake, expressed as a percentage of the body weight of the animals. Although there was no statistically significant difference among the groups in terms of dry matter intake (Table 3) the 75:25 HVT forage group observed the highest intake potential. Potential feed intake tended to decrease with increasing triticale levels in the mixtures. The average NEL was 1.49 Mcal/kg and there were no significant differences between the treatments in terms of NEL values. When the research groups were compared (Table 3).

It was observed that there was no statistical difference between the experimental groups in different incubation periods in terms of dry matter degradability in the rumen (Figure 1).

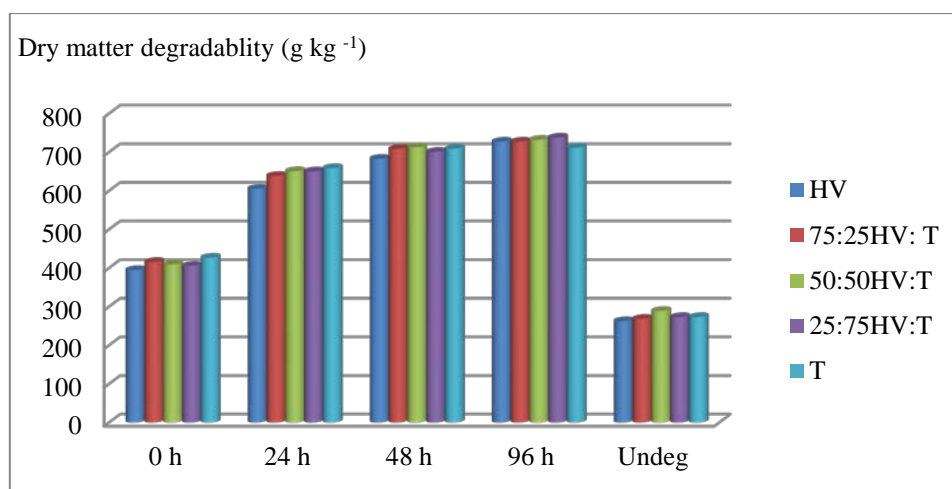


Figure 1. Dry matter degradability of pure and mixed forages in different rumen incubations.

Rumen degradation characteristics as rapidly soluble fraction (a), non-soluble but degradable fraction (b), potential degradable fraction (a+b), degradation rate (c) and rumen out flow rate of pure and mixtures of Hungarian vetch and triticale hay as presented in (Table 4). Easily soluble fraction (a) of dry matter of triticale had the highest solubility value in the other groups. This was followed, 75:25 HVT, 50:50 HVT and 25:75 HVT mixtures groups respectively. But it was found that least solubility of parameter (a) was HV group. It was observed that triticale had more easily soluble dry matter parameter (a) than Hungarian vetch.

Hungarian vetch was above the average value, while the lowest value was in the triticale group. Also, It was determined that there were not any differences among the experimental groups in terms of parameter (b), (a+b) and (c) of DM and OM. Dry matter of triticale had highest ruminant out flow rate (k) in the experimental groups. This was followed 25:75 HVT, 50:50 HVT and 75:25 HVT mixtures. Although, the lowest ruminant out flow rate (k) was determined in the HV group, there was no statistical difference among the experimental groups.

However, the lowest effective dry matter digestibility was determined in the triticale group. The difference between experimental groups was not statistically significant in terms of effective dry matter degradability.

Additionally, it was determined that there was no statistical difference between the experimental groups in terms of degradation characteristics (a, b, a+b, c, ED2, ED5 and ED8) of organic matter.

Although the highest values were obtained from HV pure cultivated group in terms of rumen organic matter degradability characteristics (b, a+b, c, ED2, ED5 and ED8), there were no statistically significant difference between the experimental groups (Table 4).

The degradable fraction b of NDF varied between 448.6 and 707.5 g kg<sup>-1</sup> (Table 4). The difference between experimental groups was statistically significant in terms of degradable fraction (b) ( $P < 0.05$ ). Also, degradation rate (c) of NDF of 25HV:75T was highest value of in the experimental groups ( $P < 0.001$ ).

Effective NDF degradability of 25:75 HVT group in both rumen transition rate ( $k=0.05$ ,  $k=0.08$ ) had the highest value in the experimental groups. There was significant difference among the groups ( $P < 0.05$ ). Also, it was found that there was no difference between the trial groups in terms of undegradable NDF.

Table 4. Dry matter, NDF and OM degradation characteristics of pure and mixture forages

Items	Research groups					Mean	SEM	P value
	HV	HV: T	HV:T	HV:T	T			
Seed rates (%)	100	75:25	50:50	25:75	100			
DM (g kg <sup>-1</sup> )								
a	394.50	415.7	409.0	405.67	426.7	410.31	6.15	0.616
b	332.53	311.33	322.7	318.40	284.8	313.95	13.84	0.891
a+b	727.03	727.03	731.7	737.67	711.5	726.97	16.17	0.994
c (h <sup>-1</sup> )	0.064	0.058	0.060	0.062	0.053	0.059	0.00019	0.387
k (0.02 h <sup>-1</sup> )	0.0687	0.0693	0.069	0.069	0.071	0.069	0.000017	0.994
ED2	716.3	715.96	720.8	713.85	700.08	713.40	17.23	0.998
ED5	701.7	701.0	706.1	699.9	684.86	698.71	16.90	0.998
ED8	688.3	687.4	692.6	687.16	671.27	685.36	16.57	0.997
Undeg	272.97	272.97	268.33	262.33	288.53	273.03	16.16	0.994
NDF (g kg <sup>-1</sup> )								
b	448.6 c	593.5 b	706.0 a	707.5 a	698.5 ab	630.8	34.346	0.035*
c (h <sup>-1</sup> )	0.014 b	0.018 b	0.040 a	0.041 a	0.039 a	0.030	0.003	0.000***
ED5	432.0 b	576.4 ab	697.1 ab	698.8 a	689.2 ab	618.7	34.939	0.027*
ED8	422.7 b	566.7 ab	691.7 a	693.6 a	683.6 a	611.7	35.249	0.024*
Undeg	384.43	268.53	278.07	278.30	284.30	298.73	24.21	0.59
OM (g kg <sup>-1</sup> )								
a	429.70	456.77	446.87	442.57	447.33	444.65	6.44	0.815
b	387.70	305.70	348.90	346.73	366.07	351.02	16.12	0.653
a+b	817.37	762.47	795.77	789.3	813.40	795.66	19.93	0.940
c (h <sup>-1</sup> )	0.0067	0.0053	0.0060	0.0060	0.0062	0.0060	0.0002	0.271
ED5	789.35	733.97	766.62	761.80	785.59	767.47	19.39	0.936
ED8	774.42	719.40	751.45	747.38	770.89	752.71	19.23	0.932

HV: Hungarian vetch, T:Triticale, SEM: standard error mean, \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001.

#### 4. Discussion and Conclusion

Triticale -Hungarian vetch mixtures did not lead to a significant change in biomass yield. However, green herbage production of 75:25 HV + T group; 24% more than Hungarian vetch and 26% more than Triticale. Biomass yields of mixtures were higher than pure sowing yields. Similar results have been reported in Hungarian vetch triticale intercropping by Yıldırım and Özarslan Parlak (2016). Also, Lithourgidis et al. (2006) reported that forage yield was not affected by the increase of common vetch ratio in the mixtures. However, our triticale green herbage yield findings were lower than the values indicated by Karabulut and Çağan (2018). This difference was thought to be caused by the ecology of the region and the difference in the used varieties.

The dry matter of the Hungarian vetch during the harvest period was found to be lower in both triticale and herbage obtained from mixed cultivation. Dry matter of forage increased with increasing triticale seed rate. Similar findings have been reported by Roberts et al. (1989) that DM decreased with increasing common vetch ratios in mixture with wheat.

Crude protein concentration of forage is one of the most important criteria for forage quality (Assefa and Ledin, 2001). The crude protein content of herbage of pure seeding Hungarian vetch was the highest (131.2 g/kg) among all herbages obtained from other mixtures. Pure triticale seeding produced herbage with the lowest crude protein content (52.5 g/kg). When the ratio of common vetch in any mixture increased, so did the crude protein content of that mixture also. Generally, the protein levels of legumes are higher than that of cereals. Also, In the sowing of the mixture, the crude protein content of the mixtures decreased as the ratio of legume seed in the mixtures decreased. These results were in agreement with those reported by Kokten et al. (2009); Yücel and Avcı (2009); Yıldırım and Parlak (2016) that crude protein concentration of monoculture vetch and containing 60% vetch and 40% triticale group were higher than the other mixtures and pure sown triticale group. Also, the findings, under different locations of Lithourgidis et al. (2006) and Budaklı Çarpıcı and Çelik (2014) supported our results. However, average crude protein concentration of pure and mixtures sowing less than reflected by Karadağ and Büyükburç (2003); Yücel and Avcı (2009); Yılmaz et al. (2015); Karabulut and Çağan (2018).

In this study, the NDF and ADF contents of the HV were lower than the triticale and HV+T mixtures. NDF and ADF content of the herbage obtained due to the increase of triticale seed rate in

mixed plantings also increased. NDF and ADF content in feeds is an important quality criterion. (Assefa and Ledin, 2001). Similar findings reflected by Lithourgidis et al. (2006) and Yıldırım et al. (2016).

Crude protein production from the 75:25 HVT mixture group; It was 31% higher than the HV group and 65% more than the triticale group. In general, mixture groups produced more crude protein than pure cultivation. When the groups were compared. This could be explained by the fact that the land use efficiency in 75:25HVT group in Tokat conditions was better than HV, triticale and other mixing ratios. This results in agreement reported findings by Kökten et al. (2009); Budaklı Çarpıcı et al. (2014) and Doğrusöz et al. (2019). But these results were lower than those reflected by Karadağ and Büyükburç (2003). It was thought that the differences between the protein yields might be due to the differences in variety and environmental conditions

Digestible dry matter is a function of ADF and there is a negative correlation between them. In this study, the ADF content of Hungarian vetch was lower than triticale. Similar results reflected by Yılmaz et al. (2015).

The digestible dry matter yield of the 50:50 mixture group was higher than the other experimental groups, followed by triticale and other mixture groups and the lowest production was obtained from the Hungarian vetch group. This results were in agreement with those reported by Yucel and Avcı (2009). Similar results have been reported by Altın and Ucan (1996); Tuna and Orak (2007).

Potential feed intake tended to decrease with increasing triticale levels in the mixtures. NDF was used to estimate DMI. There was a negative correlation between NDF and DMI. In other words, when NDF is high, both quality and potential DMI were low (Horrocks and Vallentine, 1999). Similar results reflected by Yılmaz et al. (2015). But, Kaplan et al. (2015) reported that the results obtained from the study investigating the potential feed intake of different triticale varieties (Tatlicak) were lower than our results. This was thought to be caused by different agronomic and environmental conditions.

Although the 50: 50HVT group had slightly higher  $NE_L$  than other groups, it was observed that there was no difference between the groups. Closer fibrous compounds of Hungarian vetch and triticale also resulted in insignificant differences in  $NE_L$  values. Similarly, Lauriault and Kirksey (2004) found that pea mixtures with rye and barley had no effect on net energy. Also, Similar results for NEL values were also reported by Aksoy and Nursoy (2010) for the vetch- wheat mixture. Whereas, Sadeghpour et al. (2014) stated that there was a significant increase in NEL values with increasing legume ratio in mixtures.

Degradation kinetics of nutrients of feeds in rumen; It is thought to be important in terms of estimating the nutritional needs of animals. When the degradability data of nutrients in the rumen were examined in this respect; pure and different mixtures of Hungarian vetch and triticale; It was determined that it had no effect on some kinetics (a, b, a+b, c,  $ED_{DM}$  and  $ED_{OM}$  in the rumen. Similar findings for alfalfa and oats reported by Ximena Valderrama and René Anrique (2011). Also, Dewhurst et al. (2003) declared that there was no consistent difference between the legumes and grass in terms of degradation characteristics. But, Box et al. (2018), In their study with Hungarian vetch and triticale and their mixtures; they stated that the effective dry matter degradability (ED2, ED5 and ED8) of the 50:50 HVT mixture group was higher than the other groups.

In this study, when the experimental groups were compared in terms of the degradability characteristics of the cell walls. It was observed that the values of 50:50 and 25:50 mixture groups were higher than the other groups. NDF degradation kinetics increased with increasing triticale ratio in mixtures. Regarding mixtures, Zhang et al., (2015) reflected that a combination of legume and wheat; intercropping material in terms of NDF degradability have probably produced a positive binding effect. Also, Hoffman et al. (1993) stated that legumes had a low NDF content, but had a higher lignin content in NDF, whereas grass had a lower lignin content in NDF, but a higher ADF and NDF content. Besides, concentration and degradation characteristics of NDF were important factors determining the energetic value of forages for ruminants (Moharrery et al., 2009).

Some researchers have determined that legumes had a faster degradation compared to grasses, and the presence of legumes probably accelerates the degradation of grasses (Halmemies-Beauchet-Filleau et al., 2013). Also, the association of legumes with grass may produce a synergistic effect with optimal energy-to protein ratio and improved effective degradability from increased microbial profiles due to multiple substances (Metzler Zebeli et al., 2012). On the other hand, the relational effects between grass and legumes can be attributed to bioactive ones.

As a result, the biomass production and crude protein yield of the 75:25 HVT group were 21% and 31% higher than the average of the experimental groups, respectively. Also, considering the effective dry matter digestibility of the experiment groups; Since the highest digestible dry matter production was found to be in the 75:25 HVT group, it was thought that the most suitable seed mixture for the cultivation of Hungarian vetch-triticale in Tokat conditions would be 75:25 HVT.

## Acknowledgements

This work is part of the scientific research project (2015/121) financially supported by Gaziosmanpasa University. We express our sincerest gratitude to them for their support

## References

- Aksoy, İ & Nursoy H. (2010). Determination of the varying of vegetation harvested hungarian vetch and wheat mixture on nutrient content, degradation kinetics, in vitro digestibility and relative feed value. *Journal of Kafkas Üniv. Vet. Faculty*, 16, 925-931.
- Altın, M. & Ucan, M. (1996). *Kumkale kıraç koşullarında değişik fiğ + yulaf karışımlarının farkı azot dozlarındaki hasılat verimleri ile karşım yapıları*. Türkiye 3. Çayır-Mer'a ve Yembitkileri Kongresi, Erzurum, p: 334-340.
- Assefa, G & Ledin, I. (2001). Effect of variety, soil type and fertilizer on the establishment, growth, forage yield, quality and voluntary intake by cattle of oats and vetches cultivated in pure stands and mixtures. *Anim. Feed Sci. and Tech.*, 92, 95–111.
- Avellaneda, I H, Pinos-Rodriguez, S. S. & Gonzales, S. S. (2009). Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestion of Guinea grass hay. *Anim. Feed Sci. and Techn.*, 149,70-77.
- AOAC. (2012). *Official method of analysis*. 15<sup>th</sup> ed., Association of Official Analytical chemist, Washington, DC. USA.
- Box, LA., Edwards, G.R. & Bryant, R.H. (2018). *In sacco* digestion kinetics of plantain and ryegrass-white clover harvested in the morning and afternoon. *New Zealand Journal of Animal Science and Production*, 78, 18-26.
- Budaklı Carpıcı, E & Çelik, N. (2014). Forage yield and quality of common vetch mixtures with triticale and annual ryegrass. *Turkish J. Field Crops*, 19(1), 66-69.
- Dewhurst, R J, Evans, R.T., Scollan, N.D., Moorby, J.M., Merry, R. J. & Wilkins, R. J. (2003). Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate. *Journal of Dairy Sci.*, 86 (8), 2598-2611.
- Doğrusöz, M.Ç., Mut, H., Başaran, Ü. & Gülümser, E. (2019). Performance of legumes-turnip mixtures with different seed rates. *Turkish Journal of Agriculture Food Science and Technology*, 7(1), 81-86.
- Halmemies-Beauchet-Filleau A, Vanhatalo, A., Toivonen, V., Heikkilä, T., Lee, M.R.F. & Shingfield K. J. (2013). Effect of replacing grass silage with red clover silage on ruminal lipid metabolism in lactating cows fed diets containing a 60:40 forage-to-concentrate ratio. *J. Dairy Sci.*, 96, 5882–5900.
- Hoffman, P. C., Sievert, R.D., Shaver, R.D. ,Welch, D.A. & Combs, D.K. (1993). In situ dry matter, protein and fiber degradation of perennial forages. *Journal of dairy sci.*, 76 (9), 2632-2643.
- Horrocks, R.D. & Vallentine, J.F. (1999). *Harvested Forages*. Academic Press, London, UK.
- Jaranyama, P. & Garcia, A.D. (2004). *Understanding relative feed value (RFV) and relative forage quality (RFQ)*. College of Agric. and Biological Sci., South Dakota State University, USA.
- Jung, H.G. (2012). Forage digestibility: the intersection of cell wall lignification and plant tissue anatomy. In: Proceedings of 23rd Ruminant Nutrition Symposium in Florida, USA.
- Kaplan, M., Yılmaz, M.F. & Kara, R. (2015). Variation in hay yield and quality of new triticale lines. *Tarım Bilimleri Dergisi – Journal of Agricultural Sciences*, 21, 50-60.
- Karabulut, D. & Çağan, E. (2018). Farklı zamanlarda ekilen bazı tahıl türlerinin ot verimi ve kalitesi bakımından karşılaştırılması. *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 33(2), 125-131.
- Karadag, Y. & Büyükburç, U. (2003). Effect of seed rates on forage production, seed yield and hay quality of annual legume-barley mixtures. *Turkish J. Agri. and Forestry*, 27, 169-174.

- Kokten, K., Toklu, F., Atis, I. & Hatipoglu, R. (2009). Effects of seeding rate on forage yield and quality of vetch (*Vicia sativa* L.) triticale (*Triticosecale* Wittm.) mixtures under East Mediterranean rainfed conditions. *African J. Biotech.*, 8, 5367–5372.
- Kusvuran, A., Kaplan, M. & Nazlı, R. I. (2014). Effects of mixture ratio and row spacing in Hungarian vetch (*vicia pannonica* crantz.) and annual ryegrass (*lolium multiflorum* lam.) intercropping system on yield and quality under semiarid climate conditions. *Turkish Journal of Field Crops*, 19(1), 118-128.
- Lauriault, L.M. & Kirksey, R.E. (2004). Yield and nutritive value of irrigated winter cereal forage grass–legume intercrops in the southern high plain, USA. *Agron. J.*, 96, 352–358.
- Lithourgidis, A. S., Vasilakoglou, I. B., Dhima, K.V., Dordas, C.A. & Yiakoulaki, M. D. (2006). Forage yield and quality of common vetch mixtures with oat and triticale in two seeding ratios. *Field Crops Research*, 99, 106–113.
- Metzler Zebeli B.U, Scherr, C., Sallaku, E., Drochner, W. & Zebeli, Q. (2012). Evaluation of associative effects of total mixed ration for dairy cattle using in vitro gas production and different rumen inocula. *J. Sci. Food Agr.*, 92, 2479–2485.
- Moharrery, A., Hvelplund, T. & Weisbjerg, M.R. (2009). Effect of forage type, harvesting time and exogenous enzyme application on degradation characteristics measured using in vitro technique. *Anim. Feed Sci. and Techn.*, 153, 178-192.
- NRC (2007). *Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids, and new world camelids*. National Academy Press, 384 p. <http://www.nap.edu/catalog/11654/nutrient-requirements-of-small-ruminants-sheep->
- Ørskov, E.R. & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal Agri. Sci. (Camb.)*, 92(2), 499–503.
- Paulson, J., Jung, H., Raeth-Knight, M. & Linn, J. (2008). *Grass vs Legume Forages for Dairy Cattle*. pp 1-15 in Proc. Minnesota Nutr. Conf., Saint Paul, MA, USA.
- Roberts, C.A, Moore, K.J. & Johnson, K.D. (1989). Forage quality and yield of wheat-common vetch at different stages of maturity and common vetch seeding rate. *Agronomy Journal*, 81, 57–60.
- Sadeghpour, A. E., Jahanzad, A. S., Lithourgidis, M., Hashemi, A., Esmaili, A. & Hosseini, M. B. (2014). Forage yield and quality of barley-annual medic intercrops in semi-arid environments. *Int. J. Plant Produc.*, 8, 77–89.
- SPSS. (2013). *IBM SPSS Statistics 22.0 for Windows*. Armonk, NY
- Tuna, C. & Orak, A. (2007). The role of intercropping on yield potential of common vetch (*Vicia sativa* L.)/ oat (*Avena sativa* L.) cultivated in pure stand and mixtures. *J. Agric. Biol. Sci.*, 2(2), 14-19.
- Ximena Valderrama L.I, & René Anrique G. (2011). *In situ* rumen degradation kinetics of high protein forage crops in temperate climates. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71(4), 572-577.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Sci.*, 74, 3583-3597.
- Yıldırım, S & Özarslan Parlak, A. (2016). Forage yield, quality of triticale intercrops with faba bean, pea and vetch at varying seeding ratio. *Journal Agri. Faculty*, 4 (1), 77–83.
- Yılmaz, Ş, Özel, A., Atak, M. & Erayman, M. (2015). Effects of seeding rates on competition indices of barley and vetch intercropping systems in the Eastern Mediterranean. *Turkish J Agri. and Forestry*, 39, 135-143.
- Yucel, C. & Avci, M. (2009). Effect of different ratios of common vetch (*Vicia sativa* L.) -triticale (*Triticosecale* whit.) mixtures on forage yields and quality in Cukurova plain in Turkey. *Bulg. J. Agri. Sci.*, 15, 323–332.
- Zhang, J., Yin, B., Xie, Y., Li, J., Yang, Z. & Zhang, G. (2015). Legume-Cereal intercropping improves forage yield, quality and degradability. *Plos One*, 10(12), 1-14.





Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

**Kırsal Turizmde Yerel Halk Bileşeni: Ankara-Ayaş Örneği'nde Bir Tutum Belirleme Çalışması\*\***

**Pınar BOLLUKCU\*<sup>1</sup>, Aslı CESUR<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Bartın Üniversitesi, Mühendislik, Mimarlık ve Tasarım Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, 74100, Bartın, Türkiye

<sup>2</sup> Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı, 74100, Bartın, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-0621-3862> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-8838-885X>

\*Sorumlu yazar e-posta: [pbollukcu@bartin.edu.tr](mailto:pbollukcu@bartin.edu.tr)

**Makale Bilgileri**

Geliş: 30.03.2020  
Kabul: 07.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.711767

**Anahtar kelimeler**

Ayaş,  
Katılımcılık,  
Kırsal Kalkınma,  
Peyzaj Planlama,  
Sürdürülebilir Turizm,

**Öz:** Sürdürülebilirlik anlayışına dayanan kırsal turizm konusunda yerel halkın tutumu, ilgi, bilgi ve beklentisinin araştırıldığı bu çalışma; Ankara İli Ayaş İlçesi'nde yürütülmüştür. Çalışma, "Yerel halkın kırsal turizm ve sürdürülebilir çevre konusunda farkındalık düzeyi nedir?", "Yerel halk, kırsal turizm faaliyetlerine katkı sunmak ister mi?", "Yerel halkın kırsal turizm konusunda çekince/beklentileri nelerdir" soruları üzerine kurulmuştur. Yerel halkın Ayaş'ı ne kadar tanıdığı, sürdürülebilir çevre/kırsal turizm konusundaki bilgi, algı ve beklentileri ile yapabilecekleri etkinlikler sorgulanmıştır. Nitel araştırma yöntemlerinden sözlü görüşme ve arazi gözlemi; nicel araştırma yöntemlerinden ise anket yöntemi uygulanmış ve istatistiki değerlendirme yapılmıştır. Çalışma sonucunda; yöre halkının sürdürülebilir turizm konusunda farkındalıklarının yüksek olduğu ancak, sürdürülebilir çevre konusundaki farkındalık düzeyinin beklenenin altında olduğu görülmüştür. Yöre halkının kırsal turizmi bir kalkınma fırsatı olarak gördüğü ve kırsal turizm faaliyetlerine katılma konusunda istekli oldukları tespit edilmiştir. Sadece konaklama konusunda çekinceler görülmüştür. Elde edilen sonuçlar; yöre halkına kırsal turizm ile ilgili eğitim-bilgilendirme desteğinin sağlanması ve Ayaş'ta gerekli altyapının oluşturulması durumunda kırsal turizmin, kalkınmada etkili olabilecek potansiyelinin bulunduğunu göstermektedir. Çalışmanın kırsal turizm ve kırsal peyzaj planlama konusunda yapılacak araştırmalara ve yerel kalkınma çalışmalarına katkı sunması beklenmektedir.

**Local People Component in Rural Tourism: An Attitude Determination Study in Ankara-Ayaş Case**

**Article Info**

Received: 30.03.2020  
Accepted: 07.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.711767

**Keywords**

Ayaş,  
Participation,  
Rural development,

**Abstract:** This study which investigates the attitude, interest, knowledge and expectation of the local people about of rural tourism that is based on the sustainability mentality was carried out in Ayaş where is district of Ankara Province. The study is based on the questions such as "What is the level of awareness of local people about rural tourism and sustainable environment?", "Do local people want to contribute to rural tourism activities?", "What are the reservations/expectations of the local people about rural tourism?". In study; how much the local people know Ayaş, their knowledge, perception and expectations about sustainable environment/rural tourism and the activities they can do have been questioned. Oral interview and field observation, which are qualitative research methods; among the quantitative research methods, the survey was applied and statistical evaluation was made. In the results of study; It has been

Landscape planning,  
Sustainable tourism.

observed that the local people have high awareness of sustainable tourism, but the level of awareness of sustainable environment is below expected. It has been determined that the local people see rural tourism as an opportunity for development and are willing to participate in rural tourism activities. Only the reservations about accommodation were seen. Obtained results shows that rural tourism has the potential to be effective in development if the education-information support is provided to the local people about rural tourism and the necessary infrastructure is established in Ayaş. The study is expected to contribute to researches and local development studies on rural tourism and rural landscape planning and local development studies.

\*\*Bu çalışma, Bartın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı'nda yürütülmüş olan "Ankara İli Ayaş İlçesi'nin doğal ve kültürel özelliklerinin kırsal turizm açısından değerlendirilmesi" isimli yüksek lisans tez çalışmasından üretilmiştir.

## 1. Giriş

Günümüzde turizm anlayışı değişerek, serbest zamanlarda sadece fiziksel olarak dinlenme beklentisinin ötesine geçmiştir. Dinlenme ile birlikte öğrenme, yeni beceriler edinme ve sonuç olarak hem fiziksel hem de ruhsal açıdan doyuma ulaşmayı sağlayan aktiviteler ilgi çekmeye başlamıştır. Kent yaşamının karmaşık olması, insanların zaman ile olan yarışı, sürekli birbirinin aynı olan endüstriyel eşya ve ürünlerin tüketilmek zorunda olması, çevre kirliliği, yapay çevre koşulları vb. birçok neden, insanları doğal ve doğala yakın çevrelere itmektedir. Bu talep ortamında doğan sürdürülebilir turizm anlayışı, kırsal turizm, ekoturizm, yeşil turizm, soft turizm gibi turizm türlerini ortaya çıkarmıştır. Kentlerde yaşayan insanlar için bu turizm alternatifleri, kent ortamından bir kaçış fırsatı sunmaktadır.

Bu alternatiflerden biri olan kırsal turizm, dünya genelinde giderek yaygınlaşmakta; ayrıca ekonomik koşullar ve yaşam standartları açısından kentlerle rekabet seviyesi düşük olan kırsal alanların kalkınmasında da önemli bir sektör olarak görülmektedir (Cawley ve Gillmor, 2008; Aydın, 2012). Kırsal turizm, kaynakların mümkün olan en verimli şekilde kullanılarak devamlılığının sağlanması ve yerel halkın sosyo-ekonomik açıdan güçlendirilmesi ile yerel-bölgesel kalkınmaya katkı sağlayabilmektedir.

Kırsal turizmin başlıca bileşenleri kırsal alanlar, kırsal yaşam, kırsal etkinlikler ve kırsal mirastır (Taş ve ark., 2016). Bu bileşenleri barındıran bir alanda konaklamak, yöre kültürünü tanımak ve yöresel etkinliklere katılmak gibi hedefler (Emekli ve Baykal, 2011) içeren kırsal turizm; genellikle doğa ve geleneksel yaşam ile uyum içerisinde kurgulanmaktadır. Doğal çevrenin korunması ve tanıtılmasına, yeni iş fırsatları yaratılmasına, yerel ekonominin güçlenmesine, gençlerin tarıma yönelmesine, ilgili alanlarda eğitim ve sertifikasyon programlarının yaygınlaşmasına olanak sağlamaktadır (Pirivitera, 2010; Emekli ve Baykal, 2011; Ongun ve Gövdere, 2014, Cvijanović ve Gajić, 2019). Üreticiye sunulan desteklerle, yörenin sosyal sorunlarına da çözüm fırsatı sunabilmektedir (Frumkin, 2019).

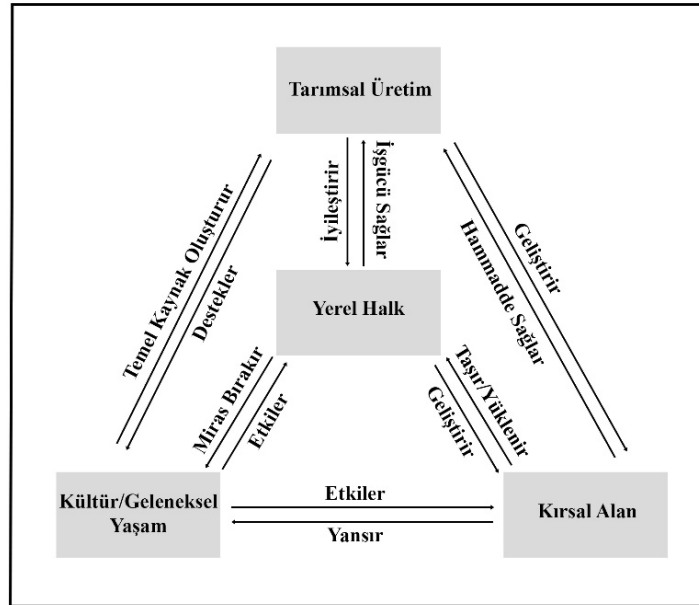
Kırsal turizm, ekonomik gelişme ile birlikte mekânsal gelişmeyle de doğrudan ilişkilidir (Frumkin, 2019). Ekolojik öncelikleri gözetilen uygun arazi kullanımlarının kırsal turizm temelinde belirlenmesi ve yerel planlama politikaları ile eşgüdümünün sağlanması, turizm ile üretim faaliyetlerini bir arada barındırabilecek fırsatların mekânsal olarak ortaya konulması, turizmin kırsal mekân gelişimine katkılarından dolayıdır. Ekolojik hassasiyetlerin göz önünde bulundurulması ile peyzaj değerlerine saygılı turizm ve rekreasyon faaliyetlerinin gelişimini destekleyen arazi kullanımları da, teşvik edilmektedir (Critch, 2016).

Kırsal turizm kapsamında yapılan uygulamalar; yöreye, yerel birliklere ve turistlere katkılar sağlamaktadır. Günümüzde birçok kırsal bölgede turizm, özellikle tarım ile birlikte sosyo-ekonomik yapının doğal bir parçası haline gelmiştir. Pek çok çiftçi, gelir düzeyini artırmak amacıyla normal çiftçilik faaliyetlerine ek olarak, kırsal turizm faaliyetlerine yönelmektedir (Pirivitera, 2010). Kırsal turizm kapsamında genellikle, kır evlerinde konaklama, günlük köy hayatını izleme ve etkinliklere katılma, tarımsal faaliyetlere katılma, geleneksel ritüellere katılma, gastronomi ve doğa gezileri, doğa sporları, el sanatları veya yöresel yemekler ile ilgili atölye çalışmaları gibi çeşitlendirilebilen etkinlikler yapılmaktadır. Bu yaratıcı etkinlikler; yerel gelenekler, yerel halkın bilgisi, yöreye ait doğal

ve kültürel peyzajın harmanlanması sonucu ortaya çıkmaktadır (Duxbury, 2019). Örneğin; Türkiye’de Buğday Derneği tarafından yürütülen “Ekolojik Çiftliklerde Tarım Turizmi ve Gönüllü Bilgi, Tecrübe Takası” olarak bilinen, kısa adı “TaTuTa” (Tarım-Turizm-Takas) olan proje 2004 yılından beri faaliyet göstermektedir. Projenin amacı ekolojik tarımla geçinen ailelere ekonomik destek, gönüllü işgücü ve bilgi desteği sağlayarak ekolojik tarımı teşvik etmek ve sürdürülebilirliğini sağlamaktır. Türkiye’de, TaTuTa projesi kapsamında faaliyet gösteren 91 çiftlik bulunmaktadır (TATUTA, 2020). Dünya genelinde yaygınlaşmakla birlikte, özellikle kırsal turizm açısından ilk 5 ülke olarak sınıflanan Fransa, İtalya, İspanya, İngiltere ve Almanya’da da kırsal alan, yerel halk ve turistleri bir araya getiren benzer birçok uygulama bulunmaktadır (Aydın, 2012).

Tarım ve turizmi bir araya getiren girişimlerin yararları ülkelerin gelişmişlik düzeylerine ve konuya bakış açılarına göre değişmekle birlikte genellikle şu başlıklar altında sıralanabilir: Yerel halk-turist etkileşimini sağlamak, turizm sektörünün ilgili tüm paydaşlarını bir araya getirmek, yeni girişimleri uygulamak, yerel halka ekonomik katkı sağlamak ve dolaylı olarak göç sorununu çözmek, doğal-kültürel mirası korumak ve onarmak, yerel halkın yaşam şartlarını iyileştirmek, kırsal alanda kadınları sosyo-ekonomik açıdan desteklemek, geleneksel üretim yöntemlerini, ürünleri ve ritüelleri koruyarak desteklemek vb. (Soykan, 2006; Aydın, 2012). Bahsedilen girişimleri de içeren sektörel gelişmelerle birlikte yerel halk; turizm açısından tasarım, gelişim ve sürdürülebilirlik faktörlerinden biri olmaktadır. Kırsal turizmde yerel halk, kırsal turizm bileşenleri olarak tanımlanan; kırsal alan, kırsal yaşam, kırsal etkinlikler ve kırsal mirasın gerçek sahibidir. Turizm etkinliğinin bir parçası olarak bakıldığında yerel halk; alanı en iyi tanıyan ve yaşam biçimini en fazla benimseyenlerden oluşmaktadır. Bu açıdan yerel halkın bilgi ve algısını ölçmek, planlama çalışmalarının gerçekçi olarak yürütülmesine olanak sağlamakta ve tabandan tavana doğru yayılan bir bilgi akışı oluşturmaktadır.

Geng (2019), Çin’de yaptığı çalışmada köyü; insanlar, kırsal alanlar, yerel kültür ve endüstriden oluşan simbiyotik bir sistem olarak tanımlamıştır. Bu sistem içerisinde en temel unsuru insanlar (yerel halk ve turistler) oluşturmaktadır. Şekil 1’de Geng (2019) tarafından üretilen çalışmanın çıkarımlarına dayanan simbiyotik ilişki, kırsal turizm temelinde genelleştirilerek ifade edilmiştir.



Şekil 1. Kırsal turizmin temel unsurları arasındaki karşılıklı ilişki (Geng, 2019’dan değiştirilerek alınmıştır).

Kırsal turizmde insan faktörü, hem yerel halk hem de turistler olarak karşımıza çıkmaktadır. Her iki grup açısından insan-turizm ilişkisi, etkileyen ve etkilenen boyutuyla ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. Bu bağlamda, turizmin gelişimi planlanırken yerel nüfusun elde edeceği faydanın analiz edilmesi ve turizm gelişmelerinin kontrolü, yerel halk ve yöre açısından önemlidir (Cvijanović ve Gajić, 2019). Aynı şekilde turistler açısından da sınırların belirlenmesi gerekmektedir.

Bu noktada da turizm etiği kavramı kaşımıza çıkmaktadır. Sürdürülebilir turizmin başarılı bir şekilde gerçekleştirilebilmesinde etkili tüm paydaşların etik sorumlulukları bulunmaktadır (Açıksöz ve ark., 2016).

Yerel kalkınma sürecini kırsal turizm ile yönlendirecek olan alanlarda, doğal ve kültürel peyzaja ilişkin envanter çalışmalarının yapılması, yerel halkın, yöneticilerin ve ziyaretçilerin beklenti ve görüşlerinin tespiti, uzman değerlendirmeleri, bilimsel öngörü oluşturmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilecek sonuçlar, ekolojik açıdan hassas alanların ve etik hassasiyetlerin belirlenmesinde rol oynamaktadır. Bununla birlikte, faaliyetlerin doğal ve kültürel çevre üzerinde oluşturabileceği olumsuz etkileri önlemeye yönelik plan kararları üretmek, çalışmanın ölçeğine ve sınırlılıklarına göre tasarım kararları üretmek; uygulama yöntemini ortaya koymak ve uygulama sonrası yönetim kararları almak açısından planlama çalışmalarına katkı sunmaktadır.

## 2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışmanın ana materyalini, yerel halkın tutum ve beklentilerinin tespit edilmesinde kullanılan ve Ayaş ilçesinde yaşayan kişilere uygulanan 98 adet yerel halk anketi oluşturmaktadır. Çalışmanın yardımcı materyallerini ise Ayaş hakkında güncel genel bilgilerin derlenmesi amacıyla 9 mahallede uygulanan muhtar anketleri ile yerel halk anketlerinin değerlendirilmesinde kullanılan IBM SPSS Statistics/22 paket programı oluşturmaktadır. Anket uygulaması öncesinde Bartın Üniversitesi Sosyal ve Beşeri Bilimler Etik Kurulu'ndan 11.06.2018 tarih ve 2018-078 protokol sayılı Etik Kurul Belgesi alınmıştır.

Çalışma alanı, Ankara İli'ne bağlı Ayaş İlçesi'nin kentsel sit alanı ve etkileşim sahası sınırı içerisinde kalan bölgedir. Ankara'nın 58 km kuzeybatısında yer alan çalışma alanı, 1158 km<sup>2</sup> yüz ölçüme sahiptir. Doğusunda Sincan ve Kazan, batısında Beypazarı, kuzeyinde Güdül ve Kızılcahamam, güneyinde Polatlı ilçeleri bulunmaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. Ayaş İlçesi'nin Türkiye ve Ankara'daki konumu.

Ankara kentsel alanına yaklaşık 38 km mesafede, kent merkezinin 50 km yarıçaplı sınırının içerisinde konumlanan Ayaş ilçe merkezi, 5216 sayılı Büyükşehir Belediyesi Kanunu'nun yürürlüğe girmesiyle, Ankara Büyükşehir Belediyesi sınırlarına İlçe Belediyesi olarak dâhil edilmiştir. Ayaş'a bağlı 3 adet belde ve 21 adet köy bulunmaktadır. Çalışma alanı ise toplam 9 mahalleden oluşmaktadır. Ayaş, Ankara kent merkezine ve Beypazarı destinasyonuna yakın konumda bulunan, aynı zamanda ülke turizm politikalarında da yeri olan bir yerleşim alanıdır. Kentsel gelişmeyle birlikte, kırsal niteliğini sürdüren Ayaş'ta; ekonomik yapı büyük ölçüde tarımsal üretime dayanmaktadır. Geleneksel yaşam biçimi, el sanatları, doğal ve kültürel miras niteliği taşıyan alan ve yapıların varlığı; kırsal

turizm kapsamında değerlendirilebilecek potansiyellerinin bulunması, çalışma alanının seçilmesinde etkili olmuştur. Çalışma, 4 aşamadan oluşmaktadır.

“Yerel halkın kırsal turizm ve sürdürülebilir çevre konusunda farkındalık düzeyi nedir?”, “Yerel halk, kırsal turizm faaliyetlerine katkı sunmak ister mi?”, “Yerel halkın kırsal turizm konusunda çekince ve beklentileri nelerdir” soruları üzerine kurulmuş olan çalışmanın 1. aşaması; çalışma alanı ve konusu ile ilgili literatür araştırma, veri toplama ve envanter oluşturma işlerini kapsamaktadır. Alana ilişkin doğal ve kültürel veriler, bu aşamada derlenmiştir. 2. aşamada; anket formları oluşturulmuş ve anketlerin uygulanacağı örneklem belirlenmiştir. Örneklemin belirlenmesinde; “Evren büyüklüğünün bilindiği durumlarda örnek büyüklüğünü veren formül (Naing ve ark., 2006) kullanılmış ve en az 94 kişiye uygulanması gerektiği belirlenmiştir. “Muhtar Anketi”, çalışma alanında yer alan 9 mahallenin muhtarlarına, “Yerel Halk Anketi” ise 9 mahallede yaşayan 98 kişiye uygulanmıştır.

$$n \geq \frac{Z^2 \times N \times p \times q}{N \times D^2 + Z^2 \times p \times q} \quad (1)$$

- n : Örnek büyüklüğünü,  
Z : Güven katsayısını (%95’lik güven düzeyi için Z=1,96)  
N : Ana kütle büyüklüğünü (Çalışma alanı toplam nüfusu 5364 kişi),  
p : İstenen özelliğin ana kütlede bulunma oranı (0,5)  
q : Ölçülmek istenen büyüklüğün ana kütlede bulunmama oranı (1-p=0,5),  
D : Kabul edilen örnek hatası (%10).

Çalışmanın 3. aşamasında; arazi çalışmaları, literatür araştırmaları ve muhtar anketlerinden elde edilen fiziksel ve sosyo-ekonomik veriler sentezlenerek sunulmuştur. Yerel halka uygulanan anketler ise çalışma soruları temel alınarak; Frekans Analizi, Crosstab Analizi ve Korelasyon analizine tabi tutulmuştur. Son aşamada ise, elde edilen verilere dayanılarak sonuçlar oluşturulmuştur.

### 3. Bulgular

Ayaş ilçe yerleşimi, Ayaş Çayı etrafında yer alan vadi ve yamaçlar arasına konumlanmıştır. 860-1060 m yükseklik grupları arasında bulunan alanda genel olarak güney bakımlıdır (Cesur, 2019). Ayaş, IV. derece deprem kuşağında yer almakla birlikte; alanda büyük deprem üretebilecek herhangi bir diri fay hattı bulunmamaktadır (AFAD, 2019). Yerleşim alanlarının önemli yer tuttuğu çalışma alanında, araziler genellikle III., IV. ve VI. sınıf arazi yeteneğine sahiptir. Genel toprak türü kahverengi topraklar olup, yer yer alüvyal topraklar görülmektedir (Cesur, 2019). Hâkim bitki örtüsü orman ve bozkır bitkileridir (İnci, 2012). İç Anadolu bölgesinde yer alan Ayaş’ta, deniz etkisinin görülmemesi ve etrafının dağlarla çevrili olması nedeniyle karasal iklim tipi hâkimdir. Yazlar çok sıcak ve kurak, kışlar soğuk ve kar yağışlı geçmektedir (Doğan, 2012).

Mekânsal olarak merkeze yakın konumda bulunan ve kırsal niteliğe sahip bir yerleşim alanı olan Ayaş, kırsal turizm açısından değerlendirilebilecek potansiyellere sahiptir. Termal su kaynakları, geleneksel sivil mimari örnekleri, tarihi dokusu, halk kültürü ve geçim kaynakları kırsal turizmi besleyen unsurlardır. Selçuklu ve Osmanlı dönemlerine ait birçok tarihi yapı bulunmaktadır. Toplam 98 adet taşınmaz kültür varlığı bulunan Ayaş’ta (KTB, 2020); camiler, hamamlar, türbeler, mezar taşları ve çeşmeler önemli sivil mimari örneklerindedir. Kentleşmenin getirdiği yeniliklerle birlikte geleneksel doku bozulmaya başlamış olmasına rağmen, Ayaş halen eski izleri üzerinde taşımaktadır.

Çalışma kapsamında yerel halk ile yapılan ve istatistikî analizlere tabi tutulan anketlere ilişkin değerlendirmeler, anket bulguları olarak aşağıda açıklanmıştır.

Yerel Halk Anketi, Ayaş İlçesi’nde yaşayan rastgele seçilmiş 98 katılımcıyla yüz yüze görüşülerek tamamlanmıştır. Anket 27 sorudan oluşmaktadır. 1-7. sorular yaş, cinsiyet, meslek, eğitim düzeyi, gelir durumu ve gelir elde edilen faaliyetleri içeren kişisel sorulardır. 8-12. sorular, Ayaş hakkındaki genel bilgi ve algının ölçülmesine yönelik açık-kapalı uçlu sorulardır. 13. soru sürdürülebilir turizm konusundaki genel algıyı saptamak amacıyla sorulmuştur. Bu sorunun ardından katılımcılara “sürdürülebilir çevre” ve “kırsal turizm” kavramları açıklanmıştır. 14 ve 15. sorular,

sürdürülebilir çevre ve kırsal turizm etkinlikleri konusundaki beklentilerin ölçüldüğü sorulardır. 16-27. sorular ise Ayaş'ta yerel halk tarafından kırsal turizme sağlanan/sağlanabilecek katkıların belirlenmesine yönelik sorulardan oluşmaktadır.

Yaş dağılımlarına bakıldığında her yaş aralığından katılımcıya ulaşıldığı söylenebilir. Katılımcıların demografik özellikleri, turizme yönelik algı ve beklentilerinin belirlenmesinde ayırıcı özelliklerdir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Demografik özellikler

Özellikler	Değerlendirme aralıkları	Yüzde değer
Yaş grubu	18-25	12.2
	26-35	21.4
	36-45	14.3
	46-55	22.4
	56-65	15.3
	66 ve üstü	14.3
Cinsiyet	Kadın	44.9
	Erkek	55.1
Eğitim düzeyi	Okur-yazar değil	2
	İlköğretim	41.8
	Lise	29.6
	Üniversite	25.5
	Lisansüstü	1
Meslek grubu	Çiftçi	13.3
	Esnaf	12.2
	İşçi	9.2
	Serbest meslek	15.3
	Memur	21.5
	Emekli	7.1
	Çalışmayan (Öğrenci % 5,1)	21.4
Gelir durumu	1500 TL ve altı	17.3
	1501-2500 TL	41.8
	2501-3500 TL	26.5
	3501-4500 TL	9.2
	4501-5500 TL	4.1
5501 TL üstü	1	
Memleket	Ayaş'lı	76.6
	Ayaş'lı değil	23.4

\*Çalışmayan: Herhangi bir sosyal güvencesi bulunmayan işsizler (çalışmayan kadınlar dâhil) ve öğrenciler.

Çalışma yürütülürken, kamusal alanlarda erkeklere erişebilmek kolay olmuştur. Sayısal olarak tespit edilmemiş olmakla birlikte, Ayaş'ta yapılan arazi çalışmaları sırasında kadınların dış mekânda etkinliğinin erkeklere göre daha düşük düzeyde olduğu görülmüştür. Katılımcılar arasında cinsiyet dengesini sağlayabilmek amacıyla kadınlara, daha fazla etkin oldukları pazar yerinde ve kendi bahçelerinde erişilmiştir. Kırsal alanların önemli sorunlarından biri eğitim olanaklarının yetersizliği ve eğitim düzeyinin genellikle düşük olmasıdır. Çalışmada lise ve daha düşük düzeyde eğitim seviyesine sahip bireyler çoğunluktadır (% 73.4). Ayaş genelinde toplam nüfusun % 9.4'ü herhangi bir ilköğretim okuluna gitmemiş kişilerden, % 1.7'si ise okuma-yazma bilmeyen kişilerden oluşmaktadır. Ayaş genelinde okuma-yazma bilmeyen nüfusun yaş ortalaması 60 yaşın üzerindedir ve % 82'si kadındır (TÜİK, 2018). Lisans ve lisansüstü öğrenim düzeyinde kadın bireylerin toplumda temsiliyeti yaklaşık % 40 oranla ortalamaya yakın düzeydedir. Bu durum, Ayaş'ta eğitim açısından cinsiyet ayrımının azaldığını umut verici bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Çalışma alanında tespit edilen bir diğer önemli sorun, gelir düzeyinin düşük olmasıdır. Katılımcıların % 59.1'i, çalışmanın yürütüldüğü dönemde yürürlükte olan asgari ücretin (2 020 TL) altında gelire sahiptir. Ankete katılan yerel halkın %99'unun, çeşitli sivil toplum kuruluşları tarafından aylık olarak hesaplanan açlık ve yoksulluk sınırının altında gelir düzeyine sahip olması, ülkenin genel ekonomik koşullarıyla ilgili olmakla birlikte, oldukça düşündürücüdür. Meslek dağılımları incelendiğinde, memurların ve çalışmayanların çoğunlukta olduğu görülmektedir. Çalışmayan grubun % 5.1'i öğrencilerden oluşurken diğerleri ise işsizler ve herhangi bir sosyal güvenceli işte çalışmayan kadınlardan oluşmaktadır. Çalışmayan kadınların da bir kısmı kendi bahçelerinde tarımsal üretim

yaparak aile ekonomisine katkı sağlamaktadır. Sadece tarımla uğraşan ve çiftçi kaydı bulunan kişiler, katılımcıların % 13.3'ünü oluşturmaktadır.

Yaşanılan çevrenin katılımcılar tarafından nasıl algılandığı bilgisi; nitelikli fiziksel ve sosyo-ekonomik kaynakların tespiti ve amaca yönelik gerçekleştirilebilecek faaliyetlerin tespiti konularında yol göstermektedir. Bu algı, mekânı ilk kez ziyaret edenlerin fark edemeyebileceği, uzun süre mekânı kullananların deneyimleri sonucu elde edilebilecek bir bilgidir. Katılımcılardan kendilerine herhangi bir seçenek sunulmadan, "Ayaş" denilince akıllarına gelen kavramlar sorulmuştur. Elde edilen sonuçlardan yerel halkın büyük bir çoğunluğunun, "dut" (% 86.7), "domates" (% 81.6) ve "kırsal yaşam" (% 50) kavramlarını öne çıkardığı görülmüştür. Buluşma noktasının sorulduğu soruya verilen cevaplarda ise Pazar yeri cevabı (% 76.6) ön plana çıkmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. Katılımcıların "Ayaş'ı" tanıma konusunda bilgi ve algısı

	İfadeler	Kişi Sayısı	Yüzde değer
"Ayaş" denilince ilk akla gelenler	Dut	85	86.7
	Domates	80	81.6
	Kırsal Yaşam	50	50
	Kiraz	39	39.8
	Tarihi Yapılar	33	33.6
	Termal Kaynaklar	19	19.3
	Yöresel Yemekler	18	18.2
	Bilgi yok	8	8.1
	Tiftik Keçisi	6	6.1
	El Sanatları (İğne oyası, yün işleri, testicilik vb.)	5	5
	İpek Yolu	3	3
	Festivaller	3	3
Ayaş'ta buluşma noktası	Pazar Yeri	75	76.6
	Havuzlu Çarşı	11	11.2
	Hanımlar Konağı	6	6.1
	Belediye Önü	4	4.1
	Hamam	1	1
	Eski Ziraat Bankası	1	1

Ayaş'ı algılama biçimlerinin cinsiyete göre farklılaştığı yargısıyla, konu ile ilgili sorular ve cinsiyet faktörü arasındaki ilişki ayrıntılı olarak incelenmiştir. Verilen cevaplar "tarımsal ürünler", "turizm kaynakları, doğal ve kültürel yapılar" ve "geleneksel yaşam" olarak gruplanmıştır. Grupların % değeri hesaplanırken, her bileşene verilen cevabın oranı toplanarak, bileşen sayısına bölünmüş, ortalama % değer kadın ve erkek katılımcılar için ayrı ayrı hesaplanmış ve Çizelge 3'te verilmiştir. Ayaş algısı ile ilgili görüşlerde farklı cinsiyetteki bireylerin cevaplarında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Ancak tüm bireylerin, tarımsal ürünler konusundaki ortak fikrinin ön plana çıkması, Ayaş'ta yaygın olarak yapılan tarımsal faaliyetlerin "Ayaş"ı tanımlamada önemli bir unsur olduğunu göstermektedir. Pazar yeri, haftanın belirli günlerinde aktif olan kırsal alanda yapılan tarımsal faaliyetler sonucu elde edilen ürünlerin ilçe merkezinde satıldığı kamusal alanlardan biridir. Hem kadın hem erkek katılımcıların buluşma noktasını tanımlamada yüksek oranla "Pazar yeri" cevabını vermiş olmaları, büyük ölçüde tarım kültürünün yaygın olmasından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 3. Ayaş'ı algılama biçimleri ile cinsiyet değişkeni arasındaki ilişki

"Ayaş" algısı ile ilgili kavramlar	Tarımsal ürünler	Turizm kaynakları, doğal ve kültürel yapılar	Geleneksel Yaşam	Bilgi yok
Kadın	% 24	% 6.6	% 11.8	% 4.1
Erkek	% 29.6	% 8.2	% 12.9	% 4.1
Ayaş'ta buluşma noktaları	Pazar yeri	Güncel kullanım alanları	Tarihi mekânlar	Diğer
Kadın	% 81.8	% 2.3	% 15.9	0
Erkek	% 72.2	% 7.5	% 20.4	0

Ayrıca çalışma yürütülürken kamusal alanda kadınlara erişim çoğunlukla Pazar yerinde sağlanmıştır. Bu analizde kadınların % 81.8'inin buluşma noktası olarak Pazar yerini belirtmiş olmaları, kamusal alanda aktif olarak yer alabilecekleri alanların da kısıtlı olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Katılımcıların Ayaşlı olup olmaması ve Ayaş'ta bulunma sürelerinin alanı tanımlarında etkili olduğu düşünülmektedir. Aidiyet duygusu alana ilgiyi ve algıda seçiciliği artırabilmektedir. Katılımcıların çalışma alanında bulunma süresi, memleket aidiyeti ve yaşadıkları çevrenin turizm açısından önemi hakkındaki bilgileri sorgulanmış, sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 4. Katılımcıların yaşadıkları çevre hakkındaki bilgileri

	Değerlendirme aralıkları	Yüzde değer
Ayaş'ta yaşama süresi	0-20 yıl	33.7
	21-40 yıl	29.6
	41 yıl ve üzeri	36.7
Memleket	Ayaşlı	76.6
	Ayaşlı değil	23.4
"İpek yolu turizm koridoru" bilgisi	Biliyor	61.2
	Bilmiyor	38.8

% 76.6'sı Ayaşlı olan katılımcıların, % 36.7'si 41 yıl ve daha uzun süredir Ayaş'ta yaşamaktadır. Bu durum, Ayaş'ı iyi tanıdıklarının, potansiyellerini ve zayıf yönlerini iyi bildiklerinin bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Ayaş'ın da içinde bulunduğu bölge, Türkiye Turizm Stratejisi-2023'te "İpekyolu Turizm Koridoru" adıyla 7 tematik turizm gelişim koridorlarından birini oluşturmaktadır. Bölgenin doğa turizmi-ekoturizm ağırlıklı olarak geliştirilmesi planlanmaktadır (KTB, 2007). Bu bilgilerle ilişkili olarak sorulan soru ile yerel halkın bilgisi ölçülmeye çalışılmıştır. Ayaş'ın İpek Yolu Turizm Koridoru'nda yer aldığı bilenlerin oranı (% 61.2), Ayaş'ta yaşayanların yaşadıkları çevrenin turizm açısından önemi hakkında bilgi sahibi olduklarını göstermektedir. Bu bağlamda, memleketlilik ile turizm farkındalığı arasında ilişki bulunduğu varsayımıyla korelasyon analizi yapılmış, değişkenler arasında negatif yönde ve orta düzeyde ilişki tespit edilmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. Korelasyon analizi

		Memleketlilik	Turizm Farkındalığı
Memleketlilik	Korelasyon	1	-,052
	Anlamlılık		,608
	N	98	98
Turizm Farkındalığı	Korelasyon	-,052	1
	Anlamlılık	,608	
	N	98	98

Çalışma kapsamında yerel halkın sürdürülebilir çevre ve kırsal turizm konusundaki genel algı ve beklentileri; ilgili sorulara verilen cevaplar üzerinden tespit edilmiştir. Katılımcı grubu üzerinde oluşabilecek düşünce karışıklığını en aza indirmek amacıyla, konu ile ilgili olumlu ve olumsuz ifadelerle katılma düzeyleri 4'lü likert ölçeği kullanılarak sorgulanmıştır (Turan ve ark., 2015). Tam katılma, kararsız kalma ve tam katılmama seçenekleri ile beraber fikrim yok seçeneği de değerlendirmeye alınmıştır. Bilgi ve algıyı ölçmeye çalışan bu çalışmada "fikrim yok" ifadesi, "konu ile ilgili herhangi bir bilgim/farkındalığım/kulak dolgunluğum yok" ifadeleri ile eşdeğerdir. Bu çalışmada kişilerin katılma ya da katılmama durumu kadar herhangi bir fikre sahip olunmaması da, bilgiyi ölçmede önemli bir gösterge olarak değerlendirilmiştir. Alınan cevaplara ait ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 6'da verilmiştir. Cevapların dağılımının ortalama uzaklaşma derecesini göstermek amacıyla verilmiş olan standart sapma değerlerinden; bulguların yorumlanmasında yararlanılmıştır.

Katılımcıların kırsal turizm konusunda olumlu ve anlamına yakın bir genel algıya sahip oldukları hipotezi test edilmiştir. T testi sonucunda, [t (98)= t değeri, p<0.01] alınan cevapların ortalamaları ile norm değer arasında anlamlı bir fark görülmemiş ve hipotez doğrulanmıştır.



Sürdürülebilir çevre ve kırsal turizm konusunda genel algıya ilişkin cevaplar analiz edildiğinde katılımcıların; “Doğayı tanımak ve deneyimlemektir” ifadesine daha yüksek oranla katıldıkları, “Doğaya zarar vermeyen turizm etkinlikleridir”, “Doğada zaman geçirme ve doğa ile içi içe olmaktır”, “Yerel ekonomiyi canlandırmak ve geliştirmektir” ifadelerine katıldıkları görülmektedir. “Koruma öncelikli turizm etkinlikleridir”, “Çevre, yerel insanlar ve turistlerin karşılıklı iletişim ve alışverişidir”, “Yoğun yapılaşmaya izin vermeyen ve doğayı koruyan turizmdir”, “Stresten kaçış ve rahatlama sağlayan bir turizmdir” önermelerine katıldıkları ve kısmen katıldıkları, “Konforsuz, basit ve sade olanaklar sunan bir turizmdir” önermesine ise katılmadıkları ya da kısmen katıldıkları söylenebilir. Olumlu önermelere genel olarak katılmış olmalarından, Ayaş'ta konu ile ilgili farkındalık düzeyinin var olduğu yargısına varılabilir. “Koruma öncelikli turizm etkinlikleridir” ve “Konforsuz, basit ve sade olanaklar sunan bir turizmdir” önermelerinde fikrim yok seçeneğini işaretleyen bireylerin (N=11 ve N=14) diğerlerinden daha fazla olması, kırsal turizm uygulamalarına ilişkin bilgi eksikliğinin, kavrama ilişkin bilgi eksikliğinden daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Bu oran sadece, “Konforsuz, basit ve sade olanaklar sunan bir turizmdir” ifadesinde önermenin yönünü negatif olarak etkilemektedir. Yöre halkının herhangi bir kırsal turizm uygulaması içerisinde bulunmamış olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 6. “Sürdürülebilir çevre ve kırsal turizm” konusunda genel algı ve beklentiler

	İfadeler	Mean	SS
Genel algı	Doğaya zarar vermeyen turizm etkinlikleridir.	1.3367	.86088
	Doğada zaman geçirme ve doğa ile içi içe olmaktır.	1.3367	.83658
	Doğayı tanımak ve deneyimlemektir.	1.2755	.77033
	Koruma öncelikli turizm etkinlikleridir.	1.5000	.99742
	Çevre, yerel insanlar ve turistlerin karşılıklı iletişim ve alışverişidir.	1.4082	.88325
	Yerel ekonomiyi canlandırmak ve geliştirmektir.	1.3673	.85419
	Yoğun yapılaşmaya izin vermeyen ve doğayı koruyan turizmdir.	1.5816	.97308
	Konforsuz, basit ve sade olanaklar sunan bir turizmdir.	2.0510	1.14309
	Stresten kaçış ve rahatlama sağlayan bir turizmdir.	1.5000	.96591
Genel beklenti	Ayaş'a maddi kaynak sağlar.	1.2347	.70053
	Ayaş halkının doğal ve kültürel yapıyı koruma bilinci gelişir, farkındalık artar.	1.3980	.83407
	Yeni iş imkânları oluşturur ve girişimciliği teşvik eder.	1.2245	.63458
	Kültür alışverişi ve yeni dostluklar oluşur.	1.2347	.67045
	Ayaş'ın reklam ve tanıtımı sağlanır.	1.1633	.55042
	Yöresel yemek kültürünü geliştirir	1.1531	.48380
	Bilgilendirme ve yönlendirme çalışmalarını artırır.	1.3571	.80270
	Göçü önler.	1.6020	.97113
	Çöplerden kaynaklanan çevre kirliliği artabilir.	2.0714	.99742
	Yoğun baskı sonucu toprak sıkışması ve erozyon oluşabilir.	2.7653	.95032
	Yapılaşma artabilir.	1.8878	1.02427
	Turist sayısının fazlalığı sonucu alanın cazibesi azalabilir.	2.6429	.96591
	Yörenin ticarileşmesine ve pahalı olmasına yol açabilir.	2.0918	.97480
	Yaban hayvanlarının yaşam alanını olumsuz etkileyebilir.	2.6531	.97497
	Kültürel kimliğimizi olumsuz etkileyebilir.	2.7041	.85203
	Su kaynakları zarar görebilir.	2.7143	.82487
	Yoğun gürültü oluşabilir.	2.2143	.91099
Bitkilerin toplanması sonucu doğal bitki örtüsü zarar görebilir.	2.6327	.95667	
Orman yangınları artabilir.	2.6429	.91099	

Not: Katılıyorum (1), Kısmen katılıyorum (2), Katılmıyorum (3), Fikrim yok (4)

Kırsal turizm konusunda genel beklentilerin tespit edilmesine yönelik önermeler değerlendirildiğinde; “Ayaş'ın reklam ve tanıtımı sağlanır” ve “Yöresel yemek kültürünü geliştirir” önermelerine katıldıkları görülmektedir. “Yoğun baskı sonucu toprak sıkışması ve erozyon oluşabilir”, “Turist sayısının fazlalığı sonucu alanın cazibesi azalabilir”, “Yaban hayvanlarının yaşam alanını olumsuz etkileyebilir”, “Kültürel kimliğimizi olumsuz etkileyebilir”, “Su kaynakları zarar görebilir” ve “Orman yangınları artabilir” olumsuz önermelerine ise katılmadıkları tespit edilmiştir. Katılımcılar arasında, sürdürülebilir turizmin ekonomik gelişmeye katkı sağlayacağı görüşü hâkimdir. Ancak çevre üzerinde oluşabilecek baskı ya da olumsuz etkiler konusunda bir kaygı eksikliği fark edilmiştir. Çevre ile ilgili olumsuz önermelere katılmamış ya da kısmen katılmış olmaları kaygı eksikliğinin bir göstergesidir.

Kırsal turizm açısından ön plana çıkabilecek etkinliklerin tespit edilmesine yönelik soruya (birden fazla seçenek işaretlenebilen) verilen cevapların oransal dağılımı Çizelge 7’de görülmektedir.

Çizelge 7. Ayaş’ta kırsal turizm açısından ön plana çıkabilecek etkinlikler

	İfadeler	Kişi Sayısı	Yüzde değer (%)
Ön plana çıkabilecek aktiviteler	Doğa Sporları	39	39.8
	Doğa Yürüyüşü	44	44.9
	Manzara Seyri	26	26.5
	Botanik Turizmi	8	8.2
	Yaban Hayatı İzleme	7	7.1
	Organik Tarım Faaliyetleri	44	44.9
	Kültür-Sanat Turizmi	53	54.1
	Çadırılı-Karavanlı Kamp	14	14.3
	İnanç Turizmi	17	17.3
	Festival Turizmi	42	42.9
	Gastronomi Turizmi	22	22.4
<i>Fikrim Yok</i>	5	5.1	

Ekonomik bir geçim kaynağı olarak kırsal turizme bakış açısı birden fazla soru sorularak algılanmaya çalışılmıştır. Katılımcıların büyük çoğunluğu (%86), Ayaş’ta kırsal turizm faaliyetlerinin yapılmadığını düşünmektedir. Kırsal turizm faaliyetlerinin bir geçim kaynağı olabileceği görüşüne sahip olanların oranı (% 68.4) ise oldukça yüksektir. Katılımcılar arasında rehberlik eğitimi alan bireyler (% 10.2) bulunmaktadır. %49’u rehberlik konusunda yapılacak eğitimlere katılabileceklerini belirtmişlerdir. Sahip oldukları konutları turizm amacıyla konuklara açma fikrine çoğunluğu (% 54.1) sıcak bakmamaktadır. Ancak aynı soru arazileri için sorulduğunda çoğunluğunun (% 58.7) olumlu görüşe sahip olduğu da görülmektedir. Bunun en önemli nedeninin yaşanılan yere karşı duyulan aidiyet ve mahremiyet duygularının olduğu düşünülmektedir. Türk aile yapısında konut, aile bireylerinin bir arada yaşadığı, mahremiyet duygusunun hâkim olduğu bir mekân olmakla birlikte, komşu, akraba ve misafir ağırlamaya uygun yapıdadır. Örf ve adetlerin şekillendirdiği bu sosyal yapı içerisinde konut, ticarileştirilemeyen bir konuma sahiptir. Özellikle kırsal bölgelerde, yaşanılan konutun ortak olarak kullanılmasına Türk aile yapısı içerisinde genellikle rastlanmaz. Ancak aynı şeyler araziler için söylenemez. Çünkü arazi mahremiyet duygusunun konuta göre daha az olduğu, sosyalleşme olgusunun gerçekleşebildiği ve dışarıdan izlenebilen bir alandır.

Katılımcıların kırsal turizmden gelir elde etmek amacıyla yapabilecekleri faaliyetler, sorgulanmıştır. Alınan cevapların ortalamaları ve standart sapma değerleri Çizelge 8’de verilmiştir. “Organik tarım yaparak tarla ürünlerimi satabilirim” ve “Evimde hazırladığım yöresel yiyecek ve içecekleri satabilirim” önermelerine katıldıkları, “Rehberlik hizmeti verebilirim” ve “Evde yaptığım mutfak ürünlerini satabilirim” önermelerine ise kısmen katıldıkları görülmektedir. Katılımcıların “Evimi ya da evimin bir bölümünü pansiyon olarak değerlendirebilirim”, “Taşımacılık hizmeti verebilirim” ve “El sanatlarımızı öğretebilir ve satabilirim” önermelerine katılma oranı ise diğer önermelere göre oldukça düşüktür. Sunulan önermelerde fikrim yok seçeneğinin işaretlenme oranı önerme başına ortalama 1.42 kişidir.

Çizelge 8. Kırsal turizmden gelir elde etmek amacıyla yapılabilecek faaliyetler

	İfadeler	Mean	SS
Kırsal turizm kapsamında yapılabilecek faaliyetler	Evimi ya da evimin bir bölümünü pansiyon olarak değerlendirebilirim	2.1020	1.01015
	Taşımacılık hizmeti verebilirim	2.0204	1.01514
	Organik tarım yaparak tarla ürünlerimi satabilirim	1.5000	0.84035
	Evimde hazırladığım yöresel yiyecek ve içecekleri satabilirim.	1.4082	0.78434
	Rehberlik hizmeti verebilirim	1.8265	0.97416
	El sanatlarımızı öğretebilir ve satabilirim	2.0612	0.99293
	Evde yaptığım mutfak ürünlerini satabilirim	1.8061	0.97026

Katılımcılara sürdürülebilir turizm amaçlı yapılacak hangi kurslara katılmak istersiniz? sorusu sorulmuştur. En yüksek oranda “organik tarım (% 44.9)” ve “yöresel yemeklerin hazırlanması ve sunumu (% 32.7)” seçenekleri işaretlenmiştir. “El sanatları üretimi (% 26.5)”, “konaklama hizmetleri (% 25.5)” oranında işaretlenmiştir. Seçeneklerin hiçbirine katılmayanların oranı ise %16’dır.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Aidiyet duygusunun yoğun ve komşuluk ilişkilerinin kentlere göre daha samimi olduğu kırsal alanlarda gerçekleşen turizm faaliyetlerinin, temel aktörlerinden biri de yerel halktır. Yerel halkın tutumu, ilgi, bilgi ve beklentisi kırsal turizmin gelişimi ve doğal-kültürel kaynakların sürdürülebilirliği açısından anahtar role sahiptir. Yerel halktan gelen bu bilginin çalışmanın başında tespit edilmesi, planlama, tasarım ve yönetim süreçlerinin doğru kurgulanmasına katkı sağlayacaktır.

Kırsal alanlarda ekonomik etkinliklerin giderek azalması, tarım sektörünün yüz yüze olduğu problemler, kırsal nüfusun azalması gibi nedenlerle birçok batı ülkesinde turizm; kırsal alanların ekonomik ve sosyal yönden yeniden yapılandırılması için alternatif bir kalkınma stratejisi olarak değerlendirilmektedir (Cawley ve Gillmor, 2008; Aydın, 2012). Küresel turizm pazarında giderek daha popüler hale gelen kırsal turizmin, yapılan bazı çalışmalara göre; son yıllarda sadece gelişmiş değil, aynı zamanda gelişmekte olan ülkelerde de tercih edilme oranının arttığını göstermektedir (Frumkin, 2019).

Ülke politikaları, alanı kapsayan üst ölçekli planlar ve elde edilen bulgular değerlendirildiğinde Ayaş’ın kalkınmasında kırsal turizmin etkili bir alternatif olacağı söylenebilir. Muresan ve ark., (2015), Güney ve Göller (2016) ve Ongun ve ark., (2018) tarafından yapılan çalışmalarda da yöre halkının görüşleri bakımından benzer sonuçlar elde edilmiştir. Privitera (2010)’nın; “kırsal turizm, peyzajın ve kırsal yaşam biçimlerinin korunmasıyla birlikte yerel ilişkileri, kültürü ve gelenekleri de korumayı sağlar” görüşü de bu fikri desteklemektedir. Ancak kırsal peyzaj-geleneksel yaşam-turizm arasındaki dengeyi doğru yönetilmesi, hem faaliyetin hem de kaynakların sürdürülebilirliği açısından gereklidir. Fleischer ve Tchetchik (2005) tarafından yapılan çalışmada da; kırsal turizmin tarımla olan bağlantısında karşılıklı bir yarar ilişkisinin olup olmadığının sorgulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada vurgulanan bir diğer nokta; tarım-turizm dengesinin gözetildiği, yöre insanını sürece dâhil eden katılımcı bir yaklaşımla yürütülecek planlama çalışmalarının Ayaş’ın kalkınmasına ve doğal-kültürel değerlerin geleceğe taşınmasına katkı sağlayacağı görüşüdür. Temeli yerele ve yerel bilgiye dayanan katılımcı yaklaşımlar; planlama ve yönetim sürecinde karşılaşılan ekolojik-sosyolojik çatışmaları da engelleyebilmektedir Açıksöz ve ark., (2016), Gültekin ve ark., (2018), (Açıksöz ve ark., 2019) ve Baylan (2019) tarafından yapılan çalışmalarda da; planlama ve uygulamada katılımcılık anlayışının gerekliliğine değinilmektedir.

Ayaş, üst ölçekli planlarda turizm açısından anahtar konumda yer almasına rağmen, kırsal turizm konusunda beklenen gelişme henüz sağlanamamıştır. Doğal ve kültürel değerlerinin yeteri kadar tanıtılmaması, yöre halkının kaynakları verimli şekilde kullanamaması ekonomik ve turistik açıdan geri kalmasının en önemli nedenlerindedir. Nüfusun yaşlanması ve giderek azalması da kırsal turizmin gelişimini engelleyen bir diğer etmendir.

Ayaş’ın sahip olduğu potansiyelin yerelden başlayarak tanıtılması, kırsal turizm altyapısının oluşturulması ve sürdürülebilir bir yönetim anlayışının benimsenmesi kırsal turizmi yöre için etkili bir sektör haline getirecektir. Yaygın olarak yapılan tarımsal faaliyetler, Ayaş’ı Türkiye tarımının önemli bir noktasına taşıyacak niteliklere sahiptir. Son yıllarda üreticilerin yaşadığı sosyo-ekonomik sorunlardan dolayı üretim miktarının azalmış olduğu tespit edilen, yöreye özgü Ayaş dutu, Ayaş domatesi ve tiftik keçisi sadece Ayaş’ta üretilmektedir. Özellikle yaygın tarım kültürü ve yöreye özgü tarımsal ürünler marka potansiyeli taşımaktadır. Genç nüfusun ilgi duymaması nedeniyle giderek azalsa da; geleneksel tarım faaliyetleri, Ayaş’ta kırsal turizmi besleyecek en önemli aktivitelerden biridir. Bilinçli, verimli, insan ve çevre sağlığını koruyan, akıllı ve yenilikçi tarım uygulamaları konusunda farkındalığın artırılması, iyi tarım uygulamalarını destekleyecek ve kırsal turizm aktivitelerini çeşitlendirecektir. Üretim ve pazarlama konusundaki örgütlenme, tarım turizm hibe ve destekleri konusunda yapılacak bilinçlendirme çalışmaları, yöre halkının ve yerel yöneticilerin kırsal turizme ilgisini arttıracaktır.

Gelenek ve gelecek arasında organik bir köprü kurabilmek adına kırsal turizm, Ayaş için bir fırsattır. Yerel halkın farkındalığının ve görüşlerinin tespiti de, bu fırsatın doğru planlanması ve yönetilmesi için atılacak ilk adımdır.

## Teşekkür

Bu çalışmayı 2017-FEN-CY-014 No'lu proje kapsamında destekleyen Bartın Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederiz.

## Kaynakça

- Açıksöz, S., Bollukcu, P. & Cengiz Gökçe, G. (2019). Mimarlıkta Peyzaj Tasarımı. Aksoy, Y. (Eds.), *Peyzaj Planlama ve Tasarımında Katılımcı Yöntemler* (s. 207-230). Nobel Akademik Yayıncılık, 1. Basım, Yayın No: 2527 Mimari- Sanat No: 026 ISBN: 978-605-033-138-7
- Açıksöz, S., Bollukcu, P. & Çelik, D. (2016). Ecotourism and ethics in protected areas: Bartın-Söğütli village. *Oxidation Communications*, 39, No 4-II, 3621-3636.
- AFAD (2019). Türkiye afet haritaları. <https://www.afad.gov.tr/afet-haritalari> Erişim tarihi: 10.12.2019.
- Aydın, O. (2012). AB'de kırsal turizmde ilk 5 ülke ve Türkiye'de kırsal turizm. *KMÜ Sosyal ve Ekonomik Araştırmalar Dergisi*, 14 (23), 39-46.
- Baylan, E. (2019). Kültürel peyzaj ve yere bağlılık: Van Kenti örneği. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi (YYU J AGR SCI)*, 29(1), 10-23.
- Cawley, M. & Gillmor, D. A. (2008). Integrated rural tourism: concepts and practice, *Annals of Tourism Research*, 35 (2), 316-337.
- Cesur, A. (2019). *Ankara ili Ayaş ilçesi'nin doğal ve kültürel özelliklerinin kırsal turizm açısından değerlendirilmesi*. (MSc), Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Bartın, Türkiye.
- Critch M. (2016). City of Swan, Local Rural Planning Strategy 2016. <https://www.swan.wa.gov.au> Erişim tarihi: 01.03.2020.
- Cvijanović, D. & Gajić, T. (2019 Mayıs). *Tourism or not? A report from the South Bačka district* Paper presented at the Fourth International Scientific Conference Tourism in Function of Development of the Republic of Serbia Tourism as a Generator of Employment (TISC 2019), Thematic proceedings II p:82-99, Serbia.
- Doğan, G. (2012). *Ankara ili Ayaş ilçesinin kırsal turizm potansiyeli açısından değerlendirilmesi*. (MSc), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ankara, Türkiye.
- Duxbury, N. (2019 Mayıs). *Creative tourism in small cities and rural areas: lessons from the creatour project, Portugal* Paper presented at the Fourth International Scientific Conference Tourism in Function of Development of the Republic of Serbia Tourism as a Generator of Employment (TISC 2019), Thematic proceedings II p:64-81, Serbia.
- Emekli, G. & Baykal, F. (2011 Haziran). *Opportunities of utilizing natural and cultural resources of Bornova (Izmir) through tourism* Paper presented at the 2nd International Geography Symposium GEOMED 2010, Antalya, Türkiye. Paper published at Procedia Social and Behavioral Sciences 19 (2011) 181-189.
- Fleischer, A. & Tchetchik, A. (2005). Does rural tourism benefit from agriculture. *Tourism Management*, 26, 493-501.
- Frumkin, B. (2019 Mayıs). *Agritourism as a factor of rural development* Paper presented at the Fourth International Scientific Conference Tourism in Function of Development of the Republic of Serbia Tourism as a Generator of Employment (TISC 2019), Thematic proceedings II p:46-63, Serbia.
- Geng, X. (2019 Ekim). *A study on the revitalization of traditional villages in Southern Anhui based on the symbiosis theory: a case study of Nanping, Anhui province* Paper presented at the ATINER's Conference Paper Proceedings Series PLA2019-0159 Athens, Greece.
- Gültekin, P., Gültekin, Y. S., Uzun, O. & Gök, H. (2018). Katılımcı ekoturizm planlamasında yapısal eşitlik modellemesi ile paydaş analizi: Batı Karadeniz Bölgesi örneği. *Journal of Forestry*, 14 (2), 33-56.

- Güney, D. & Göller, V. (2016). Kırsal Turizm Konusunda Yerel Halkın Yaklaşımının Belirlenmesi: Misi Köyü Örneği. *Turizm Akademik Dergisi*, 3 (2), 25-36.
- İnci, U. (2012). *Ankara İli Ayaş İlçesi Balçiçek Evi Restorasyon Önerisi*. (MSc), Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Ankara, Türkiye.
- KTB. (2007). Türkiye Turizm Stratejisi 2023. Kültür ve Turizm Bakanlığı, Karar No: 2007/4, Tarih: 28/2/2007, Resmi Gazete Tarihi: 02/03/2007 Resmi Gazete Sayısı: 26450. Ankara, Türkiye.
- KTB. (2020). Ankara 1 Numaralı Kültür Varlıklarını Koruma Bölge Kurulu Müdürlüğü, Ankara İli Taşınmaz Kültür Varlığı Envanter Listesi. <https://korumakurullari.ktb.gov.tr/TR-88389/tasinmaz-kultur-varliklari.html> Erişim tarihi: 17.03.2020.
- Muresan, I. C., Oroian, C. F., Harun, R., Arion, F. H., Porutiu, A., Chiciudean, G. O., Todea, A. & Lile, R. (2016). Article local residents' attitude toward sustainable rural tourism development, *Sustainability*, 8, 100.
- Naing, L., Winn, T. & Rusli, B. N. (2006). Practical issues in calculating the sample size for prevalence studies. *Archives of Orofacial Sciences*, 1, 9-14.
- Ongun, U. & Gövdere, B. (2014). Bölgesel Kalkınmada Kırsal Turizmin Etkisi: Ağlasun Yeşilbaşköy Örneği, *Uluslararası Sosyal ve Ekonomik Bilimler Dergisi/International Journal of Social and Economic Sciences*, 4 (2), 51-57,
- Ongun, U., Kösekahyaoglu, L. & Gövdere, B. (2018). Perspective of Local People on Rural Tourism: The Case of Lavender Stream in Burdur/Akçaköy, *Turizm Akademik Dergisi*, 5 (1), 50-62.
- Privitera, D. (2010). The importance of organic agriculture in tourism rural. *Applied Studies in Agribusiness and Commerce APSTRACT* 04, 1-2 (59-64).
- Soykan, F. (2006 Nisan). *Avrupa'da kırsal turizme bakış açısı ve kazanılan deneyim* Paper presented at the II. Balıkesir Ulusal Turizm Kongresi, Balıkesir, Türkiye.
- Taş, İ., Eylemer, S. & Şemşit, S. (2016). Kırsal turizme bütünlük yaklaşım: Avrupa Birliği örneği, *Hitit Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, Yıl 9, Sayı 2, Aralık 2016, ss. 877-904.
- TATUTA. (2020). Tatuta projesi. <http://www.tatuta.org/?p=301&pg=10&lang=tr#tatuta>, Erişim tarihi: 23.07.2019.
- Turan, İ., Şimşek, Ü. & Aslan, H. (2015). Eğitim araştırmalarında likert ölçeği ve likert-tipi soruların kullanımı ve analizi, *Sakarya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*; (30): 186-203.
- TÜİK. (2018). 2017 Yılı Ulusal Eğitim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=130&locale=tr> Erişim tarihi: 19.11.2018.



## YuzuncuYil University Journal of Agricultural Science

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Research Article (Araştırma Makalesi)

### Factors Affecting the Adoption of Innovations in Dairy Cattle Farms in TR22 South Marmara Region of Turkey

Damla ÖZSAYIN\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çanakkale Onsekiz Mart University, Gökçeada Applied Sciences School, Department of Organic Farming Business Management, 17760, Gökçeada, Çanakkale-Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-1127-267X>

\*Corresponding author e-mail: dozsayin@comu.edu.tr

#### Article Info

Received: 11.05.2020  
Accepted: 07.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI:10.29133/yyutbd.735573

#### Keywords

Adoption,  
Dairy cattle,  
Innovation,  
Ordered probit model.

**Abstract:** The present study was aimed to define the factors affecting the adoption of innovations in dairy cattle farms in Balıkesir and Çanakkale provinces in TR22 South Marmara Region, Turkey. The data were collected from 221 farms by a stratified random sampling method. The study was performed between March and November 2019. This study was used the ordered probit model to evaluate the data. The results revealed that the age of the farmers, household size, dairy cattle experience, household income, the number of dairy cattle, frequency of the internet use, meeting frequency with other farmers and contact frequency with agricultural extension personnel had a positive impact on farmers' adoption of innovations; whereas farmers' contact frequency with veterinaries had a negative impact. As a result, farmers' adoption of innovations in dairy farming activity can be increased with farmers who are open to innovations regarding animal husbandry and knowledgeable about the importance and the necessity of innovations adoption.

### TR22 Güney Marmara Bölgesindeki Süt Sığırcılığı İşletmelerinde Yeniliklerin Benimsenmesini Etkileyen Faktörler

#### Makale Bilgileri

Geliş: 11.05.2020  
Kabul: 07.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI:10.29133/yyutbd.735573

#### Anahtar kelimeler

Benimseme,  
Süt sığırcılığı,  
Yenilik,  
Sıralı probit analiz.

**Öz:** Bu çalışmada; Türkiye'nin TR22 Güney Marmara Bölgesindeki Balıkesir ve Çanakkale illerindeki süt sığırcılığı işletmelerinde, yeniliklerin benimsenmesini etkileyen faktörlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Veriler, tabakalı tesadüfi örnekleme yöntemi ile 221 süt sığırcılığı işletmesinden toplanmıştır. Çalışma Mart ve Kasım 2019 arasında gerçekleştirilmiştir. Çalışma verilerini değerlendirmek için sıralı probit model kullanılmıştır. Çiftçilerin yaşı, hane halkı büyüklüğü, çiftçilerin süt sığırcılığı deneyimi, hane halkı geliri, süt sığırcılığı sayısı, internet kullanım sıklığı, diğer çiftçilerle görüşme sıklığı ve tarımsal yayım personeli ile iletişim sıklığı değişkenlerinin, çiftçilerin yenilikleri benimsemesi üzerinde olumlu etkisinin olduğunu ortaya koymuştur; oysa çiftçilerin veterinerler ile iletişim sıklığı olumsuz şekilde etkilemiştir. Sonuç olarak; süt sığırcılığı faaliyetinde çiftçilerin yenilikleri benimsemesi, hayvancılık faaliyeti ile ilgili yeniliklere açık olan ve yenilikleri benimsemenin önemi ve gerekliliği hakkında bilgi sahibi olan çiftçilerle artırılabilir.

## 1. Introduction

Livestock sector is an important in economics of a country. This sector is important in terms of providing adequate and balanced nutrition, providing cash flow to household and reducing unemployment in rural areas (Aksoy et al., 2011; Yener and Oğuz, 2017). Therefore, farmers' keeping up with these changes by following their new technologies or innovations and current developments is rather important in terms of sustainability of livestock activity. However, the level of adopting innovations depending on the standard of living, the society structure and the economic contribution of these innovations (Sezgin et al., 2010). Also, modernization efforts in animal husbandry start with advancement of technology in rural areas. Hence, farmers should be supported to use new technologies. In Turkey, TR22 South Marmara Region has an important place in regards to the number of livestock. According to the area classification of NTUS-2 (Nomenclature of Territorial Units for Statistics-2) by TURKSTAT (Turkish Statistical Institute), TR22 South Marmara Region covers the provinces of Balıkesir and Çanakkale. The region has about 5.41% of total bovine animal population of Turkey. In the region, there has been significant increases in culture breeds in animal population in recent years and the share of culture breeds was approximately 77.3% in 2019. Also, approximately 6.15% of total milk production of Turkey is provided from this region (TURKSTAT, 2019). Hence, it can be said that adoption to new technologies or innovations for the development of farms in research area is an important. In the literature, there are many studies about adoption of innovations (Kebede, 1990; Boz et al., 2011; Yener and Oğuz, 2017). However, there is no comprehensive study conducted in Balıkesir and Çanakkale provinces in TR22 South Marmara Region in relation to this subject. Also, it is thought to be an important determination of factors affecting farmers' decisions about innovations adoption for development of the dairy farming in the region. For this reason, this study was performed in TR22 South Marmara Region, which is one of the most important regions of Turkey in terms of dairy cattle activity. The purpose of the present study is to explain the factors affecting farmers' decisions about the adoption of innovations in dairy cattle farms in Balıkesir and Çanakkale provinces that cover of TR22 South Marmara Region. To explain the issues defined in the objective of the study, the following hypotheses were tested:

$H_0$ =Communication behaviours, socio-economical and farm characteristics have no significant influence on farmers' adoption of innovations,

$H_1$ =Communication behaviours, socio-economical and farm characteristics have a significant influence on farmers' adoption of innovations.

The results of this study are expected to make important contributions in terms of farmers' adopting innovations and providing useful information for agricultural extension organizations and other researchers.

## 2. Material and Methods

Research data was obtained from dairy cattle farms in Balıkesir and Çanakkale provinces in TR22 South Marmara Region through survey method between March and November 2019. The data were gathered by face-to-face interview technique. The number of animal in farms was taken into consideration for determining farms whose main income source is dairy farming in these districts. According to data of Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Forestry, districts that are the most representative to provinces in terms of the number of animal were determined as Altıeylül district from Balıkesir province, and Biga district from Çanakkale province. The number of farms in these districts was constituted the target population of the research. According to the frequency distribution of the target population, the number of dairy cattle were divided into three groups. The stratified random sampling method was used in determination of the number of farms that entered the sample from the target population. The size of each sample was found by using Neyman method (Yamane, 1967; Sezgin et al., 2010). This method is as follows;

$$n = \frac{(\sum N_h S_h)^2}{N^2 D^2 + \sum N_h S_h^2}, D^2 = d^2 / z^2 \quad (1)$$

where, the sample size (221) is  $n$ , total the number of farms in districts (11.968) is  $N$ , the number of farms in the  $h$  stratum is  $N_h$ , the standard deviation for the  $h$  stratum is  $S_h$ , the variance for  $h$  stratum is  $S_h^2$ ,  $d$  is desired absolute precision ( $\bar{X} * 0.05$ ;  $\bar{X}=14.22$ ),  $z$  is desired confidence level (1.96 for 95%),  $D$  is acceptable error limit in population mean. The sample size was formed by dividing the farms in the two districts to strata based on the number of dairy cattle and then by randomly selecting the farms in these strata. The farms were divided into three groups as 2 to  $\leq 15$  cattle (92 farms), 16 to  $< 27$  cattle (52 farms) and equal 28 and  $> 28$  cattle (77 farms). The total sample size was determined as 221 farms.

Descriptive statistics were used to define farmers' communication behaviours, socio-economical and farm characteristics. To determine factors affecting decisions of farmers about the adoption of innovations, the ordered probit model was used. The adoption to define factors influencing an individual's decision about the innovations and an innovation can be described as new idea, product, practice and technical change that is perceived as new by an individual (Rogers, 1995; Boz and Akbay, 2005). Therefore, 23 innovations with regard to dairy cattle activity were determined in order to form the response variable in this model. According to the responses of farmers for these innovations, three adoption groups were created. Thus, farmers who adopted 8 or less innovations were allocated to the low level adoption group, those who adopted between 9 and 17 were allocated to the medium level adoption group, and those who adopted 18 or more were allocated to the high level adoption group. In this context, the dependent variable has three discrete response categories. The dependent variable in this study takes discrete values (McLean-Meynsse, 1997). Therefore, this model is the most appropriate among the statistical models and they have a natural ordering. Thus, the dependent variable that indicates to adoption levels of innovations of farmers was coded as 0=low, 1=medium, 2=high. STATA software was used for analysis of data (STATA, 2005). The ordered probit model is represented as follows:

$$y^* = \beta'x_i + \varepsilon, \quad \varepsilon \sim N[0,1], \quad y = 0 \text{ if } y^* \leq 0, \quad y = 1 \text{ if } 0 < y^* \leq \mu_1, \quad y = 2 \text{ if } \mu_1 < y^* \leq \mu_2 \quad (2)$$

where  $y^*$  is an observed,  $y$  is observed response variable with three adoption levels,  $\beta'$  is a vector of unknown parameters to be determined,  $x$  is vector of independent variables,  $\varepsilon$  is a vector of random stochastic error terms assumed to be  $N[0,1]$  and  $\mu$  is threshold values (McLean-Meynsse, 1997).

$$\text{prob}(y=0) = \Phi(-\beta'x), \quad \text{prob}(y=1) = \Phi(\mu_1 - \beta'x) - \Phi(-\beta'x), \quad \text{prob}(y=2) = \Phi(\mu_2 - \beta'x) - \Phi(\mu_1 - \beta'x) \quad (3)$$

where,  $\Phi$  is the cumulative standard normal distribution function. The log likelihood function is the sum of the individual respondents' log probabilities and expressed as follows:

$$L = \sum_{y=0} \log \Phi(-\beta'x) + \sum_{y=1} \log [\Phi(\mu_1 - \beta'x) - \Phi(-\beta'x)] + \sum_{y=2} \log [1 - \Phi(\mu_1 - \beta'x)] \quad (4)$$

Marginal effects can be calculated as follows:

$$\frac{\partial P(y_i=j)}{\partial x_k} = [\Phi[\mu_{j-1} - \sum_{k=1}^k \beta_k x_k] - \Phi[\mu_j - \sum_{k=1}^k \beta_k x_k]] \beta_k \quad (5)$$

where,  $\partial P / \partial x_k$  is the partial derivative of the probability with respect to independent variable  $x_k$ . Thus, marginal effects in this model measure the response of farmers' decisions about the adoption of innovations when there is a unit change in the independent variables.

### 3. Results and Discussion

In Table 1, 23 innovations are presented in order to determine farmers' adoption level of innovations in dairy cattle activity. The most adopted innovation by farmers among these innovations was regular drug use for internal and external parasites (90.5%).



Table 1. Farmers' adoption level of innovations

Innovations	Applied		Not applied		Not aware	
	Number	%	Number	%	Number	%
Regular use of veterinarian services	138	62.4	73	33.0	10	4.5
Growing fodder crops	119	53.8	100	45.2	2	0.9
Animal insurance	71	32.1	144	65.2	6	2.7
Using concentrated feeds	165	74.7	56	25.3	-	-
Milking with machine	62	28.1	158	71.5	1	0.4
Using vitamins for animal feeding	96	43.4	116	52.5	9	4.1
Using minerals for animal feeding	91	41.2	120	54.3	10	4.5
Automatic watering	59	26.7	150	67.9	12	5.4
Automatic feeding	49	22.2	165	74.6	7	3.2
Vaccination against brucellosis	77	34.8	128	60.0	16	7.2
Vaccination against anthrax	82	37.1	121	54.8	18	8.1
Vaccination against charbon	134	60.6	74	33.5	13	5.9
Vaccination against mastitis	72	32.6	149	67.4	-	-
Buying animals with a veterinarian control	89	40.3	121	54.8	11	4.9
Dehorning of calves	62	28.1	137	62.0	22	9.9
Colostrum feeding for newborn calves	163	73.8	50	22.6	8	3.6
Considering crude protein ratio of feed ration	74	33.5	108	48.9	39	17.6
Considering roughage and concentrate feed ration	82	37.1	139	62.9	-	-
Embryo transfer for animal breeding	3	13.4	153	69.2	65	29.4
Regular drug use for internal and external parasites	200	90.5	15	6.8	6	2.7
Private unit for pregnant and sick animals in the barn	151	68.3	64	29.0	6	2.7
Recordkeeping for animal diseases	37	16.7	175	79.2	9	4.1
The existence of foot bath	36	16.3	178	80.5	7	3.2

According to these innovations, it was determined that the adoption level of innovations of 41.6% of farmers were low, 50.7% were medium and 7.7% were high (Table 2). Türkyılmaz et al. (2003) reported that the adoption level of innovations in 19.7% of dairy farms were determined to be high. Boz et al. (2011) found that the adoption level of innovations of 13.1% of farmers were high. Thus, it can be said that the adoption ratio of innovations at a high level of farmers in this study is lower than the findings of previous studies. In this study, the average age of farmers was 48.2 and 45.7% of them were aged between 36 and 51. The average age of farmers was reported to be 44.6, 42.0 and 53.6, respectively in previous studies (McLean-Meynsse, 1997; Boz et al., 2011; Çukur, 2016). Thus, the average farmers' age in this study is higher than the values explained by McLean-Meynsse (1997) and Boz et al. (2011), and lower than the value explained by Çukur (2016). The average household size was 3.94 persons in this study. In Turkey, the average household size was 3.4 persons in 2019. McLean-Meynsse (1997) reported that the average household size was found to be 2.91. Thus, it can be said that the average household size in this study is higher than the findings of previous study and the average household size value at national level. In the present study, the average experience of dairy farmers was 24.1 years. Çukur (2016) found that farmers' dairy farming experience was 28.4 years. Thus, it can be said that the dairy cattle experience of the farmers in this study is lower than the findings of previous study. In this study, the majority of the farmers (45.7%) had medium income level (€2819-€5612). Similar results were reported by McLean-Meynsse (1997), Boz et al. (2011) and Çukur (2016). In this study, 48.4% of farmers had the number of dairy cattle more than 50 head. Hence, it can be said that farmers are in efforts to develop dairy cattle activities. It was found that 52.9% of farmers used internet several times a week. Previous studies showed that farmers almost never use the internet (Boz et al., 2011; Boz, 2014). Thus, it can be said that these results are not congruent with the findings of previous studies, and the ratio of farmers' frequency of the internet use in present study is higher than the ratios that were found in previous studies. Farmers' frequency of meeting with other farmers (30.3%) was found to be at least once a week in the present study. Boz et al. (2011) found that 57% of farmers were reported to meet with other farmers in the village at least once a week. In another study, farmers' frequency of meeting with other farmers was determined as several times a week (Boz, 2014). Thus, it can be said that these results were congruent with the findings from Boz et al., (2011), but not with those from Boz (2014). In this study, farmers' contact frequency with veterinaries (47.5%) was found to be several times a year. Boz (2014) reported that 47% of farmers' contact with private veterinaries were determined as several times a month. Thus, it can be said that the findings of this study are not congruent with the results of previous study, and farmers in the research area have less

contact with veterinarians compared to farmers in Eastern Mediterranean Region. Farmers' contact frequency with agricultural extension personnel (17.6%) were found to be at least once a week in present study. Boz (2014) found that 36% of farmers' contact with extension personnel were determined as at least once a month. Thus, it can be said that the findings of this study are not congruent with the results of previous study and farmers in the research area have more frequent contact with agricultural extension personnel compared to farmers in Eastern Mediterranean Region.

Table 2. Definition of variables used in the ordered probit model (n=221)

Variables	Name of the variables	Frequency	%	Mean	**SD
<b>Dependent variables</b>					
Adoption of innovations	ADOPT				
0=Low level		92	41.6		
1=Medium level		112	50.7		
2=High level		17	7.7		
<b>Independent variables</b>					
Age (year)					
1= $\leq$ 35 ; 0 otherwise	AGE1	40	18.1	0.18	0.46
1=36-51 ; 0 otherwise	AGE2	101	45.7	0.46	0.50
1= $\geq$ 51 ; 0 otherwise	AGE3	80	36.2	0.36	0.48
Household size (person)	HSIZE	221	100.0	3.94	1.77
Dairy cattle experience (year)	DAFE	221	100.0	24.1	12.1
*Household income (€year <sup>-1</sup> )					
1=Low income ; 0 otherwise	INCOME1	34	15.4	0.15	0.36
1=Medium income ; 0 otherwise	INCOME2	101	45.7	0.46	0.49
1=High income ; 0 otherwise	INCOME3	86	38.9	0.39	0.48
Number of dairy cattle (head)					
1= $\leq$ 20 ; 0 otherwise	NUM1	41	18.6	0.19	0.39
1=21-50 ; 0 otherwise	NUM2	73	33.0	0.33	0.47
1= $\geq$ 50 ; 0 otherwise	NUM3	107	48.4	0.48	0.50
Frequency of the internet use					
1=At least several times a week ; 0 otherwise	INTER	117	52.9	0.53	0.50
Meeting frequency with other farmers					
1=At least once a week ; 0 otherwise	MEFAR	67	30.3	0.30	0.46
Contact frequency with veterinarians					
1=At least once a week ; 0 otherwise	VET1	54	24.4	0.24	0.43
1=One a month ; 0 otherwise	VET2	62	28.1	0.28	0.45
1=Several times a year ; 0 otherwise	VET3	105	47.5	0.48	0.50
Contact frequency with agricultural extension personnel					
1=At least once a week ; 0 otherwise	EXTEN	39	17.6	0.18	0.38

\*1 Euro=6.22 TRY (Turkish lira) in April 2019 (Low income ( $\leq$ €2818.9), medium income (€2819-€5612), high income ( $\geq$ €5612), \*\*SD=Standart deviation.

In this study, the McFadden's pseudo R-squared value and likelihood ratio (LR) were calculated to test the goodness of fit of the established model and its explanatory power. The LR and chi-square statistic ( $\chi^2$ ) values were calculated as 62.02 and 22.36, respectively. The null hypothesis at 5% significance was rejected because the LR value was found to be greater than  $\chi^2$  value. Thus, all these results revealed that this model is statistically significant and fits for the study. The results of this model and marginal effects of the variables are described in Table 3. AGE2, HSIZE, INCOME2, NUM3, INTER, MEFAR and VET3 were statistically significant at 5% level and DAFE, INCOME3, and EXTEN were statistically significant at 1% level. These results showed that the importance of communication behaviours, socio-economical and farm characteristics on farmers' adoption of innovations. In this study, age had a positive influence on farmers' adoption of innovations, indicating that increase in the age of farmers would bring about higher likelihood of adopting of innovations. Thus, a one-year increase in farmers' age between 36 and 51 years old compared to farmers 35 years and younger would decrease the likelihood of being low level adopters by 17.4%, while it increases the likelihood of being medium level and high level adopters by 13.3% and 4.1%, respectively. Hence, it can be said that middle-aged farmers are more likely to adopt innovations compared to younger farmers. Similar results were reported by Boz et al. (2011) and Boz (2014). However, these results are not congruent with those of Aksoy et al. (2011) and Dhraief et al. (2018), which concluded that there was a

negative correlation between the farmers' age and the adoption of innovations. Thus, it can be said that it is important to make informative meetings about the innovations that can be applied in dairy farming activity to young and middle-aged farmers in the research area and striving towards increase their tendency to adopt innovations.

Table 3. Factors affecting farmers' adoption of innovations

Variables	Coefficient	Standard error	z-statistic	p-value> z  (probability)	Marginal Effects		
					Adoption levels of innovations		
					Low	Medium	High
AGE2	0.46012	0.22267	2.07	0.039*	-0.174	0.133	0.041
AGE3	0.11011	0.23272	0.47	0.636	-0.042	0.033	0.009
HSIZE	0.10874	0.04817	2.26	0.024*	-0.041	0.033	0.009
DAFE	0.02153	0.00746	2.88	0.004**	-0.001	0.006	0.002
INCOME2	0.63601	0.24929	2.55	0.011*	-0.242	0.189	0.053
INCOME3	0.71786	0.25769	0.79	0.005**	-0.275	0.219	0.055
NUM2	0.43646	0.24897	1.75	0.080	-0.162	0.119	0.042
NUM3	0.55163	0.23448	2.35	0.019*	-0.208	0.160	0.048
INTER	0.42503	0.17735	2.40	0.017*	-0.162	0.127	0.035
MEFAR	0.39689	0.18968	2.09	0.036*	-0.147	0.109	0.039
VET2	-0.08243	0.23936	-0.34	0.731	0.032	-0.025	-0.007
VET3	-0.47425	0.21417	-2.21	0.027*	0.181	-0.141	-0.040
EXTEN	0.75136	0.22656	3.32	0.001**	-0.256	0.159	0.097
/cut 1	0.98369	0.45817					
/cut 2	3.03482	0.49421					
McFadden's pseudo R-squared = 0.15			log likelihood (L <sub>0</sub> )= -200.35291				
log likelihood (L <sub>1</sub> )= -169.34503			likelihood ratio (LR)= 62.02				
Prob>chi square (chi <sup>2</sup> )= 0.000(Probability)			LR>chi <sup>2</sup> (13) <sub>(0.05)</sub> = 62.02>22.36				

The levels of significance: \*p<0.05; \*\*p<0.01; Variables: AGE2: 36-51 years old; HSIZE: household size; DAFE: dairy cattle experience; INCOME2: medium income; INCOME3: high income; NUM3: ≥50 head; INTER: frequency of the internet use; MEFAR: meeting frequency with other farmers; VET3: contact frequency with veterinarians; EXTEN: contact frequency with agricultural extension personnel.

The size of household had a positive effect on farmers' adoption of innovations, implying that increase in the farmers' household size would bring about higher likelihood of being adoption of innovations. Thus, an increase in the household size of the farmers by one person would decrease the likelihood of being low level adopters by 4.1%, while it increases the likelihood of being medium level and high level adopters by 3.3% and 0.9%, respectively. Similar results were reported by Jerop et al. (2018). However, these results are not congruent with those of Kılıçtek and Aksoy (2019), which concluded that there was a negative correlation between farmers' size of household and the adoption of innovations. Thus, it can be said that farmers seek ways that will increase the income obtain from dairy farming in order to meet the households' food and other requirements when the number of individuals in a household increases. Therefore, it is anticipated that these farmers are more likely to adopt and keep up with these changes by following new technologies or innovations. These findings suggest that large households are more likely to adopt innovation compared to small households. It was found that dairy cattle experience had a positive effect on farmers' adoption of innovations, implying that increase in the farmers' dairy cattle experience would bring about higher likelihood of adopting innovations. Thus, a one-year increase in dairy cattle experience of farmers would decrease the likelihood of being low level adopters by 0.1%, while it increases the likelihood of being medium level and high level adopters by 0.6% and 0.2%, respectively. Thus, years of dairy cattle experience of farmers showed a direct relationship with adoption of innovations, indicating that increase in dairy cattle experience of farmers inclined to increase the likelihood of adopting innovations. Also, this should be ascribed to the fact that farmers with higher experience about dairy farming will have good understanding of production technology and benefits of innovations adoption. Findings on dairy cattle experience of farmers in this research, agreed with the findings of the study conducted in Indonesia (Kariyasa and Dewi, 2011). In contrast with Saliu et al. (2016) and Dhraief et al. (2018) who asserted that there was a negative relationship between the dairy cattle experiences of the farmers and the adoption of innovations. Thus, it can be said that older farmers with long experience are more receptive to adopting innovations and modern technologies compared to young farmers. It was found that household income had a positive influence on farmers' adoption of innovations, implying that increase in the farmers' income would bring

about higher likelihood of adopting innovations. Thus, a one-unit increase in household income of farmers who have medium income compared to low income farmers would decrease the likelihood of being low level adopters by 24.2%, while it increases the likelihood of being medium level and high level adopters by 18.9% and 5.3%, respectively. Also, a one-unit increase in household income of farmers who have high income compared to low income farmers would decrease the likelihood of being low level adopters by 27.5%, while it increases the likelihood of being medium level and high level adopters by 21.9% and 5.5%, respectively. These results are congruent with the findings from the studies of Aksoy et al. (2011), Jerop (2018) and Kılıçtekin and Aksoy (2019). However, the findings contradict the results by Asfaw and Neka (2011), which indicated that income had a negative effect on the adoption of innovations. The results showed that the importance of the income increase in farmers' adoption of innovations. Also, it can be said that the low income is an important constraint to reach technology and innovations of farmers. These results revealed that farmer with high income was more likely to adopt than farmer with low income. In this context, supports should be provided towards increasing the income of farmers to encourage innovations adoption. It was found that the number of dairy cattle had a positive impact on farmers' adoption of innovations, implying that increase in the number of dairy cattle would bring about higher likelihood of adopting innovations. Thus, a one-unit increase in the number of dairy cattle of farmers who have over 50 head dairy cattle compared to farmers who have fewer than 20 head dairy cattle would decrease the likelihood of being low level adopters by 20.8%, while it increases the likelihood of being medium level and high level adopters by 16% and 4.8%, respectively. Findings on the number of dairy cattle of farmers agreed with the findings of the studies conducted in Tunisia (Dhraief et al., 2018). Results indicate that livestock owners with a high herd size have a higher tendency to adopt innovations. Farmers go out of their social environment as a result of benefiting from mass communication tools (television, internet etc). This can be accepted as an indicator of farmers' using modern information resources in agricultural activities (Boz, 2014). Frequency of the internet use had a positive effect on farmers' adoption of innovations, implying that increase in the frequency of the internet use of farmers who use internet at least several times a week compared to other farmers would bring about higher likelihood of adopting innovations. Thus, a one-unit increase in frequency of internet use of farmers who use internet at least several times a week would decrease the likelihood of being low level adopters by 16.2%, while it increases the likelihood of being medium level and high level adopters by 12.7% and 3.5%, respectively. These results are in line with the findings of Boz et al. (2011) and Boz (2014). Thus, it can be said that farmer is more likely to learn innovations from this mass media tools depending on their frequency of internet use. Also, it can be concluded that if farmers' internet use increase, they are likely more innovative and tend to be early adopters of innovations. Thus, internet usage training courses should be organized by agricultural extension personnel in order to increase internet use of farmers. Innovations are accepted within a certain time in a society. Changes in this spreading rate depend on the socio-economic characteristics and communication behaviours of individuals who make up a society (Yener and Oğuz, 2017). In this study, it was found that farmers' frequency of meeting with other farmers had a positive effect on farmers' adoption of innovations, implying that increase in meeting frequency of farmers who meeting with other farmers at least once a week compared to other farmers would bring about higher likelihood of adopting innovations. Thus, a one-unit increase in farmers' frequency of meeting with other farmers at least once a week would decrease the likelihood of being low level adopters by 14.7%, while it increases the likelihood of being medium level and high level adopters by 10.9% and 3.9%, respectively. These results were supported by findings of Yener and Oğuz (2017), which showed that there was a positive correlation between farmers' frequency of meeting with other farmers and the adoption of innovations. Thus, it can be said that farmer are more likely to learn innovations depending on farmers' frequency of meeting with other farmers, and other farmers were affected by farmers who adopt innovations. Therefore, farmers who adopt innovations may be given trainings on existing innovations and it may be provided to creating exemplary behaviors of farmers. In this study, it was found that farmers' contact frequency with veterinarians had a negative influence on farmers' adoption of innovations. Thus, a one-unit decrease in contact frequency of farmers who make contact frequency with veterinarians several times a year compared to those who make contact frequency with veterinarians at least once a week would increase the likelihood of being low level adopters by 18.1%, while it decreases the likelihood of being medium level and high level adopters by 14.1% and 4.0%, respectively. Findings on the contact frequency with veterinarians of farmers in this research, disagreed with the results of Boz et al. (2011) and Boz (2014), which indicated that farmers'

contact frequency with private veterinarian had a positive influence on the adoption of innovations. Hence, it can be said that the contact frequency with veterinaries of farmers is quite insufficient. Because, farmers' contact veterinaries depending on their need in animal husbandry. It is important to hold meetings to increase the probabilities farmers' benefit from veterinarians in order to have an impact on the adoption of innovations. In this study, it was found that farmers' contact frequency with agricultural extension personnel had a positive impact on farmers' adoption of innovations, implying that increase in contact frequency of farmers who contact with agricultural extension personnel at least once a week compared to other farmers would bring about higher likelihood of adopting innovations. Thus, a one-unit increase in contact frequency of farmers who contact with agricultural extension personnel at least once a week would decrease the likelihood of being low level adopters by 25.6%, while it increases the likelihood of being medium level and high level adopters by 15.9% and 9.7%, respectively. These findings are consistent with the results of Dhraief et al. (2018) and Jerop et al. (2018). These results are supported by Rogers (1995)' generalizations which show that as farmers have more contacts with extension personnel, they disposed to be early adopters of innovations. Thus, it can be said that if farmers have more communicate with extension personnel, they are likely more innovative farmers, and this characteristic makes it possible for them to benefit from innovations. Therefore, their communication with agricultural extension personnel should be increased in order to provide information about innovations for farmers.

#### 4. Conclusion

The results of this research concluded that middle-aged farmers are more likely to adopt innovations. Hence, it should be provided to make informative meetings about the innovations that can be applied in dairy farming activity to young and middle-aged. In research area, older farmers with long experience are more receptive to adopting innovations and modern technologies. Also, farmer with high income is more likely to adopt than farmer with low income. In this context, support should be provided to increase the farm income of farmers to encourage innovations adoption. Farmer are more likely to learn innovations from this mass media tools depending on their frequency of internet use. Hence, internet usage training courses should be organized in order to increase internet use of farmers by agricultural extension personnel. The contact frequency with veterinaries of farmers is quite insufficient. Hence, it is important to hold meetings to increase the probabilities farmers' benefit from veterinarians.

#### References

- Aksoy, A., Külekçi, M., & Yavuz, F. (2011). Analysis of the factors affecting the of adoption of innovations a in dairy farms in Erzurum province, Turkey. *African Journal of Agricultural Research*,6,2966-2970.
- Asfaw, S., Shiferaw, B., Simtowe, F., & Haile, M. G. (2011). Agricultural technology adoption, seed access constraints and commercialization in Ethiopia. *Journal of Development and Agricultural Economics*,3, 436-447.
- Boz, İ., & Akbay, C. (2005). Factors influencing the adoption of maize in Kahramanmaraş province of Turkey. *Agricultural Economics*,33, 431-440.
- Boz, İ., Akbay, C., Bas, S., & Budak, D. B. (2011). Adoption of innovations and best management practices among dairy farmers in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*,10, 251-261.
- Boz, İ. (2014). Determination of best management practices and innovations in beef cattle farming and their adoption in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*,20, 552-562.
- Çukur, T. (2016). Factors affecting dairy farmers' application of agricultural innovations: a case study from Muğla province. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*,4, 611-617.
- Dhraief, M. Z., Bedhiaf-Romdhani, S., Dhehibi, B., Oueslati-Zlaoui, M., Jebali, O., & Ben Youssef, S., (2018). Factors affecting the adoption of innovative technologies by livestock farmers in Arid Area of Tunisia. *FARA Research Report*,3, 1-22.
- Jerop, R., Dannenberg, P., Owuor, G., Mshenga, P., Paul, K., Maximilian, W., & Gideon, H. (2018). Factors affecting the adoption of agricultural innovations on underutilized cereals: the case of

- finger millet among smallholder farmers in Kenya. *African Journal of Agricultural Research*, 13, 1888-1900.
- Kariyasa, K., & Dewi, A. (2011). Analysis of factors affecting adoption of integrated crop management farmer field school (Icm-Ffs) in Swampy areas. *International Journal of Food and Agricultural Economics*, 1, 29-38.
- Kebede, Y., Gunjal, K., & Coffin, G. (1990). Adoption of new technologies in Ethiopia an agriculture: the case of Tegulet- Bulga district Shoa province. *Agricultural Economics*, 4, 27-43.
- Kılıçtekin, A., & Aksoy, A. (2019). Evaluation with regards to adoption of innovations of dairy milk business managements in Erzurum province. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 6, 424-431.
- McLean-Meynsse, P. E. (1997). Factors influencing early adoption of new food products in Louisiana and Southeast Texas. *Journal of Food Distribution Research*, 28, 1-10.
- Rogers, E. M. (1995). Diffusion of Innovations. Free Press, New York.
- Saliu, J. O., Ibrahim, M. K., & Eniojukan, F. O. (2016). Socio-economic determinants of improved rice technologies' adoption among small scale farmers in Kogi State, Nigeria. *Facta Universitatis Series: Economics and Organization*, 13, 217 - 232.
- Sezgin, A., Kaya, E. T., Külekçi, M., & Kumbasaroğlu, H. (2010). Impact analysis on the adoption of the innovations generated for agricultural production: the case of Erzurum province. In: *Proceedings of the 9th National Congress of Agricultural Economics*, Şanlıurfa.
- STATA. (2005). Stata Longitudinal/Panel Data Reference Manual. College Station, TX: StataCorp LP.
- TURKSTAT. (2019). Statistical indicators. Turkish Statistical Institute. Livestock Statistics Annual Report. <http://www.turkstat.gov.tr/>. Accessed: May 21, 2019)
- Türkyılmaz, M. K., Bardakcıoğlu, H. E., & Nazlıgül, A. (2003). Socio-economic factors affecting the adoption of innovations in dairy enterprises in Aydın. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27, 1269-1275.
- Yamane, T. (1967): Elementary Sampling Theory. Englewood Cliffs. Prentice-Hall Inc, New Jersey.
- Yener, A., & Oğuz, C. (2017). Economic analysis of dairy cattle enterprises: the case of Konya province. *European Countryside*, 9, 263-273.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Araştırma Makalesi (Research Article)

**Toprakta Laktik Asit ve Fumarik Asit Salgılayan Önemli Bazı Fosfat Çözücü Fungusların Belirlenmesi**

**İdris BEKTAŞ\*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Amasya Üniversitesi, Suluova Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Amasya, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-7409-4837>

\*Sorumlu yazar e-posta: [idris.bektas@amasya.edu.tr](mailto:idris.bektas@amasya.edu.tr)

**Makale Bilgileri**

Geliş: 17.02.2020  
Kabul: 06.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI:10.29133/yyutbd.689363

**Anahtar kelimeler**

Fosfor çözücü fungus,  
Fumarik asit,  
Laktik asit,  
NBRIP,  
Organik asit.

**Öz:** Bu çalışma, Amasya ilindeki farklı tarım alanlarında yetişen farklı bitkilerin rizosfer kısmındaki topraktan fosfor (P) çözen fungusların izolasyonu, mikroskopik tanımlanması ve organik asit sentezlerinin belirlenmesi amacı ile yapılmıştır. Rizosfer toprağından NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate) katı besiyeri kullanılarak 8 farklı fosfor çözen fungus izole edilmiştir. Funguslar spor karakteristik özelliklerine göre cins düzeyinde *Botrytis* spp., *Alternaria* spp., *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp. ve *Cladosporium* spp. olarak belirlenmiştir. İzolatlar arasında nicel olarak en yüksek oranda P çözen izolatın 52.98 mg/ml ile *Penicillium* spp izolatu belirlenirken en düşük miktarda P çözen 29.8 mg/ml ile *Cladosporium* spp. izolatu belirlenmiştir. Aynı zamanda fungus izolatlarının salgıladıkları toplam Laktik ve Fumarik organik asit miktarlarının çözünen P ile doğru orantılı ve pH ile ters orantılı olduğu belirlenmiştir. İzolatlar arasında en yüksek oranda organik asit sentezleyen 12.475 mg/ml ile *Penicillium* spp. izolatu olurken, en düşük oranda 10.268 mg/ml ile *Cladosporium* spp. izolatu belirlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada fungusların çözdüğü P ile sentezledikleri toplam organik asit miktarı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

**Determination of Some Important Phosphorus Solubilising Fungi Secreting Lactic Acid and Fumaric Acid in Soil**

**Article Info**

Received: 17.02.2020  
Accepted: 06.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI:10.29133/yyutbd.689363

**Keywords**

Phosphorus solubilising  
Fungi,  
Fumaric acid,  
Lactic acid,  
NBRIP,  
Organic acid.

**Abstract:** This study was carried out with the aim of isolation, microscopic identification and determination of organic acid synthesis of phosphorus (P) solubilising fungi from rhizosphere soil part of different plants grown in different agricultural areas in Amasya province. Eight different phosphorus-solubilising fungi were isolated from the rhizosphere soil using NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate) solid medium. Fungi were identified at the genus level as *Botrytis* spp., *Alternaria* spp., *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp. and *Cladosporium* spp. according to spore characteristics. *Penicillium* spp isolate was determined quantitatively the highest rate of P soluble isolates with 52.98 mg/ml and *Cladosporium* spp. isolate the lowest amount of P dissolving with 29.8 mg/ml. At the same time, the total amount of Lactic and Fumaric organic acid secreted by fungus isolates is directly proportional to P and inversely proportional to pH. It was determined *Penicillium* spp isolate with 12.475 mg/ml, which synthesizes the highest amount of organic acid, while *Cladosporium* spp. with the lowest rate of 10.268 mg/ml. As a result, it was determined that the identified fungi were associated with the total amount of organic acid they synthesized with the P solubilising.

## 1. Giriş

Fosfor (P), bitki büyüme ve gelişmesini sağlayan Azot (N)'dan sonra bitki kuru ağırlığının %0.2'sini oluşturan en önemli besin elementidir. Toprakta çözünmüş halde bulunan ve bitki tarafından alınan P oranı ise oldukça düşük olup 0.05 ile 10 ppm arasında değişmektedir. Toprağa uygulanan P'nin de %80'inden fazlası diğer elementler tarafından fikse edilerek veya organik forma dönüşmesi nedeniyle bitki için kullanılamaz hale gelmektedir. P'nin fikse edilmesi alkali topraklarda Ca tarafından tutularak tri-kalsiyum fosfat ( $Ca_3(PO_4)_2$ ) şeklinde olurken, asidik toprakta Demir (Fe) ve Alüminyum (Al)'ye bağlanarak  $FePO_4$  ve  $AlPO_4$  şeklinde olmaktadır. Fiske edilen P'nin bitki tarafından alınabilmesi için çözünebilir iyonik fosfatlara veya düşük molekül ağırlıklı fosfor bileşiklerine dönüşmesi gerekmektedir (Holford, 1997).

Birçok araştırmacı bitki köklerinde fosfat çözücü mikroorganizmalar olan bakteri, fungus, aktinomiset türlerinin bulunduğu ve bu mikroorganizmaların bitki için P alımında öneme sahip olduğu belirlemiştir (Sujatha ve ark., 2004). Günümüzde tarımda kullanılan yoğun sentetik kimyasalların toprak kalitesine olan olumsuz etkisini azaltabilmek; besin elementlerin bitkiler tarafından kullanılabilirliğini arttırabilmek adına fosfat çözen bu mikroorganizmaların organik tarımda biyogübre olarak kullanımları tavsiye edilmektedir (Öztekın ve ark., 2015). Rizobakterilerin bitki büyümesini, verimi ve meyve kalitesini arttırmada faydalı ve ekonomik olduğu belirlenmiştir (İpek ve ark., 2018). Yapılan çalışmalarda fungusların kaya fosfatını bakterilerden daha fazla çözme kabiliyetine sahip oldukları bildirilmiştir (Anil ve Lakshmi, 2010). Rizosfer mikroorganizmaları arasında bulunan *Penicillium* spp. ve *Aspergillus* spp. önemli fosfat çözücü funguslar olarak değerlendirilmektedir. *Aspergillus niger* ve bazı *Penicillium* türleri fosfat çözümlülüğü biyokontrol ve diğer biyoteknolojik önemlilikleri bakımından üzerinde çalışılan önemli mikroorganizmalar arasında yer almaktadır (Chuang ve ark., 2007).

Fosfat çözücü mikroorganizmaların fosfat çözündürme mekanizmasının genellikle düşük molekül ağırlıklı organik asitlerin salınması ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir (Goldstein,1995). Mikroorganizmalar tarafından salınan bu organik asitler hidroksil ve karboksil grupları yoluyla fosfata bağlı kanyonları şelatlar, böylece onu çözümlü formlara dönüştürmektedirler (Kpombekou ve Tabatabai,1994). Mikroorganizmalar tarafında üretilen organik asitler, aynı zamanda ortamın pH'sını düşürmesi sonucu oluşan asidik ortam, fosfat çözünmesini sağlamaktadır (Halder ve ark., 1991). Bar-Yosef ve ark. (1999), çalışmalarında toprak fosfatının mikrobiyal çözülmesinin genellikle mikroorganizmalar tarafından üretilen organik asitler nedeniyle olduğunu göstermiştir. Birçok farklı çalışmada organik asitlerden olan oksalik asit, sitrik asit, laktik asit, glukonik asit vb. mikroorganizmalar tarafından salgılandığı High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ile belirlenmiştir (White ve ark., 1999). HPLC metodu ile sıvı besi ortamda mikroorganizmalar tarafından salgılanan organik asit çeşitleri ve miktarları belirlenebilmektedir. Bu yöntem ile her organik asit farklı bir pik ile diğerinden ayrılabilir. Bu neden ile HPLC kullanımı organik asitler dahil organik bileşiklerin miktarının belirlenmesi ve tanımlanması için doğru ve uygun bir tekniktir (Zaky ve ark., 2017).

Yapılan bu çalışmada Amasya ilinde tarım alanlarında yetişen bitkilerin rizosfer toprağında bulunan fosfat çözücü funguslar izole edilerek mikroskopik tanısı yapılmıştır. Tanısı yapılan fungusların P çözme değerleri National Botanical Research Institute Phosphate (NBRIP) besi ortamı kullanılarak nicel olarak belirlenmiştir. Fungus izolatlarının fosfor çözmede en önemli mekanizması olan organik asit sentezleri ve miktarları HPLC analizi ile belirlenerek P çözümlülüğünün organik asit miktarı ile ve pH arasındaki ilişki araştırılmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1.Toprak Örneklerinin Alınması

Araştırma, Amasya ilinin Suluova ilçesinde 2019 yılında farklı aylarında soğan, buğday, mısır ve şekerpancarı yetişen bitkilerin rizosfer toprağının incelenmesi ile yapılmıştır. Fungus izolasyonu yapılacak toprak örnekleri farklı tarım alanlarında diğerlerine göre daha fazla gelişmiş 8 soğan, 9 buğday, 7 mısır ve 9 şekerpancarı bitkisini rizosfer kısmından 10-30 cm derinlikten alınmıştır. Bitki rizosfer kısmındaki yumuşak toprak bitkiden ayrılarak 33 adet toprak örneği fungus izolasyon işlemi



için laboratuvara getirilmiştir. Toprak numuneleri izolasyon çalışmalar yapılana kadar oda sıcaklığında tutulmuştur.

## 2.2. Fosfat Çözücü Fungusların İzolasyonu

Toprakta fosfat çözücü fungusların izolasyonu her bir toprak örneğinin 1 gr alınarak 9 ml fizyolojik tuzlu su (% 0.85 NaCl) dilüsyon yapılması ile izole edilmiştir. Toprak örnekleri bu şekilde 10 kat seri dilüsyon serileri hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyon serilerinin 4. ve 5. serilerinden 1 ml alınarak çözünmeyen Trikalsiyum fosfat (TCP) içeren NBRIP (Glikoz, 10 g;  $Ca_3(PO_4)_2$  5 g;  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 5 g;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.25 g; KCl, 0.2 g;  $(NH_4)_2SO_4$ , 0.1 g ve Agar ,15 gr; saf su 1000 mL; pH 7.0) besi ortamına yüzeysel olarak ekilmiş ve 27-30 °C'de 2 gün süreyle inkübe edilmiştir (Nautiyal, 1999). Etrafında zon oluşturan kolonilerden iğne ucu ile bir miktar miselyum alınarak steril lam üzerindeki 100 µl saf su ile karıştırılarak spor solüsyonu hazırlanmıştır. Daha sonra içerisinde su agarı bulunan petri kutularına bir öze dolusu spor solüsyonu çizilerek ekim yapılmıştır (Akgül, 2008). Bu şekilde geliştirilerek saflaştırılan funguslar çalışmalar için PDA (Patates Dekstroz Agar) besi yerinde +4 °C saklanmıştır.

## 2.3. Fosfat Çözücü Fungusların Tanısı

Saf olarak elde edilen ve PDA besiyerinde geliştirilen fungus kolonilerinin, misel ve spor yapıları mikroskopik olarak incelenmiştir. İzole edilen tüm fungus kolonilerinin mikroskopik tanısı spor morfolojilerine göre ışık mikroskopunda 40X'lik ve 400X'lik büyütmede (Samson ve ark.,2004)'den yararlanılarak yapılmıştır.

## 2.4. Fosfat Çözücü Fungusların Fosfat Çözme Değerlerinin Hesaplanması

PDA besiyerinde geliştirilen saf fungus kültürlerinin her birinden, 1 cm çaplı fungus delici kullanılarak alınan 1 cm çaplı fungus örnekleri, içerisinde 50 ml NBRIP sıvı besi yeri bulunan erlenlere inokülasyon yapılmıştır. Fungus kültürleri besiyerinde 150 rpm'de çalkalayıcıda, 30°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Deneme, izole edilen her bir fungus için üç tekrarlı bir şekilde yapılmıştır. Besiyerinde çözünmez halde bulunan çözdüğü P'yi hesaplamak için fungus hücrelerini, suda çözülmemeyen katı maddeleri ve  $Ca_3(PO_4)_2$ 'yi çöktürmek amacı ile besiyeri tüplere aktararak 10.000 dev/dak'da 10 dakika santrifüj yapılmış ve süpernatant elde edilmiştir. Süpernatant kısmından pipet yardımı ile 1 ml alınarak 10 ml'lik yeni tüplere aktarılmıştır. İçinde 1 ml süpernatant bulunan tüplere 5 ml saf su eklenerek seyreltilmiştir. Oluşan karışım üzerine 1 ml Barton çözeltisi eklendikten sonra 30 dak. karanlık ortamda inkübe edilmiştir. Spektrofotometrik analizler için stok fosfor çözeltisi ile farklı ppm dozlarında (0, 10, 25, 50, 100, 200 ppm) beş standart P çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler spektrofotometre ile 430 nm'de ölçülmüş ve absorbans değerleri kaydedilmiştir. Karanlık ortamda inkübe edilen çözeltilerde çözünmüş halde ne kadar fosfor bulunduğu 430 nm'de ölçülerek elde edilen absorbans değerleri, standart çözeltilerin absorbans değerleri ile kıyaslanarak çözünen P değerleri seyreltme faktörü dikkate alınarak mg/ml düzeyinde hesaplanmıştır (Barton, 1948). Her bir cinsten en yüksek miktarda P çözme değerine sahip fungus seçilerek, P çözmedeki organik asit sentezi incelenmiştir.

## 2.5. Fosfat Çözünürlüğü, pH ve Organik Asitlerin Tanımlanması

Sentezlenen organik asit çeşidi ve ortam pH'sının fosfat çözünürlüğü üzerine etkisini belirlemek için TCP içeren sıvı NBRIP sıvı besi ortamına funguslar inokule edilmiştir. İnkübasyona bırakılan fungus kültürlerinin 10. gününde sıvı ortamın pH'sı ölçülerek kaydedilmiştir. Suda çözülmemeyen katı maddeleri ve çözünmemiş halde bulunan kalan TCP'yi çöktürmek amacı ile tüpler 10.000 dev/dak'da 10 dakika santrifüj yapılmış ve süpernatant elde edilmiştir. Süpernatant içerisindeki organik asitler, Bevilacqua ve Califano (1989), tarafından verilen yöntem kullanılarak HPLC cihazında (Agilent HPLC 1100 G 1322) analize tabi tutulmuştur. Süpernatant kısım önce kaba filtre kağıdından, daha sonra iki kez 0.45 µm membran filtreden (Millipore Millex-HV Hydrophilic PVDF, Millipore, ABD) ve son olarak SEP-PAK C18 kartuşundan geçirilmiştir. HPLC sisteminde İnertsil

ODS-3, C18 (4.6x250 mm) kolon (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, ABD), kullanılmış ve cihaz Agilent paket program içeren bilgisayarla kumanda edilmiştir. Dedektör 190 ve 250 nm dalga boylarına ayarlanmıştır. Çalışmada mobil faz olarak 0.45 µm membran filtreden geçirilen %5 lik 1 mL/dk akış hızında sahip MeCN (Asetonitril), pH: 2.0 kullanılmıştır. Filtre edilmiş sıvıda organik asitler %85'lik aseto nitril sıvı faz yardımıyla refraktif indeks detektörüne sahip HPLC cihazında belirlenmiştir. Örnekteki organik asit pikleri standart pikler ile kontrol edilip değerlendirilerek sonuçlar mg/ml cinsinden hesaplanmıştır.

## 2.6. İstatistiksek Analiz

Çalışmada elde edilen değerler varyans analizine tabi tutularak gruplar arasındaki karşılaştırmalar Duncan testi SPSS 20.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Grupların önemlilikleri  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirilmiştir.

## 3. Bulgular

### 3.1. Fosfat Çözücü Fungusların İzolasyonu ve Tanısı

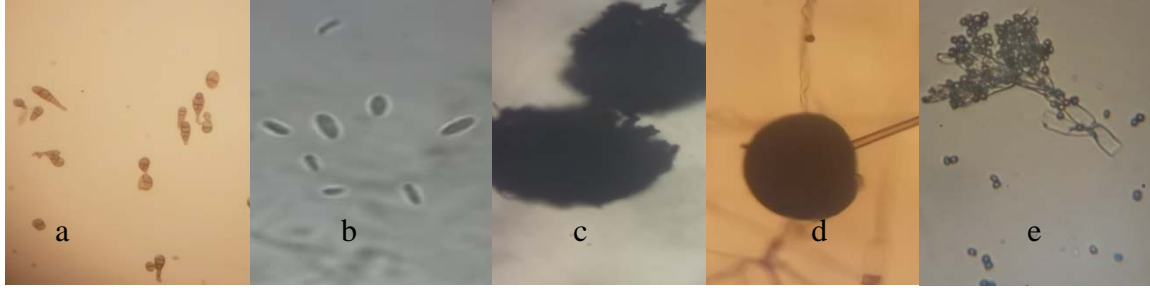
Bitki rizosferlerinden alınan 33 adet toprak örneğinden, NBRIP besi yerinde fosfat çözme belirtisi olarak zon oluşturan, birbirinden farklı olarak 8 farklı cinste fungus izole edilmiştir. Toprak izole edilen fosfat çözen fungusların mikroskop altında 40X'lik ve 400X'lik büyütmede spor ve hif yapıları incelenmiştir. Saf kolonilerin Samson (2004)'a göre morfolojik tanısı yapılması ile funguslar cins düzeyinde; *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Botrytis* spp., *Rhizopus* spp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., ve *Alternaria* spp. olarak tanılanmıştır (Çizelge 1). Morfolojik olarak tespit edilen 8 farklı fungus cinsine ait bazı spor ve hif yapıları Şekil 1.'de verilmiştir.

Çizelge 1. Bitki rizosfer topraklarından izole edilen fungus cinsleri

Toprak Örneği	Bitki	İzole edilen fungus cinsleri	Toprak Örneği	Bitki	İzole edilen fungus türleri	Toprak Örneği	Bitki	İzole edilen fungus cinsleri
1	Soğan	P,A,R,F	12	Buğday	A,F,C	23	Mısır	A,B,Al,T
2	Soğan	A,B,F,T,C	13	Buğday	P,Al,	24	Mısır	P,A,R
3	Soğan	P,B,R,F	14	Buğday	B,R,F	25	Şekerpancarı	Al,R,T
4	Soğan	A,Al,F	15	Buğday	P,A,T	26	Şekerpancarı	P,R,F,
5	Soğan	B,R,F,T,C	16	Buğday	Al,R,F	27	Şekerpancarı	A,B,T
6	Soğan	P,Al,F	17	Buğday	A,B,T,C	28	Şekerpancarı	P,Al,F
7	Soğan	A,B,R,F	18	Mısır	P,A,Al,F	29	Şekerpancarı	P,B,C
8	Soğan	P,A,Al,F	19	Mısır	A,B,F	30	Şekerpancarı	R,F,T
9	Buğday	P,B,T,C	20	Mısır	P,B,Al,T	31	Şekerpancarı	P,A,Al,R
10	Buğday	A,B,R	21	Mısır	P,A,F,C	32	Şekerpancarı	P,B,F
11	Buğday	P,Al,F,T	22	Mısır	P,R,T	33	Şekerpancarı	A,R,F,T

*Penicillium* spp.(P), *Aspergillus* spp.(A), *Botrytis* spp.(B), *Alternaria* spp.(Al), *Rhizopus* spp.(R), *Fusarium* spp.(F), *Trichoderma* spp.(T), *Cladosporium* spp.(C).

*Penicillium* spp. 18, *Aspergillus* spp. 17, *Botrytis* spp.14, *Alternaria* spp. 12, *Trichoderma* spp. 13, *Rhizopus* spp. 14, *Fusarium* spp. 20 ve *Cladosporium* spp.7 rizosfer toprağında izole edilmiştir. Bitki rizosfer topraklarından yoğun olarak *Fusarium* spp. izolatları izole edilirken en az yoğunlukta *Cladosporium* spp. izolatları izole edilmiştir.



Şekil 1. Fosfat çözen fungusların bazılarının konidi ve kondiofor yapılarının görünüşleri (a: *Alternaria* spp., b: *Fusarium* spp., c: *Aspergillus* spp., d: *Rhizopus* spp., e: *Botrytis* spp) (400X).

### 3.2. Fosfat Çözünürlüğü ve pH

Fungusların P çözünürlüğünün belirlenmesinde NBRIP sıvı besiyerinde 7 gün inkübasyondan sonra besi yerinin pH'sı ölçülmüş ve çözülmüş P konsantrasyonu hesaplanmıştır (Çizelge 2). Elde edilen değerler kendi aralarında ve fungus uygulaması yapılmamış negatif kontrol ile istatistiki olarak karşılaştırılmıştır. TCP içeren sıvı besi ortamının başlangıçta pH'sının 6.8-7.1'dan inkübasyon sonunda 5.1-5.9'a kadar belirgin bir şekilde düştüğü belirlenmiştir. Fungus izolatlarının sıvı ortamda çözdüğü P konsantrasyonu ise, farklı izolatlar arasında 29.8 mg/ml ve 52.98 mg/ml arasında değiştiği belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan uygulamada ise ortamın pH'sı 7.1 olarak ölçülmüştür ve çözülmüş P konsantrasyonu 0.018 mg/ml olarak belirlenmiştir. İzolatlarının çözdüğü P miktarları arasında istatistiki olarak farklar olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Fungus izolatları arasında en fazla P çözme miktarına sahip *Penicillium* spp. (52.98 mg/ml) belirlenip ve bu izolatın bulunduğu ortamın pH'sı en fazla düşüş göstererek 5.1 olarak ölçülmüştür. *Aspergillus* spp. izolatı ise 50.4 mg/ml P çözmesine rağmen *Penicillium* spp.'nin çözdüğü P miktarı ile arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Seçilen izolatlar arasında en düşük fosfor çözme miktarına sahip (35.38 mg/ml) *Cladosporium* spp. fungus izolatı olarak belirlenmiş ve ortamın pH'sı ise seçilen diğer bakterilerin ortam pH'sına göre daha yüksek olduğu (5.9) belirlenmiştir. Buna bağlı olarak pH ile fungus izolatlarının çözdüğü P konsantrasyonu arasında güçlü bir negatif korelasyon gözlemlenmiştir.

Çizelge 2. Fosfor çözen ve morfolojik olarak tanımlanan fungusların çözdüğü P miktarı, besiyeri pH'sı ve salgıladıkları organik asit miktarları

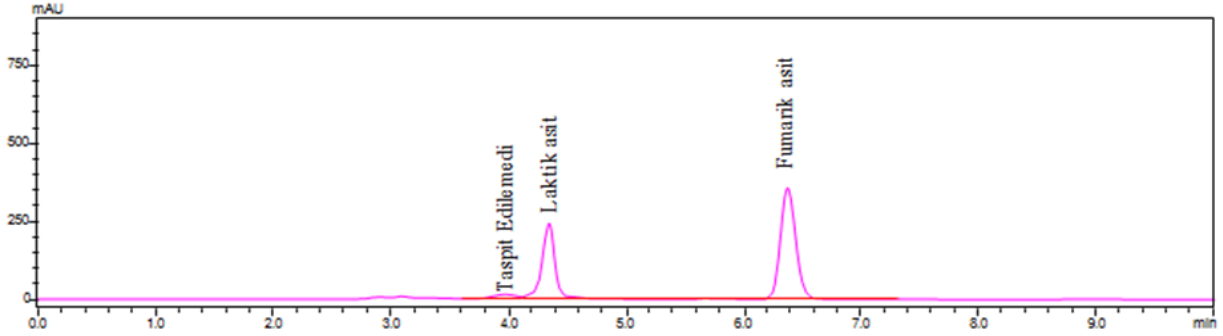
Toprak Örneği	İzole edilen funguslar	İzole edildiği bitki	Fosfat çözünürlüğü (mg/ml±SH)	pH	Fumarik Asit (mg/ml)	Laktik asit (mg/ml)	Toplam organik asit (mg/ml)
11	<i>Penicillium</i> spp.	Buğday	52.98±1.46 <sup>g</sup>	5.1	0.051	12.423	12.475
18	<i>Aspergillus</i> spp.	Mısır	50.4±0.73 <sup>g</sup>	5.3	0.051	11.980	12.032
23	<i>Botrytis</i> spp.	Mısır	47.15±0.48 <sup>f</sup>	5.4	0.048	11.505	11.554
33	<i>Alternaria</i> spp.	Ş.pancarı	46.59±0.80 <sup>f</sup>	5.3	0.050	11.804	11.854
14	<i>Rhizopus</i> spp.	Buğday	43.46±0.56 <sup>e</sup>	5.6	0.048	11.410	11.459
1	<i>Fusarium</i> spp.	Soğan	38.1±0.85 <sup>d</sup>	5.6	0.049	11.191	11.241
5	<i>Trichoderma</i> spp.	Soğan	32.96±1.56 <sup>c</sup>	5.8	0.045	10.547	10.592
21	<i>Cladosporium</i> spp.	Mısır	29.8±0.94 <sup>b</sup>	5.9	0.041	10.227	10.268
	Kontrol	-	0.018±0.01 <sup>a</sup>	7.1	-	-	-

\*Aynı sütunda benzer harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiki açıdan fark yoktur ( $p < 0.05$ ) (SH:Standart Hata).

### 3.3. Fungus izolatlarının organik asit üretimlerinin belirlenmesi

Besiyerlerinin içerisindeki organik asitlerinin belirlenmesinde HPLC'de elde edilen pikler, hazırlanan standart organik asit çözeltilerinden elde edilen pikler ile karşılaştırıldığında izolatların iki farklı organik asit (Fumarik asit, Laktik asit) ve bunları farklı oranlarda sentezlediği saptanmıştır. İzolatların tamamı Fumarik asit, Laktik asit organik asitlerini sentezlediği ve tespit edilemeyen farklı

bir organik asit sentezlediği tespit edilmiştir (Şekil 2). İzolatlar arasındaki P çözme değeri en fazla olan *Penicillium* spp.en yüksek miktarda (12.475 mg/ml) toplam organik asit sentezlediği ve buna bağlı olarak pH düzeylerinin en düşük olduğu belirlenmiştir.P çözme değeri en küçük olan *Cladosporium* spp. izolatu ise en az miktarda (10.268 mg/ml) organik asit sentezlediği ve ortamın pH sınırın diğer ortamlara oranla yüksek bir değer olan 5.9 olarak ölçülmüştür. Aynı zamanda üretilen toplam organik asit miktarı ile pH arasında negatif bir korelasyon gözlemlenmiştir.



Şekil 2.HPLC analizinde *Penicillium* spp. izolatının sentezlediği organik asitlerin belirlenmesi.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuç, bitkilerin rizosferik topraklarında farklı cinsten fosfat çözen fungusların varlığını tespit edilmiştir. Çalışmada topraktaki fosfor çözen fungusların hızlı bir şekilde belirlenmesinde doğrudan katı NBRIP besiyeri kullanılmıştır. Bu besiyeri benzer şekilde farklı çalışmalarda fosfor çözen mikroorganizmaların hızlı bir şekilde belirlemek için kullanılan besiyeri çeşididir (Marra ve ark., 2019). Çalışmamıza benzer şekilde yapılan bir çalışmada Xiao ve ark. (2009), topraktaki fosfor çözen fungusların belirlenmesinde katı NBRIP besiyeri kullanmışlardır. Besiyeri üzerinde çevresinde açık zon oluşturan funguslar fosfor çözme özelliğine sahip olduklarını belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada ise fosfor çözen fungusların belirlenmesinde Pikovskaya(PVK) katı besiyeri kullanılmıştır. Onyia ve Anyanwu(2013), topraktan izole ettikleri 12 farklı fungal izolatu fosfat çözme etkisinin belirlenmesinde PVK katı ve NBRIP sıvı besiyerleri kullanmışlardır. Çalışmalarında çalışmamıza paralel şekilde çözünen fosfor miktarı arttıkça ortamın pH'sının ters orantılı bir şekilde düştüğünü saptamışlardır. Yine benzer şekilde toplam organik asit miktarının çözünen fosfor miktarı ile doğru orantılı olduğunu tespit etmişlerdir.

Fungusların tanımlamalarında birçok farklı yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan birisi de fungus koloni morfolojileri ve spor karakteristik özellikleridir. Tambekar ve Wate (2007), yaptıkları çalışmada topraktaki inorganik formdaki fosforu çözen fungusların belirlenmesinde mikroskop altında koloni morfolojilerini ve spor karakteristik özelliklerini incelemişlerdir. Fungus cinslerini çalışmamıza benzer şekilde *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. ve *Fusarium* spp. olarak belirlemişlerdir. Fungusların fosfor çözme özellikleri cinsine ve türüne göre değişmektedir. Yapılan bir çalışmada Khatoon ve ark. (2014), topraktaki bazı fungusların çözdüğü fosfor miktarının nicel olarak belirlenmesinde sıvı NBRIP besiyeri kullanmışlardır. Çalışmalarında topraktan izole ettikleri ve fosfor çözme özelliğine sahip izolatlardan olan *Aspergillus niger* ve *A. fumigatus* izolatlarının çözdüğü fosfor miktarını sırası ile 246 µg/ml ve 290 µg/ml olarak belirlemişlerdir. Çalışmamızda organik asit üreten tüm fungus izolatlarının, çözünmeyen fosfatı çözdüğünü ve çözünen fosfat miktarını, üretilen organik asit ile orantılı olduğunu belirlenmiştir. Ortam pH düşüşleri ise, fosfat çözen funguslar tarafından salınan organik asitlerinden salgılanmasından dolayıdır (Sharma, 2012). Besiyerinde pH azalmasının organik asit sentezine bağlı olduğunu belirten bir çalışmada, Ramachandran ve ark. (2003), çözünmeyen fosfatın sıvı ortamda mikrobiyal çözündürülmesinin, organik asitlerin salınımına bağlı olduğunu ve bunun sonucunda pH'da bir azalmanın meydana geldiğini göstermişlerdir. Çalışmamızda kullandığımız fungus izolatların, çözünmeyen fosfatı çözüdüren organik asitler üretebildiği sonucu ile tutarlıdır. Fosfat çözünmesinin organik asit ile ilişkili olduğunu belirten bir çalışmada Varsha ve ark. (2010), bazı funguslar tarafından organik asit üretiminin, pH'daki düşüşe ve fosfat çözünmesi olarak adlandırılan çözünmeyen fosfatın ayrışmasına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Organik asit üretimi olmadan da bazı mikroorganizmalar fosfat çözebilmektedir. Bu durum bu mikroorganizmaların fosfat çözümünde salgıladıkları fosfataz enzimi varlığı ile gerçekleştirebilirler (Ma ve ark., 2011). Çalışmamıza benzer şekilde fosfor çözmeye en önemli mekanizma olarak kabul edilen organik asit sentezinin araştırıldığı bir çalışmada, Scervino ve ark. (2011), fosfor çözmeye özelliğine sahip *Penicillium purpurogenum* fungus izolatının sentezlediği organik asit ve çeşidini HPLC de analiz etmişlerdir. Çalışmalarında *P.purpurogenum* organik asit olarak glukonik asit (29-32 mg/L, sitrik asit (1-52 mg/L) ve fumarik asit (0-0.3 mg/L) olarak belirlemişlerdir.

Yapılan bu çalışmada, topraktaki çözünmez formda bulunan organik fosfatı çözen toprakta fungusların olduğu belirlenmiştir. Belirlenen bu fungus izolatları bitkideki fosfor beslemesinde kullanılarak biyogübre adayı olabilirler. Mevcut çalışmada belirlenen fungus izolatların iki farklı (Fumarik asit, Laktik asit) organik asit sentezleyerek ortamın pH'sını düşürerek çözünmez formda bulunan trikalsiyum fosfatın çözülmesinin sağlandığı sonucuna varılmıştır. Yapılacak olan ileriki çalışmalar ile P çözücü fungusların fosfat çözmeye başka mekanizmalarının araştırılması ve izolatların tür düzeyinde tanımlanması yapılarak organik tarımda kullanılabilirliği tarla koşullarında denenmesi gerekmektedir.

## Teşekkür

Bu çalışmayı FMB-BAP 18-0373 proje numarası ile destekleyen Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

## Kaynakça

- Akgül, D.(2008). Çukurova bölgesi buğday ekim alanlarında kök, kök boğazı ve sap çürüklüğü hastalığının durumu, bazı buğday çeşitlerinin hastalığa karşı reaksiyonları, farklı gübreleme pratikleri ve fungusit uygulamalarının hastalık gelişimine etkileri. *Çukurova Üniversitesi FBE Bitki Koruma Anabilim Dalı*, 94.
- Anil, K., & Lakshmi, T. (2010). Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. *Brazilian Journal of Microbiology* 41, 787.
- Bar-Yosef, B., Rogers, R., Wolfram, J., & Richman, E. (1999). Pseudomonas cepacia-mediated rock phosphate solubilization in kaolinite and montmorillonite suspensions. *Soil Science Society of America Journal* 63, 1703-1708.
- Barton, C. J. (1948). Photometric analysis of phosphate rock. *Analytical Chemistry* 20, 1068-1073.
- Bevilacqua, A., & Califano, A. (1989). Determination of organic acids in dairy products by high performance liquid chromatography. *Journal of Food Science* 54, 1076-1076.
- Chuang, C.C., Kuo, Y.L., Chao, C.C., & Chao, W.L. (2007). Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. *Biology and Fertility of Soils* 43, 575-584.
- Goldstein, A.H.(1995). Recent progress in understanding the molecular genetics and biochemistry of calcium phosphate solubilization by Gram negative bacteria. *Biol. Agric. Hort.* 12, 185-193.
- Halder, A., Mishra, A., & Chakrabarty, P. (1991). Solubilization of inorganic phosphates by Bradyrhizobium. *Indian journal of Experimental Biology* 29, 28-31.
- Holford, I. (1997). Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plants. *Soil Research* 35, 227-240.
- İpek, M., Arıkan, Ş., Eşitken, A., & Pırlak, L. (2018). Bitki Gelişimini Artırıcı Rizobakterilerin "Heritage" Ahududu (*Rubus idaeus* L.) Çeşidinde Bitki Gelişimi, Verim ve Meyve Kalitesi Üzerine Etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(1), 42-48.
- Khatoon, N., Md, M. K., & Khan, M. M. (2014). Isolation of potential thermotolerant phosphate solubilizing fungal strains from agricultural soils. *J. Environ. Res. Develop* 8, 853-858.
- Kpombekou, K., & Tabatabai, M.A. (1994). Effect of organic acids on release of phosphorus from phosphate rocks. *Soil Sci.* 158, 442-453.
- Ma, D., Zhu, R., & Ding, W. (2011). Alkaline phosphatase activity in ornithogenic soils in polar tundra. *Adv Polar Sci*, 22: 92-100.
- Marra, L. M., de Oliveira-Longatti, S. M., Soares, C. R. F. S., Olivares, F. L., & Moreira, F. M. d. S. (2019). The amount of phosphate solubilization depends on the strain, C-source, organic acids and type of phosphate. *Geomicrobiology Journal* 36, 232-242.

- Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters* 170, 265-270.
- Nenwani, V., Doshi, P., Saha, T. & Rajkumar, S. (2010). Isolation and characterization of a fungal isolate for phosphate solubilization and plant growth promoting activity. *J Yeast Fungal Res* 1, 009-014.
- Onyia, C. E., & Anyanwu, C. U. (2013). Comparative study on solubilization of tri-calcium phosphate (TCP) by phosphate solubilizing fungi (PSF) isolated from Nsukka pepper plant rhizosphere and root free soil. *Journal Yeast Fungal Research* 4, 52-57.
- Öztekin, G., Tüzel, Y., & Mehmet, E. (2015). Fosfat çözücü bakteri aşılamaalarının sera domates yetiştiriciliğinde bitki gelişimi, verim ve meyve kalitesi üzerine etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi* 25, 148-155.
- Ramachandran, K., Srinivasan, V., Hamza, S., & Anandaraj, M. (2007). Phosphate solubilizing bacteria isolated from the rhizosphere soil and its growth promotion on black pepper (*Piper nigrum* L.) cuttings. *Paper presented at the First international meeting on microbial phosphate solubilization*.
- Samson, R., Hoekstra, E., & Frisvad, J. (2004). Introduction to Food-and Airborne Fungi, Laboratory Manual Series 2. *Food and Indoor Fungi*, 389pp.
- Scervino, J., Papinutti, V., Godoy, M., Rodriguez, M., Della Monica, I., Recchi, M., Pettinari, M., & Godeas, A. (2011). Medium pH, carbon and nitrogen concentrations modulate the phosphate solubilization efficiency of *Penicillium purpurogenum* through organic acid production. *Journal of Applied Microbiology* 110, 1215-1223.
- Sharma, B., Subba, R., & Saha, A. (2012). In vitro solubilization of tricalcium phosphate and production of IAA by phosphate solubilizing bacteria isolated from tea rhizosphere of Darjeeling Himalaya. *Plant Sci Feed* 2, 96-99.
- Sujatha, E., Girisham, S., & Reddy, S. (2004). Phosphate solubilization by thermophilic microorganisms. *Indian Journal of Microbiology* 44, 101-104.
- Tambekar, P., & Wate, S. (2007). Study of phosphate solubilization efficiencies of fungi and bacteria isolated from saline belt of Puma river basin. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3, 701-703.
- Xiao, C., Chi, R., He, H., Qiu, G., Wang, D., & Zhang, W. (2009). Isolation of phosphate-solubilizing fungi from phosphate mines and their effect on wheat seedling growth. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 159, 330-342.
- White, P. F., Nesbitt, H. J., Ros, C., Seng, V., & Lor, B. (1999). Local rock phosphate deposits are a good source of phosphorus fertilizer for rice production in Cambodia. *Soil Science and Plant Nutrition* 45, 51-63.
- Zaky, A. S., Pensupa, N., Andrade-Eiroa, Á., Tucker, G. A., & Du, C. (2017). A new HPLC method for simultaneously measuring chloride, sugars, organic acids and alcohols in food samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, 56, 25-33.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Research article (Araştırma makalesi)

**Is The Natural Honey Bee Biodiversity of Anatolia in the Process of Extinction?\***

**Merve KAMBUR ACAR<sup>\*1</sup>, Meral KEKEÇOĞLU<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Düzce University, Duzce Vocational School, Beekeeping Program, 81010, Düzce, Turkey

<sup>2</sup>Düzce University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, 81620, Konuralp, Düzce, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-9658-6584> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-2564-8343>

\*Corresponding author e-mail: [mervekambur@gmail.com](mailto:mervekambur@gmail.com)

**Article Info**

Received: 02.04.2020

Accepted: 07.08.2020

Online Published: 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.708186

**Keywords**

*Apis mellifera* L.,  
Biodiversity,  
Morphometry,  
Turkey.

**Abstract:** This study was conducted through the geometric morphometric method by making a sampling as to represent seven geographical regions of Turkey and also all honeybee races that are reported to be found in Turkey. Nineteen landmarks on the wings of bees detected by using right front wings of worker bees were measured by the Bs200Pro program. According to the results of discriminant function analysis based on individual data, the true classification rate was found to be 54.1%. While the Marmara, Aegean, Eastern Anatolia and Black Sea Regions formed a strictly single group, the Southeastern Anatolia Region distinctly separated from other regions. The honey bee population of eastern and western parts of the Mediterranean Sea were divided into two, while the western part formed close groups with other regions, the eastern part got closer to the Southeastern Anatolia Region. The group center of the Central Anatolia Region partly separated from the other regions and formed a group at the edge. Beside the split of the Mediterranean Region as East and West, the samples taken from Southeastern Anatolian Region create a separate group supported the existence of *Apis mellifera syriaca* and *Apis mellifera meda* races in the South. The separation of the Central Anatolia Region supports the existence of *Apis mellifera anatoliaca* in Central Anatolia of Turkey. However, the examples taken from other regions nested together to create a group show that the honey bee biodiversity in Turkey has been affected by the migratory beekeeping and commercial queenbee activities in recent years.

**Anadolu'daki Bal Arısı Biyoçeşitliliği Yok Olma Sürecinde mi?**

**Makale Bilgileri**

Geliş: 02.04.2020

Kabul: 07.08.2020

Online Yayınlanma 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.708186

**Anahtar kelimeler**

*Apis mellifera* L.,  
Biyoçeşitlilik,  
Morfometri,  
Türkiye.

**Öz:** Bu araştırmada, Türkiye'nin 7 coğrafik bölgesini ve Türkiye'de bulunduğu bildirilen tüm alt türleri temsil edecek şekilde örnekleme yapılmış ve geometrik morfometri yöntemi ile Türkiye bal arısı biyoçeşitliliğinin son durumu ortaya konmuştur. İşçi arıların sağ ön kanatları kullanılarak kanatlar üzerinde belirlenen on dokuz landmark Bs200Pro programıyla ölçülmüştür. Bireysel veriler esas alınarak yapılan diskriminant fonksiyon analiz sonuçlarına göre gerçek gruplara doğru sınıflandırma oranı % 54.1'dir. Marmara, Ege, Doğu Anadolu ve Karadeniz Bölgeleri sıkı bir şekilde tek grup oluştururken, Güneydoğu Anadolu Bölgesi diğer bölgelerden belirgin şekilde ayrılmıştır. Akdeniz'in doğusu ve batısı ikiye ayrılmış, batı kısmı diğer bölgelerle iç içe geçerken doğu kısmı Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ne yakın ayrı bir grup oluşturmuştur. İç Anadolu Bölgesi'nin grup merkezi diğer bölgelerden ayrılarak kenarda bir grup oluşturmuştur. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin tek başına, Akdeniz Bölgesi'nin doğu ile batısının ayrı bir grup oluşturması Türkiye'nin güneyinde *Apis mellifera syriaca* ve *Apis mellifera meda* ırklarının varlığını

destekler niteliktedir. İç Anadolu Bölgesi'nin ayrılması ise Orta Anadolu'da ise *Apis mellifera anatoliaca* olduğunu destekler niteliktedir. Ancak diğer bölgelerden alınan örneklerin iç içe geçerek birlikte bir grup oluşturması Türkiye bal arısı biyoçeşitliliğinin son yıllardaki göer arıcılık ve ticari ana arı faaliyetlerinden etkilendiğini göstermektedir.

---

\*\* This study is part of the master thesis and it was supported by the Scientific Research Project of Duzce University BAP-2015.05.01.318.

## 1. Introduction

The honey bee (*Apis mellifera* L.), which was wondered about from past to present because of its ecological, economic and social organization and encouraged many scientists to carry out research, divide into in 4 evolutionary branches; branch A; African subspecies, M branch; Western Europe and North Africa subspecies, branch C; Central and Eastern European subspecies, branch O; Northeast Mediterranean and Middle East subspecies (Ruttner 1988; Arias and Sheppaard 1996; Franck et al 2000). In addition, the Y branch was proposed as the fifth evolutionary branch for the Northeast African subspecies (Franck et al., 2001).

There are three theories about the evolution of honey bees. The first of these suggested by Rothenbuhler and Kerr (1968) is that the honey bees had bred in Southeast Asia and India. The second theory asserts that honey bees bred in Africa and spread to Europe through the Middle East (Wilson, 1971). According to Ruttner's (1988) theory, honeybees emerged in the south of the Caspian Sea near Anatolia and spread to Europe and Africa along the Arabian Peninsula using Anatolia as a migration route. Due to its geographical location, Anatolia function as a bridge between Europe and Asia. The only way the honey bee originating from the south of the Caspian Sea or from Africa can pass to Europe is Anatolia. Therefore, Anatolia is the gene centre for many honeybee breeds. In addition, thanks to its rich flora, climate pattern varying from region to region, and because of different flora regions (Iran-Turanian, Mediterranean, Euro-Siberian flora regions) it is also highly advantageous in terms of beekeeping activities.

Five of the identified twenty nine subspecies reported to be located within the borders of Turkey (Sheppard and Meixner, 2003). According to morphometric definitions, whereas *Apis mellifera anatoliaca*, has a wide spreading area in the inner parts of Anatolia, *Apis mellifera caucasica* in the Northeast of the Black Sea, *Apis mellifera meda* that is seen in Eastern Anatolia near the Iranian border are grouped in the branch O (Ruttner, 1988; Franck et al., 2000; Pritchard et al., 2000; Franck et al., 2001; Arias and Sheppard, 2003; Sheppard and Meixner, 2003). According to the mitochondrial DNA (mtDNA) analyses, these subspecies were grouped in the C branch (Smith et al., 1997; Franck et al., 2000; Palmer et al., 2000; Ozdil et al., 2009). In addition, *Apis mellifera carnica* which is a member of C branch was seen in Thracian (Palmer et al., 2000), *Apis mellifera syriaca* which is a member of the branch O is seen near the Syrian border of Hatay (Kandemir et al., 2006a). In line with these studies, it is reported that Turkey hosts both the member of branch C and O.

However, the results of the researches conducted in recent years report that bee biodiversity in Turkey has been largely influenced due to migratory beekeeping and commercial queen sales and the biodiversity has disappeared (Kambur and Kekeçoğlu, 2018a; 2018b). Migratory beekeeping which is made in order to produce more honey following the flowering period is quite common in Turkey. With the early spring period, beekeepers created a seasonal migration route by moving their bees from the coast to the inner parts and from the west to the east (Güler, 2010; Kekeçoğlu et al., 2020). The queen bees that fly to the mating flight with the awakening of nature do not mate with the male bees of the breeds in their region, but mate with the male bees of the regions they move to. This may adversely affect the protection of local breeds, as well as increasing the risk of extinction of existing pure breeds or causing the formation of hybrid forms.

In this study, sampling was done in a way that will represent seven geographical regions of Turkey and all honeybee races that were recorded to live in Turkey. The aim of this study is to determine the current status of honey bee biodiversity and compare it with the literature reports.



## 2. Materials and Methods

### 2.1. Preparation and measurements of samples

Sampling is made from 32 different locations (Marmara Region; Kırklareli, Çanakkale, Balıkesir, Bursa, Bilecik; Aegean Region: İzmir, Muğla; Mediterranean Region: Antalya, Hatay, Kahramanmaraş; Central Anatolia Region; Kırkkale, Konya, Niđe, Eskişehir; Black Sea Region: Sakarya, Düzce, Zonguldak, Kastamonu, Amasya, Ordu, Trabzon, Artvin; Eastern Anatolia Region: Ardahan, Kars, Iğdır, Bingöl; Southeast Anatolia Region: Gazinatep), which will represent the seven geographical regions of Turkey, selected 15 worker bees from each 3 colonies of 3 different apiaries in each location out of totally 288 colonies. Samples were transported to the laboratory with 20 ml scintillation vials containing 96% of ethyl alcohol. Right front wings of worker bees were used.

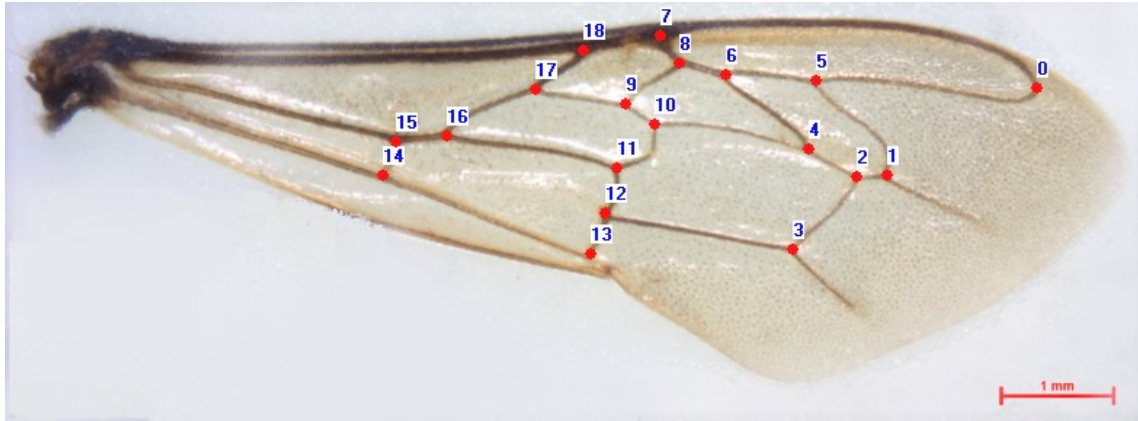


Figure1. Automatic landmark marking made with BAB Bs200 Program.

Wing prepares were prepared according to Kekeçoğlu, (2007) and photographs were taken at 1X magnification with BAB camera system connected to BAB STR45 stereo zoom microscope. Automatic measurement of the X and Y coordinates of 19 landmarks determined on the wings was performed with Bs200Pro program (Kambur, 2017).

### 2.2. Statistical Analysis

Morphometric data were evaluated using discriminant function analysis (DFA) in SPSS 15.0 package program. Univariate (ANOVA) and multivariate (MANOVA) variance analyses were used to determine intra- and inter-group variation. Cross-validation test (CVT) was used to see the distribution of the populations to real groups (SPSS, 2005). To see the relationship between the populations, using Mahalanobis distance and PHYLIP 3.67 (Rohlf, 2000) program, UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean) Cluster Analysis was carried out.

## 3. Results

Discriminant function analysis was utilized to determine the distribution of individuals in groups in multidimensional environment. The discriminant functions that help the populations to be classified were determined according to the cartesian coordinate values of nineteen landmarks. The number of functions included in the analysis, their significance levels, eigenvalues, percentages of variation (%), cumulative values (%), canonical correlation values, Wilk's lambda, chi-square values and degrees of freedom are given in Table 1.

Table 1. Number of functions of populations and values expressing these functions

Number of Functions	Eigenvalues	Variance Value (%)	Cumulative Value (%)	Canonical Correlation	Wilks' Lambda	Chi-square	Df	Significance Level (p)
1	1.144	53	53	0.731	0.19	6882.18	192	0*
2	.480	22.2	75.2	0.569	0.41	3704.57	155	0*
3	.208	9.6	84.8	0.415	0.60	2071.72	120	0*
4	.183	8.5	93.3	0.393	0.73	1283.61	87	0*
5	.091	4.2	97.5	0.288	0.86	584.48	56	0*
6	.055	2.5	100	0.228	0.94	222.58	27	0*

As a result of the analysis of variance applied to the sample data, the significance level of all x, y coordinates effective on discriminant functions was supported by ANOVA and the variation between the groups was found to be significant ( $P < 0.05$ ).

When the X and Y coordinate data were compared with MANOVA based on the data of the groups representing the populations, significant differences were found between populations of all regions in terms of at least one coordinate ( $P < 0.05$ ).

In discriminant function analysis, group centre of populations were separated with a stricter grouping (Figure 2). When Figure 2 is examined, it is seen that the group center of Southeast Anatolia Region is separated from other regions. The Mediterranean Region is divided into two parts. Although one part is close to the Southeastern Anatolia region, the other part is distributed among Black Sea, Marmara, Aegean and Eastern Anatolia Regions. Group centers of Black Sea and Eastern Anatolia, Aegean and Marmara regions overlap and these regions are intertwined.

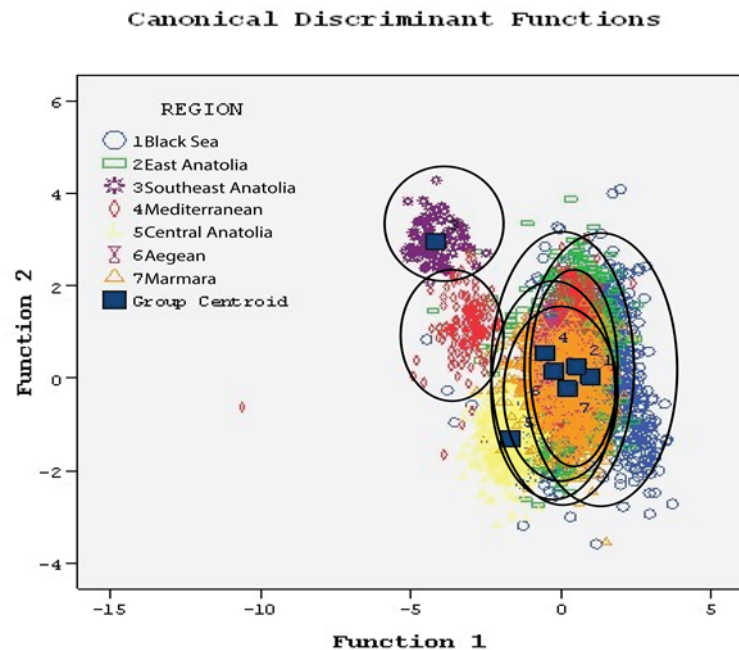


Figure 2. Clustering of populations by discriminant function analysis –DFA (1:Black Sea, 2:East Anatolia, 3:Southeast Anatolia, 4:Mediterranean, 5:Central Anatolian, 6: Aegean, 7:Marmara).

According to the results of discriminant function analysis performed based on raw data, the true classification rate was found to be 54.1%. Table 2 shows the estimated group memberships in terms of morphological characteristics worker honeybee wings according to the obtained distinction functions. According to the estimated group memberships, it was determined that 48.2% in the Black Sea Region, 54.5% in Eastern Anatolia Region, 100% in Southeast Anatolia Region, 30.8% in Mediterranean Region, 94.2% in Central Anatolia Region, 55.6% in Aegean Region and 48.8% in Marmara Region remained in their own group. It was detected that the highest crossing from the Black

Sea was to Eastern Anatolia (18.6%), the highest crossing from Eastern Anatolia was to the Black Sea (15.1%), the highest crossing from the Mediterranean was to the Black Sea (14.6%), the highest crossing from Central Anatolia was to the Mediterranean (3%), the highest crossing from the Aegean was to Marmara (17.5%) and the highest crossing from Marmara was to the Aegean (16.9) (Table 2).

Table 2. Grouping of samples by cross-validation test (CVT)

Region	Predicted Group Membership							Total
	Black Sea	East Anatolia	Southeastern Anatolia	Mediterranean	Central Anatolia	Aegean	Marmara	
Black Sea	611 (%48.2)	236 (%18.6)	1 (0.1)	88 (%6.9)	112 (%8.8)	70 (%5.5)	149 (%11.8)	1267 (%100)
East Anatolia	98 (%15.1)	353 (%54.5)	5 (%0.8)	34 (%5.2)	56 (%8.6)	39 (%6)	63 (%9.7)	648 (%100)
Southeastern Anatolia	0	0	86 (%100)	0	0	0	0	86 (%100)
Mediterranean	94 (%14.6)	80 (%12.5)	74 (%11.5)	198 (%30.8)	32 (%5)	89 (%13.9)	75 (%11.7)	642 (%100)
Central Anatolia	0	0	0	16 (%3)	501 (%94.2)	5 (%0.9)	10 (%1.9)	532 (%100)
Aegean	10 (%4)	24 (%9.5)	0	34 (%13.5)	0	140 (%55.6)	44 (%17.5)	252 (%100)
Marmara	74 (%11.3)	80 (%12.3)	0	47 (%7.2)	23 (%3.5)	110 (%16.9)	318 (%48.8)	652 (%100)

In the dendrogram drawn according to the Mahalanobis distances while the Southeastern Anatolia Region and the Central Anatolia Region form a group together, the Eastern Anatolia, Black Sea, Mediterranean, Aegean and Marmara Regions together formed a separate group (Figure 3).

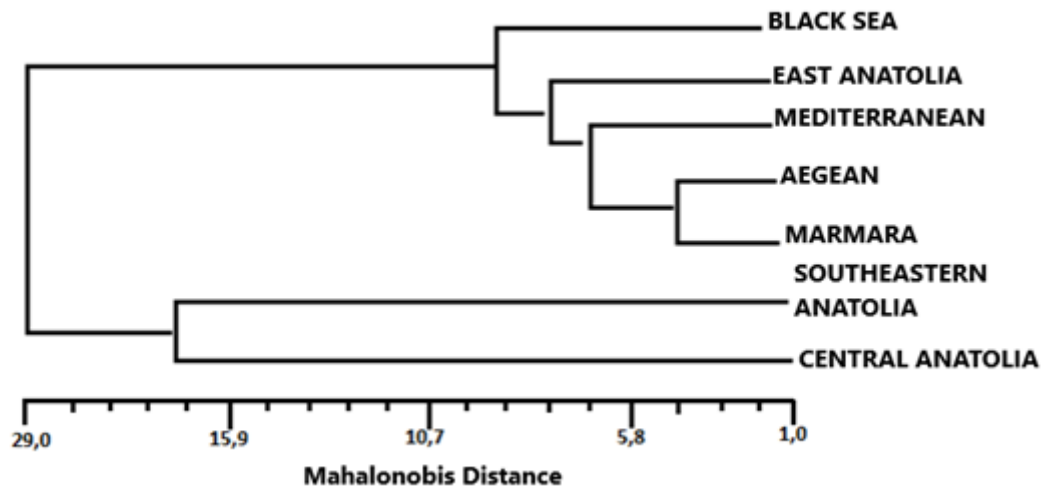


Figure 3. UPGMA phenogram of populations.

#### 4. Discussion and Conclusion

In this study, Turkey's honey bee populations were evaluated according to 7 geographical regions by using morphometric method. While the Marmara, Aegean, Eastern Anatolia and Black Sea Regions formed a group, the Southeastern Anatolia Region was distinctly separated from other regions. The eastern and western parts of the Mediterranean were divided into two, and the western part formed a group with the other five regional honey bee populations, the eastern part got closer to the Southeastern Anatolian Region. The group center of the honey bee population in Central Anatolia was partially separated from the other regions and formed a separate group on the edge. According to

previous researches, *Apis mellifera* subspecies in Anatolia were reported that *Apis mellifera caucasica* was widespread in the region from Samsun to the northeast of the country, *Apis mellifera syriaca* in a small area on the border with Syria in the South, *Apis mellifera meda* in Southeast Anatolia and *Apis mellifera anatoliaca* in all other regions (Ruttner, 1988; Kandemir et al., 2000; Güler and Bek, 2002; Kandemir et al., 2005).

In this study, it can be stated that *Apis mellifera meda* race still exists in Southeastern Anatolia Region, which constitutes a separate group. Furthermore, the division of the eastern and western parts of the Mediterranean Region supports the findings of the presence of *Apis mellifera syriaca* in Hatay which is located in the eastern part of the Mediterranean (Özbakır, 2011) The Anatolian Diagonal of the Amanos Mountains separating the east and the west of the Mediterranean Region may also have an effect on this differentiation of geographical barriers.

Five different honey bee races have been identified in Turkey related to the evolutionary history of honey bees. These races are grouped in the O evolutionary lineage according to morphometric studies (Ruttner 1988; Franck et al., 2000; Pritchard et al., 2000; Franck et al., 2001; Arias and Sheppard, 2003; Sheppard and Meixner, 2003), whereas mtDNA studies have shown that these subspecies belong to the C evolutionary lineage (Smith et al., 1997; Franck et al., 2000; Palmer et al., 2000; Özdil et al., 2009). The nucleotide sequence of COI-COII gene region with the *Apis mellifera syriaca* has a different nucleotide sequence compared to the other mtDNA haplotype groups (Eastern Europe, Western Europe and Africa). *Apis mellifera syriaca* has therefore been reported to represent a 4th mtDNA haplotype group (O) (Franck et al., 2000; Özdil et al., 2009; Kandemir et al., 2006b). Two main groups were formed according to DFA results and UPGMA graph of this study. Therefore, this result is consistent with the literature stating that honeybee races in Turkey are members of the O and C evolutionary lineage.

In previous studies, it has been reported that the northeast and southeast part of Turkey exactly separated from each other. It was found that *Apis mellifera meda* exist in the southeast part of Turkey (Ruttner, 1988; Kandemir et al., 2000; Güler and Bek, 2002; Kekeçoğlu et al., 2009; Kekeçoğlu and Soysal, 2010; Bouga et al., 2011; Özbakır, 2011; Koca and Kandemir, 2013; Kambur and Kekeçoğlu, 2018a; 2018b). *Apis mellifera syriaca* was in Hatay near the Syrian border of Turkey (Kandemir et al 2006a). Özbakır (2011) compared the samples collected from Syria and Iran and Turkey's provinces (Hatay, Urfa and Mardin) in southern Turkey and reported that the samples collected from these provinces overlap with the Syrian samples (*Apis mellifera syriaca*). Research results based on molecular techniques indicate the presence of both *Apis mellifera syriaca* and *Apis mellifera meda* subspecies in southeastern part of Turkey (Kandemir et al., 2000; Palmer et al., 2000; Pritchard et al., 2000; Kandemir et al., 2006a). In this study, the fact that the samples taken from the eastern part of the Mediterranean Region separated from the west, and that the samples taken from the Southeastern Anatolia Region formed a separate group alone support the existence of two different subspecies in the Southern part of Turkey.

Ruttner, (1988) stated that *Apis mellifera caucasica* existed in northeast Turkey. On the other hand, according to subsequent studies, samples taken from the Eastern Black Sea Region, where *Apis mellifera caucasica* is common, were not separated from samples taken from the western Mediterranean, Marmara Aegean and the rest of the Black Sea Region and formed a group together. When all regions were evaluated together in the cross-validation test, the distribution of samples to their groups was 54.1%. The distribution of the samples taken from the Black Sea, Eastern Anatolia, Marmara and Aegean Regions to their real groups is 48.2%, 54.5%, 48.8% and 55.6%, respectively.

Seasonal migratory beekeeping activities in Turkey, can made as regional and also throughout Turkey within long distances, except for some isolated area with regard to genetic conservation (Sıralı, 2002). For this reason, some honey bees such as subspecies, local ecotypes, under the effects of hybridization and loss of genetic structure (De la Rúa, 2009; Güler, 2010). Some efforts were performed to eliminate this undesirable effects. A few of this, efforts are comprise restricted migratory beekeeping areas within the geographic regions legally and promote beekeepers make their activities in this areas. However, there are still shortcomings in terms of implementation and functionality of legal measures. Queen bee trade and transportations should be allow confined fields, thus genetic make up can be protected or loss of levels keep at minimum rates natural Turkish honey bee populations.

In this study, the fact that group membership in regions other than Central Anatolia and Southeastern Anatolia was so low was thought to be the result of migratory beekeeping practice or

commercial queen bee trade, which is common in Turkey. This may be the result of the Caucasian queen bee production from one source and its distribution throughout the country (Güler, 2010; Kekeçoğlu, 2018).

Honey bees serve a function in pollination of plants intended for consumption, due to this reason, we have to keep the best management and field practise, It was indicated in this study that honey bee diversity of Turkey encounter hybridization threat caused by migratory beekeeping activities. In this case, morphological and morfometric distinctions of Anatolian honey bees may be remain incapable (Kence, 2006; Güler, 2010; Kekeçoğlu & Soysal, 2010). Hence, our study contribute to insight for necessity of sustainable protection programs.

In conclusion, in this study based on geometric morphometric method, it was determined that there could be two different lineages in southern Turkey. However, the effect of migratory beekeeping is observed in the remaining parts of Turkey. With extensive studies using morphometric and molecular methods together, it is suggested that the existing races and ecotypes should be identified urgently and protection areas should be established.

### Acknowledgment

This study is part of the master thesis and it was supported by the Scientific Research Project of Duzce University BAP-2015.05.01.318.

### References

- Arias, M. C., & Sheppard, W. S. (1996). Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L) inferred from mitochondrial DNA Sequence. *Molecular Phelogenetics Evolution*, 5(3), 557–566.
- Bouga, M., Alaux, C., Bienkowska, M., Büchler, R., Carreck, N. L., Cauia, E., Dahle, B., Dall’Olio, R., De la Rúa, P., Gregorc, A., Ivanova, E., Kence, A., Kence, M., Kezic, N., Kiprijanovska, H., Kozmus, P., Kryger, P., Le Conte, Y., Lodesani, M., Murilhas, A. M., Scieanu, A., Soland, G., Uzunov, A., & Wilde, J. (2011). A review of methods for discrimination of honey bee populations as applied to European beekeeping, *Journal of Apicultural Research*, 50(1), 51–84.
- De la Rúa, P., Jaffe, R., Dall’ Olio, R., Munoz, I., & Serrano, J. (2009). Biodiversity, conservation and current threat to European honey bees. *Apidologie*, 40, 263-284.
- Franck, P., Garnery, L., Celebrano, G., Solignac, M., & Cornuet, J.M. (2000). Hybrid origins of honeybees from Italy (*A. m. ligustica*) and Sicily (*A. m. sicula*). *Molecular Ecology*, 9(7), 907–921.
- Franck, P., Garnery, L., Loiseau, A., Oldroyd, B. P., Hepburn, H. R., Solignac, M., & Cornuet, J. M. (2001). Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data. *Heredity*, 86, 420–430.
- Güler, A. (2001). Artvin Borçka Camili ( Macahel ) Yöresi Bal Arısı (*Apis mellifera* L .)’ nin Morfolojik Özellikleri. *The Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25, 473–481.
- Guler, A., & Bek, Y. (2002). Forewing angles of honey bee (*Apis mellifera*) samples from different regions of Turkey. *Journal of Apicultural Research*, 41(1–2), 43–49.
- Guler, A. (2010). A morphometric model for determining the effect of commercial queen bee usage on the native honeybee (*Apis mellifera* L.) population in a Turkish province. *Apidologie*, 41(6), 622–635.
- Kambur, M. (2017). *Determination of Honey Bee (Apis Mellifera L.) Biodiversity of Turkey by Using Geometric Morphometric Methods*, (MSc Thesis), Düzce University, Institute of Science, Düzce, Turkey.
- Kambur, M., & Kekeçoğlu, M. (2018a). The loss of genetic diversity on native Turkish honey bee (*Apis mellifera* L.) subspecies. *Anadolu Journal of Agriculture Science*, 33, 73–84.
- Kambur, M, & Kekecoglu, M. (2018b). The current situation of Turkey Honey Bee (*Apis mellifera* L.) biodiversity and conservations studies. *Biodicon*, 11(1), 105-119.
- Kandemir, I., Kence, M., & Kence, A. (2000). Genetic and morphometric variation in honeybee (*Apis mellifera* L.) populations of Turkey. *Apidologie*, 31(1), 343-356.

- Kandemir, I., Kence, M., & Kence, A. (2005). Morphometric and electrophoretic variation in different honeybee (*Apis mellifera* L.) populations. *The Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(3), 885–890.
- Kandemir, I., Pinto, M. A., Meixner, M.D., & Sheppard, W.S. (2006a). Hinf-I digestion of cytochrome oxidase I region is not a diagnostic test for *A. m. lamarckii*. *Genetics and Molecular Biology*, 29(4), 747-749.
- Kandemir, I., Kence, M., Sheppard, W.S., & Kence, A. (2006b). Mitochondrial DNA variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations from Turkey. *Journal of Apicultural Research Bee World*, 45(1), 33–38.
- Kekecoglu M (2007). *A comparative investigation of honeybee ecotypes of turkey by means of mtDNA and some morphological traits*, Ph.D. Thesis, Namık Kemal University, Institute of Science, Tekirdağ, Turkey.
- Kekeçoğlu, M., Bouga, M., Soysal, M. I., & Harizanis, P. (2009). Genetic Divergence and Phylogenetic Relationships of Honey Bee Populations From Turkey Using Pcr-Rflp's Analysis of Two mtDNA Segments. *Bulgarian Journal of Agricultural Sci.*, 15 (6), 589-597.
- Kekeçoğlu, M., & Soysal M. I. (2010). Genetic Diversity of Bee Ecotypes in Turkey and Evidence for Geographical Differences. *Romanian Biotechnological Letters*, 15 (5), 5646-5653.
- Kekeçoğlu, M., Eroğlu, N., Kambur, M., & Uçak, M. (2020). The relationships between propolis collecting capability and morphometric features of some honey bee races and ecotypes in anatolia. *Journal of Agricultural Sciences*, 26 (1).
- Kence, A. (2006). Türkiye balarılarında genetik çeşitlilik ve korunmasının önemi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 6, 25–32.
- Koca, A.Ö., & Kandemir, İ. (2013). Comparison of two morphometric methods for discriminating honey bee (*Apis mellifera* L.) populations in Turkey. *Turkish Journal of Zoology* 37, 205-210.
- Özbakır, G. Ö. (2011). *Türkiye'nin güneydoğu sınırboyu bal arısı populasyonlarının (Apis mellifera L.) morfolojik özellikleri*, Ph.D. Thesis, Ankara University, Ankara, Turkey.
- Ozdil, F., Yıldız, M. A., & Hall, H. G. (2009). Molecular characterization of Turkish honey bee populations (*Apis mellifera*) inferred from mitochondrial DNA RFLP and sequence results. *Apidologie* 40, 570–576.
- Palmer, M.R., Smith, D.R., & Kaftanoğlu, O. (2000). Turkish honeybees: Genetic variation and evidence for a fourth lineage of *Apis mellifera* mtDNA. *Journal of Heredity* 91(1), 42–46.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 156,945–959.
- Rohlf, F.J. (2000). NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.20e, Exeter Publication, New York.
- Rothenbuhler, W.C, & Kerr, W.E. (1968). Bee genetics. *Annual Review of Genetics* 2, 413–438.
- Ruttner, F. (1988). Biogeography and taxonomy of honeybees. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH*.
- Sheppard, W.S., & Meixner, M.D. (2003). *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia. *Apidologie*, 34, 367–375.
- Sıralı, R. (2002). General beekeeping structure of Turkey. *Journal of Uludağ Beekeeping Research*, 4, 31-40.
- Smith, D.R., Slaymaker, A., Palmer, M., & Kaftanoğlu, O. (1997). Turkish mitochondrial lineage. *Apidologie* 28(1), 269–274.
- SPSS. (2005). IBM SPSS Statistics 15.0 for Windows. Armonk, NY.
- Wilson, E. O. (1971). *The Insect Societies*. Harvard University Press. Cambridge, Mass.



## Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Research Article (Araştırma Makalesi)

### Cowpea Farmers' Vulnerability and Adaptation to Climate Change in Iddo Local Government Area of Oyo State, Nigeria

Kayode ARIMI<sup>1\*</sup>, Micheal Faith KOLAYEMI<sup>2</sup>, Oluranti FATUFE<sup>3</sup>,  
Akpan Theophilus JOSHUA<sup>4</sup>

<sup>1,2</sup>University: National Open University of Nigeria, Faculty of Agriculture, Dept: Agricultural Extension and Management, city: Ibadan, Country: Nigeria

<sup>3</sup>University of Ibadan, Faculty: Agriculture, Dept: Agricultural Extension and Rural Development, City: Ibadan, Country: Nigeria

<sup>4</sup>University: University of Ibadan, Faculty: Faculty of the Social Science, Dept: Sociology, City: Ibadan, Country: Nigeria

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-2862-2728> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-5149-5264> <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0001-9424-7351>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0002-8702-734X>

\*Corresponding author e-mail: arimi2009@yahoo.com

#### Article Info

Received: 11.02.2020

Accepted: 06.08.2020

Online Published 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.687100

#### Keywords

Adaptation,  
Climate-change,  
Cowpea,  
Vulnerability.

**Abstract:** Climate change is one of the factors affecting cowpea production in Nigeria. This paper assessed cowpea farmers' vulnerability to climate change and as well ascertained the adaptation strategies used in the Iddo local government area of Oyo state in Nigeria with the hope of achieving climate resilience for sustainable cowpea production. A survey of 108 randomly selected cowpea farmers revealed that the farmers in the study area were highly susceptible to climate change impacts. Most of the respondents (87.1%) had highly adopted climate change adaptation strategies for cowpea production. Their proactive solutions include combining various forms of adaptation strategies according to farm sizes and the intensity of their vulnerability. Significant relationship existed between farm size ( $r$ -values = 0.02,  $p$ -value=0.0), vulnerability to climate change ( $r$ -values 0.1,  $p$  = 0.01) and climate change adaptation strategies used by cowpea farmers. For effective climate change or variability resilience, adaptation policy for smallholder cowpea farming should require inputs from the local experts with understanding of local climatic variability and change of the farming community.

### Börülce Çiftçilerinin Nijerya'daki Oyo Eyaleti, Iddo Yerel Yönetim Alanındaki İklim Değişikliğine Hassasiyeti ve Uyumu

#### Makale Bilgileri

Geliş: 11.02.2020

Kabul: 06.08.2020

Online Yayınlanma 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.687100

#### Anahtar kelimeler

Adaptasyon,  
İklim değişikliği,  
Börülce,  
Hassasiyet.

**Öz:** İklim değişikliği Nijerya'da sebze üretimini etkileyen faktörlerden biridir. Bu çalışma börülce çiftçilerinin iklim değişikliğine karşı hassasiyetini değerlendirmiş ve ayrıca sürdürülebilir börülce üretimi için iklim koşullarına direnç sağlama amacıyla Nijerya'daki Oyo eyaletinin Iddo yerel yönetim alanında kullanılan uyum stratejilerini belirlemiştir. Rastgele seçilen 108 börülce çiftçisi üzerinde yapılan bir araştırma, çalışma alanındaki çiftçilerin iklim değişikliği etkilerine karşı oldukça duyarlı olduklarını ortaya koymuştur. Katılımcıların çoğu (% 87.1) börülce üretimi için iklim değişikliğine uyum stratejilerini benimsemiştir. Çiftçilerin proaktif çözümleri, çiftlik büyüklüklerine ve hassasiyetlerinin yoğunluğuna göre çeşitli uyum stratejileri biçimlerini birleştirmeyi içermektedir. Çiftlik büyüklüğü ( $r$ -değeri = 0.02,  $p$  = 0.0), iklim değişikliğine karşı hassasiyet ( $r$ -değeri 0.1,  $p$  = 0.01) ile börülce çiftçileri

tarafından kullanılan iklim değişikliğine uyum stratejileri arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Etkili iklim değişikliği veya direnç değişikliği için, küçük ölçekli börülce yetiştiriciliği için adaptasyon politikası, yerel iklimsel değişkenlik ve tarım topluluğunun değişimini anlayan yerel uzmanlardan gelen girdileri içermelidir.

## 1. Introduction

Cowpea production and consumption play important role in achieving food security and nutrition for people in sub-Saharan Africa (Murtala and Abaje, 2018). Cowpea is one of the primary sources of protein to many households especially in low-lying areas of Oyo state, Nigeria. In spite of the economic importance of cowpea, its production has been hampered by climate change intersection; and its production is usually intercropped with cereals such as maize, sorghum, roots and with tubers such as cassava, yam and sweet potatoes (Kolayemi, 2019). Climate change has direct impacts on cowpea production through erratic rainfall pattern, pest and diseases infestation (Apata, et al., 2009; Murtala and Abaje, 2018). According to Asante and Amuakwe-Mensha (2015), the major effects of climate change on agriculture produce include changing rainfall patterns that trigger reduction in agricultural production, reduction in food security, worsen water availability, decreasing fish resources in large lakes due to rising temperature and shifts in vector-borne diseases (IPCC, 2018). Furthermore, rising sea level resulting from climate change affects low-lying coastal areas with large populations, leading to increased risk of conflict over scarce land and water resources. Many farmers in developing countries are vulnerable to climate change impacts (Asante and Amuakwa-Mensah, 2015). Vulnerability is the characteristics of an individual or group of people and their situation that weakly or negatively influence their capacity to anticipate, cope with, resist and recover from the impact of a natural hazard. This conceptualization of vulnerability shifts attention to the role that social connections and supports play in buffering people, processes, and places when confronted with exposure to natural hazards (Collins et al., 2017).

Vulnerability assessment and climate change adaptation are recent concerns of policymakers, development planners, engineers and researchers. Vulnerability assessments help in identifying hotspots, and helping policymakers to prioritize, allocate resources and develop better adaptation planning. A vulnerability assessment is the complex form of risk appraisal, which considers both biophysical and socio-economic components of the environmental hazard (Eriksen and Kelly, 2007; El-Zeina and Tonmoy, 2017). In order to mitigate climate change impacts, the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) proposed a framework for vulnerability assessment that includes exposure, sensitivity and adaptive capacity. Exposure is the extent to which a socio-ecological system (SES) such as locality, region, community, infrastructure system) is exposed to the hazards in question (IPCC, 2014). Sensitivity is the propensity to damage resulting from exposure while adaptive capacity is the ability of the socio-ecological system to cope with, and recover from the damage.

To sustain cowpea production in Nigeria, there is a need to establish the extent of farmers' vulnerability to climate changes and to assess the adaptation measures used by farmers. Hence, this paper ascertains vulnerability and adaptation measures used by cowpea farmer in the study area. It is believed that a better understanding of farmers' vulnerability and adaptation measures will assist development planners and policy makers to take appropriate decisions on planning and implementation of adaptive measures.

## 2. Material and Methods

This study was conducted in Iddo local government area of Oyo state. Information was collected from 108 randomly selected registered and unregistered cowpea farmers (10% respondents out of 1080 total registered and unregistered cowpea farmers) in the study area. Information collected from the respondents comprised farmers' socio-economic characteristics, vulnerability to climate change and adaptation strategies used. Respondents were asked whether they were vulnerable to windstorm, low rainfall or water shortage, erosion-related land loss, low temperature, high temperature, excess rainfall and flooding.



Vulnerability was measured as vulnerable =1, otherwise = 0, while adaptation to climate change strategies used was measured by asking the farmers to list various adaptation strategies used. This was scored as follows: adaptation strategies used =1, otherwise =0. Data collected were analysed by using descriptive and inferential statistical tools such as frequency counts, percentages, chi-square and product moments correlation at 5% level of significance.

## 2.1. The independent variables were measured as follows:

*Age:* actual age in years

*Gender:* male =1, Female = 0

*Marital status:* married 1, otherwise = 0

*Education attainment:* formal education = 1, no formal education = 0

*Household size:* large household size = 1, small household size =0

*Farm size:* Actual farm size

*Monthly income:* Actual income

*Intensity of vulnerability:* Highly vulnerable = 1, less vulnerable = 0

*Types of adaption strategies used:*

Frequency of use index was determined.

## 3. Results and Discussion

### 3.1. Age

Table 1 shows that 56.8 % of the respondents were over 40 years old. The mean age of the respondents was 49.9 years. As majority of the cowpea farmers consisted of the middle age and older people, they were expected to have adequate knowledge of the effects of climate change or variation on cowpea production and must have devised adaptation strategies over time. This finding corroborates Arimi (2014) which revealed that farmers in southwest Nigeria fall between the ages of 41 – 60 years. This is a clear indication that the farmers were old enough to give responses on climate change issues affecting cowpea over the years.

*Sex:* According to Table 1, majority (65.7%) of the respondents were male, while only 34.3% were female. As most of the cowpea farmers in the study area were male, this development may be due to the fact that farming activities requires much energy that the female farmers may not find easy to cope with. This is in line with research carried out by Apata et al. (2011) who observed that farmers in Nigeria were predominantly male.

*Marital status:* Majority (62.0%) of the respondents were married as shown in Table 1, 15.7% were widowed, while 16.7% of the respondents were divorced. As majority of the respondents were of middle age or older as shown in their socio –economic characteristics, they are expected to be married with children that would assist in farming activities. Married farmers with low income may have to consider their family welfare before investing in climate change adaptation technology that would improve their adaptation capacity. This finding is supported by Hoa et al. (2019) who observed women's marital status as a vital factor in determining her access to adaptation technology.

*Farming experience:* At least 37.7% of the respondents had a minimum farming experience of between 1 and 5years. Most (70.6%) of the respondents had over 5 years farming experience. It is expected that farmers with longer farming experience would have developed better skills towards climate change vulnerability that is likely to help their productivity improvement. This conforms to a study conducted by Molua and Lambi (2015), and Apata et al., (2009) who observed that farmers to a large extent have been able to develop some local adaptation strategies that enabled them to consistently cope with climate change impacts.

*Educational attainment:* Table 1 depicts that 32.5% of the respondents had no formal education, 17.6% had primary education and 25.9% had secondary education while 23.1% had tertiary education. This indicates that 67.5% of the farmers had formal education. Farmer's level of education and literacy is an additional factor gathered through knowledge from media sources that is expected to influence adoption of climate change adaptation technology. This is supported by Hoa et al. (2019) who observed that educated farmers tend to adopt improved farming technology than their uneducated counterparts.

Table 1. Distribution of socio- economic characteristic of the respondents (N=108).

Age	Frequency	Percentage	Mean
≥30	27	24.9	
31- 40	20	18.8	49.9
41 – 50	24	22.4	
51 – 60	17	15.8	
61 and above	20	18.6	
Total	108	100	
Sex			
Female	37	34.3	
Male	71	65.7	
Total	108	100	
Marital status			
Single	6	5.6	
Married	67	62.0	
Widowed	17	15.7	
Divorced	18	16.7	
Total	108	100.0	
Farming experience			
1-5 years	32	37.7	
6 – 10 years	35	32.5	
11-15 years	18	16.8	
16 and above	23	21.3	
Educational status			
No formal education	36	32.5	
Primary	19	17.6	
Secondary	28	25.9	
Tertiary	25	23.1	
Total	108	100.0	
Household size			
≥5	69	63.9	5.0
6-10	31	28.7	
11-15	8	7.4	
Total	108	100	
Primary occupation			
Farming	86	79.6	
Trading	15	13.9	
Teaching	3	2.8	
Artisan	3	2.8	
Others	1	0.9	
Total	108	100.0	
Secondary occupation			
Farming	69	63.8	
Trading	15	13.9	
Teaching	2	1.9	
Artisan	13	12.0	
Others	9	8.3	
Total	108	100.0	
Farm size (acres)			
≥5	67	62	7.2
6-10	22	20.4	
11 and above	19	17.7	
Total	108	100.0	
Land ownership			
Own	42	38.9	
Rented	26	24.1	
Community	25	23.1	
Farmers group	15	13.9	
Total	108	100.0	
Monthly income (₦)			Mean
5,000 -15,000	48	44.5	₦20,972.2
16,000-25,000	21	27.5	
26,000- 30,000	19	17.7	
33,000 and above	20	18.5	

*Household-size:* Table 1 reveals that 63.9% of the respondents had between 1 and 5 members per household while 28.7% of respondents had between 6 and 10 members per household. This finding shows that most farmers had low family size. Incidents of smaller household size have serious implications in promoting climate change technology utilization for increasing cowpea production. This finding corroborates Kolayemi (2019) who observed that cowpea farmers in South-west Ethiopia have relatively small household size holders; and household sizes play crucial role in technology adoption for cowpea production.

*Primary occupation:* Farming was the primary occupation of 79.6% of the respondents. As most of them had farming as their occupation, they are likely to concentrate on farming activities and adopt measures to deal with factors that may hinder their productivity. This result reveals that some of the respondents were also involved in other occupations such as trading (13.9%) and other was artisans (12.0%). Occupational diversity into other income sources and livelihood activities creates additional financial resources to minimize their shock, shortage of cash and crisis evolving from climate change.

*Farm size:* Sixty-two point six percent (62.6%) of the respondent had at least 5 acres of land as shown in Table 1 while 17.7% had access to over 11 acres of land. This is an indication that many of the farmers were small farm-size holders. This corroborates Arimi (2015) who posited that most of the farmers in South west, Nigeria were small size holders' farmers. Farm size may affect farmer's technology adaptation or utilization. For instance, farmers with large farm size may adopt improved technology more than small farmers in order to reduce drudgery on the farm.

*Land ownership:* Thirty-eight point nine percent (38.9%) of the respondents were land owners, while others farmed on land that is rented (24.1%), owned by community (23.1%) or owned by farmers' group (13.9%). Land ownership may influence farmers' willingness to invest on technology that will improve their productivity. For instance, farmers' may not want to invest on new technology when using rented or borrowed land for fear of unknown.

*Monthly income:* Forty-four point five percent (44.5%) of respondents earned between ₦5000 to ₦15000 monthly as shown in Table 1. Farmers' income plays an important role in the adoption of climate change adaptation technology, as it is believed that the higher the income, the more the availability of financial resources to purchase or invest in new farming technology.

### **3.2. Description of farmers on vulnerability to climate change**

Table 2 below reveals that 49.1% of the farmers were either highly or moderately vulnerable to erratic rainfall, 54.6% of the respondents were either highly or moderately vulnerable to low amount of rainfall. Most (62.0%) of the respondents indicated that they were either highly or moderately vulnerable to dry spell while 63.9% indicated that they were vulnerable to early cessation of rainfall. These results reveal that most of the farmers were vulnerable to climate change or variation in the study area.

Other climate change impacts which the farmers were vulnerable to include flood (42.6%) and windstorm (34.3%). This finding is supported by Kiprotich et al. (2015) who posited that flooding can damage seedlings on the field. Moreover, Fifty percent of the respondents were highly vulnerable to increased temperature. This finding is an indication that farmers were exposed to change in climatic parameters which affect their agricultural production. This conforms to Ajetomobi and Abiodun (2010) who concluded that climate change have adverse effects on cowpea production.

Table 2. Farmers vulnerability to climate change (N=108)

S/N	Perception of Climate Change	Highly vulnerable		Moderately vulnerable		Not vulnerable	
		Frequency	%	Frequency	%	Frequency	%
1.	Rainfall Pattern						
A	Erratic Rainfall	20	18.5	33	30.6	55	50.9
B	Low level or rainfall	20	18.5	39	36.1	49	45.4
C	Late, onset of dry spell	39	36.1	28	25.9	41	38.0
D	Early cessation of rainfall	25	23.1	44	40.7	39	36.1
E	Decreased rainfall amount	17	15.7	28	25.9	63	58.3
F	Increased rainfall amount	55	50.9	28	25.9	25	23.1
G	Flood	46	42.6	40	37.0	22	20.4
2.	Windstorm	37	34.3	44	40.7	27	25.0
3.	Temperature changes						
i.	Increased temperature	19	17.6	35	32.4	54	50.0
ii.	Constant temperature						
iii.	Reduced temperature	40	37.0	42	38.9	26	24.1

### 3.3. Description of respondents according to their adaptation strategies used

According to Table 3 Forty-five point three percentages (45.3%) of the respondents occasionally plant cover crops, this may help to prevent flood and reduce land degradation. About 30.5% of the respondents occasionally adopt minimum tillage while 50.9% occasionally use mulching to preserve soil moisture. Mulching reduces soil moisture evaporation thereby making water available to the crop planted. Some respondents (41.6%) adopt crop rotation in order to maintain soil fertility. These results corroborate Kolayemi (2019) who confirmed that adoption of cover crop; minimum tillage and crop rotation were important systems of soil moisture management.

Table 3 also shows that 39.8% of the respondents occasionally increased the use of fertilizer. Farmers tend to increase fertilizer application in order to maintain soil fertility due to negative impact of climate change on soil. Twenty-nine point six percentage (29.6%) adopted agro- forestry in order to cope with climate change while some respondents (44.4%) occasionally listened to early warning information from radio, television and extension officers. Since the farmers make use of early warning information they may have prepared for negative impacts of climate change on their farms.

Other adaptation strategies used by the cowpea farmers include planting of trees as hedge (35.2%), plating of diseased resistance variety (25.9%), increased the use of pesticide (43.5%), and increased use of herbicide (38.0%). Farmers planted trees as hedges so as to help create a natural barrier to windstorm while some respondents make use of pesticides to control pest infestation. The use of herbicides helps in reducing or controlling of weeds. These findings are conformed to Kolayemi (2019) who concluded that farmers intensified the use of pesticides and herbicides to protect crops from pests, diseases and weeds emerging as a result of environmental change.

Twenty-nine point six percentages (29.6%) of the farmers make use of pumping machine for irrigation, 30.6% devided water storage facilities in order to harvest rainfall for irrigation while 21.3% respondents constructed local dam to cope with water shortage. This is in line with Food and Agriculture Organization (2011) who observed that farmers have devised various means of irrigation (such as mechanized pump, reservoir, and water- lifting devices) on their farm to cope with climate change. In addition, Smallholder farmers in Africa are increasingly using small-scale irrigation to cultivate their land. This enables farmers to achieve more reliable, profitable and sustainable production, increase their resilience and, in some cases, transform their livelihoods.

About 34.3% of the respondents diversify into other crops or livestock due to negative impact of climate change. Diversification of the farmers into other livelihood activities was due to uncertainties that are likely to result from climate change. Diversification of the farmers to other activities may hinder sufficient cowpea production in the study area

**Table 3. Distribution of respondents according to climate change adaptation strategies used (N=108)**

S/N	Climatic change adaptation strategies	Level of Use					
		Never use		Occasionally		Always	
		Frequency	%	Frequency	%	Frequency	%
1	Planting cover cropping	27	25.0	49	45.3	32	29.6
2	Minimum tillage	20	18.5	33	30.5	55	50.9
3	Mulching to preserve soil moisture	43	39.8	55	50.9	10	9.3
4	Crop Rotation	28	25.9	45	41.6	35	32.4
5	Increase use of soil fertilizer	33	30.6	43	39.8	32	29.6
6	Adoption of Agro – forestry	40	37	32	29.6	36	33.3
7	Use of drought-tolerant crop Varieties	21	19.4	45	41.6	42	38.9
8	Listening to early warning information	14	13.0	48	44.4	46	42.6
9	Planting of trees as hedges	27	25.0	38	35.2	43	39.8
10	Planting of resistance to diseases crop	20	18.5	28	25.9	60	55.5
11.	Adoption of late or early planting	16	14.8	34	31.5	57	53.7
12.	Diversification into other crops or livestock	27	25.0	37	34.3	44	40.7
13.	Use of pumping machine or water pipe, watering for irrigation (Borehole)	29	26.9	32	29.6	47	43.5
14.	Use of water storage facilities/water harvester	27	25.0	30	27.8	51	47.2
15.	Construction of water harvester for water storage	25	23.1	33	30.6	50	46.3
16.	Construction of local dam	18	16.7	23	21.3	67	62.0
17.	Increase use of pesticides	11	10.2	47	43.5	50	46.3
18.	Increase use of herbicides	16	14.8	41	38.0	51	47.2

### 3.4. Category of respondents based on their climate change adaptation strategies used

Table 4 reveals that most of the respondents (87.1%) had highly adopted climate change adaptation strategies for cowpea production. Since, most of the respondents had adopted climate change adaptation strategies; it is expected that the farmers would overcome the adverse effect of climate change on cowpea production in the study area.

**Table 4. Category of respondents based on their climate change adaptation strategies used (N=108)**

Level of use	Frequency	Percentage	Mean
Low	13	12.0	
High	94	87.1	21.3
Total	108	100	

### 3.5. Relationship between socio – economic characteristics of the respondents and effectiveness of climate change adaptation strategies used.

Table 5 reveals that there is a significant relationship between marital status and climate change adaptation strategies used by cowpea farmers ( $\chi^2 = 9.7$ ,  $p = 0.02$ ) in the study area. This implies that farmers who were single easily acquired climate change adaptation technology than their married counterpart. Married farmers had to consider their family welfare before investing climate change adaptation technology in the study area. This finding corroborates Getachew et al. (2014) who observed that marital status influenced adoption of climate change adaptation technology used by farmers in Uganda.

There was a significant relationship between primary occupation and the climate change adaptation technology used ( $\chi^2 = 2.6$ ,  $p = 0.02$ ) for cowpea production. This implies that farmers who concentrate on cowpea production are likely to adopt adaptation strategies that will improve their farming system. However, that there was no significant relationship between gender and effectiveness of climate change technology used ( $\chi^2 = 1.5$ ,  $p = 0.3$ ) for cowpea production. This implies that both male and female cowpea farmers used climate change adaptation strategies as recommended by extension agents. Similarly, there were no significant relationship between educational attainment ( $\chi^2 = 5.6$ ,  $p = 0.13$ ), social group ( $\chi^2 = 3.5$ ,  $p = 0.4$ ) and climate change adaptation strategies used. This implies that both the literates and illiterates used climate change adaptation technology to improve their productivity.

Table 5. Relationship between social – economic characteristics of the respondents and effectiveness of climate change adaptation

Variable	Chi square ( $\chi^2$ )	Df	p-values	Decisions
Marital status	9.7	1	0.02	S
Primary occupation	2.6	4	0.02	S
Gender	1.5	1	0.3	NS
Educational status	3.5	4	0.4	NS
Social group	5.6	3	0.13	NS

### 3.6. Correlation between age, household size, farm size, monthly income, vulnerability to climate change, effects of climate change on cowpea production, adaptation to climate change and effectiveness of climate change adaptation technology used

Table 6 depicts that there was a significant relationship between farm size ( $r$ -values = 0.02,  $pv=0.0$ ) and climate change adaptation strategies used by cowpea farmers. This implies that farmers with large farm size adopted climate change adaptation technology more than their counterparts with smaller farm sizes. There was also a significant relationship between the vulnerability of farmers to climate change and ( $r$ -values 0.1,  $pv = 0.01$ ) climate change adaptation strategies used by cowpea farmers. This implies that the more the vulnerability the more the farmers would seek adaptation measures for resilience.

On the other hand, there were no significant relationship between age and ( $r$ -values,  $pv = 0.7$ ), monthly income ( $r$ -values 0.3,  $pv = 0.7$ ) and climate change adaptation strategies used by cowpea farmers. This finding shows that age did not influence adoption of climate change adaptation strategies as both the young and old farmers sought the use of adaptation technology that will reduce the impact of climate change on their farms. Also, both low and high-income earning farmers invest in climate change adaptation technology that will improve their farm productivity.

Table 6. Distribution of correlation between age, household size, farm size, monthly income, vulnerability, effects, adaptation and effectiveness of climate change adaptation technology used

Variables	r-values	Df	p-values	Decisions
Age	0.2	106	0.7	NS
Farm size	0.2	106	0.0	S
Monthly income	0.3	106	0.7	NS
Vulnerability to climate change	0.1	106	0.01	S

NS – Not significant, S – Significant

Source: Field survey, 2019.

## 4. Conclusion and Recommendations

Cowpea production in the study area is vulnerable to climate change impacts such as drought, flooding, and increased temperature. The negative consequences of climate change spurred the adoption of adaptation strategies. The farmers combined at least two or more adaptation measures according to the degree of their vulnerability. The adaptation strategies used included the planting of cover crops, use of minimum tillage, planting of disease-resistant tree variety, increased the use of pesticide, increased use of herbicide, use of pumping machine for irrigation, construction of water storage facilities to harvest rainfall for irrigation, building of local dam for irrigation and diversification into other crops or livestock farming. There was significant correlation between farm sizes ( $r$ -values = 0.02,  $pv=0.0$ ), vulnerability of farmers to climate change ( $r$ -values 0.1,  $pv = 0.01$ ) and climate change adaptation strategies used by cowpea farmers. Degree of farmers' vulnerability and farm sizes determined the adaptation measured used by cowpea farmers in the study area. Therefore, stakeholders who promote sustainable climate change adaptation would need to consider the prevailing climatic variables when implementing climate change adaptation policy for resilience.

Moreover, adaptation policy for smallholder cowpea farming should stipulate inputs from local experts who have better understanding of climatic variability and change of the farming community.

### Acknowledgements

We sincerely appreciate the staff and authority of the National Open University of Nigeria, Ibadan Study Centre for giving us the opportunity to conduct the research and publish it. Thank you.

### References

- Ajetumobi, J. & Abiodun, A. (2010). Climate change impacts on cowpea productivity in Nigeria. *AJFAND*, 10, 3. 3-10
- Apata T.G., Samuel K. D. & Adeola, A. O. (2009). Analysis of Climate Change Perception and Adaptation among Arable Food Crop Farmers in South Western Nigeria. Contributed Paper prepared for presentation at the International Association of Agricultural Economists' 2009 Conference, Beijing, China, August 16-22, 2009. .2-6
- Apata, T. G. (2011). Factors influencing the perception and choice of adaptation measures to climate change among farmers in Nigeria. Evidence from farm households in Southwest Nigeria. *Environmental Economics*, 2(4), 74–83.
- Arimi K. (2015). *Factors affecting utilisation of Federal Agricultural Research Oryza rice production technology among farmers in Ogun and Ekiti states, Nigeria*. A PhD thesis in the Department of Agricultural Extension and Rural Development, Faculty of Agriculture and Forestry, University of Ibadan. .44
- Asante, F.A. & Amuakwa-Mensah, F. (2015). Climate change and variability in Ghana: stocktaking. *Climate 2015*, 3, 78-99.
- Collins, J.M., R.L. Eising, & Polen, A. (2017). Evacuation Decision Making during Hurricane Matthew: An Assessment of the Effects of Social Connections. *AMS Weather, Climate and Society*, 9 (4), 769-776.
- El-Zeina, A., Fahim, N., & Tonmoy F. N. (2017). Nonlinearity, fuzziness and incommensurability in indicator-based assessments of vulnerability to climate change: A new mathematical framework. *Ecological Indicators*. (82), 82–93
- Eriksen, S., & Kelly, P., (2007). Developing credible vulnerability indicators for climate adaptation policy assessment. *Mitig. Adapt. Strat. Global Change* 12, 495–524.
- Food and Agriculture Organization (2011). *Climate change, water and food security*: FAO Water Report. FAO Rome. Pp xxv11
- Getachew, S., Tilahun, T & Teshager, M. (2014): Determinants of Agro-pastoralist Climate Change Adaptation Strategies: Case of Rayitu Woredas, Oromiya Region, Ethiopia. *Research Journal of Environmental Sciences*, 8, 300-317.
- Hoa Le Dang, Elton Li, Ian Nuberg & Johan Bruwer (2019). *Factors influencing the adaptation of farmers in response to climate change: a review*, Climate and Development,
- Inter-governmental Panel on Climate Change (IPCC). (2014). *Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability. part A: global and sectoral aspects. In: Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, Cambridge University Press. pp 11.
- IPCC (2018). *Summary for policymakers. In: Global warming of 1.5°C. An IPCC special report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty*. World Meteorological Organization, Geneva, Switzerland
- Kiprotich M. J., Edward Mamati E., & Bikketi E. (2015). Effect of climate change on cowpea production in Mwanja watershed: a case of Machakos county. *International Journal of Education and Research*: 3(2), 287-298
- Kolayemi, M. F. (2019). *Precision farming and climate change adaptation strategies used among cowpea farmers in ido local government area of Oyo state: An undergraduate project*

*submitted to the Faculty of Agriculture Science, National Open University of Nigeria, Abuja, Nigeria: 11*

- Molua E.L & Lambi C.M (2015). "The economic impact of climate change on agriculture in Cameroon. *The World Bank Policy Research Working Paper*". 5, 1-31.
- Morakinyo J. A., & Ajibade S.R (2012). Characterization of the segregants of an improved cowpea line IT84K-124-6. *Nigerian Journal Science*, 32, 27-32.
- Murtala, M. & Abaje, I.B. (2018). Effects of Climate Change on cowpea yield in Kaduna State, Nigeria: evidence from rainfall and temperature parameters. *Dutse Journal of Pure and Applied Sciences (DUJOPAS)*; 4 (2), 2.





Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Research Article (Araştırma makalesi)

**Phylogeny of Plant Growth-Promoting Actinobacteria Isolated from Legume Nodules in Turkey**

**Hilal AY\*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs University, Faculty of Science and Arts, Department of Molecular Biology and Genetics, 55139, Samsun, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-8735-4703>

\*Corresponding author e-mail: [hilal.ay@omu.edu.tr](mailto:hilal.ay@omu.edu.tr)

**Article Info**

Received: 17.03.2020

Accepted: 07.08.2020

Online Published 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.705227

**Keywords**

*Actinobacteria*,  
16S rRNA,  
Indole acetic acid,  
*Lathyrus*,  
*Vicia*.

**Abstract:** Actinobacteria are a biotechnologically important group of microorganisms utilized for their high capacity to synthesize many bioactive substances as well as agriculturally important compounds. In the present study, a culture-dependant approach was employed to isolate actinobacteria from wild legume nodules and their plant growth-promoting activities for indole-3-acetic acid production, atmospheric nitrogen fixation and inorganic phosphate solubilisation was investigated. A molecular approach based on 16S rRNA gene sequence analysis was employed to identify the isolates. After pairwise sequence analysis, six isolates were identified as members of the genera *Streptomyces* and *Micromonospora*. All isolates could produce indole-3-acetic acid and utilize atmospheric nitrogen while only one isolate was able to solubilize inorganic phosphate. The isolated actinobacteria are considered to be promising candidates for biological fertilizers especially because of their ability to use atmospheric nitrogen and produce high level of indole-3-acetic acid.

**Türkiye’de Baklagil Nodüllerinden İzole Edilen Bitki Gelişimini Destekleyici Aktinobakterilerin Filogenisi**

**Makale Bilgileri**

Geliş: 17.03.2020

Kabul: 07.08.2020

Online Yayınlanma 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.705227

**Anahtar kelimeler**

*Aktinobakteriler*,  
16S rRNA,  
İndol asetik asit,  
*Lathyrus*,  
*Vicia*.

**Öz:** Aktinobakteriler, tarımsal önemi olan moleküllerin yanı sıra birçok biyoaktif metabolitin üretimindeki işlevlerinden dolayı yararlanan, biyoteknolojik olarak önemli bir mikroorganizma grubudur. Bu çalışmada, yabancı baklagil nodüllerinden kültüre dayalı bir yaklaşımla aktinobakteriler izole edilmiş ve indol-3-asetik asit üretimi, atmosferik azot fiksasyonu ve inorganik fosfatı çözebilme özellikleri açısından bitki gelişimini destekleyici aktiviteleri araştırılmıştır. İzolatları tanımlamak amacıyla 16S rRNA gen dizi analizine dayanan bir moleküler yaklaşım kullanılmıştır. İkili dizi analizleri sonrasında altı izolatın *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinslerinin üyeleri olduğu tespit edilmiştir. Bütün izolatlar indol-3-asetik asit üretebilmiş ve atmosferik azotu kullanabilmiştir. Ancak sadece bir izolat inorganik fosfatı çözünür hale getirebilmiştir. İzole edilen bu aktinobakteriler, özellikle atmosferik azotu kullanabilmeleri ve indol-3-asetik asit üretebilmeleri nedeniyle umut verici biyolojik gübre adayları olarak değerlendirilmektedir.

## 1. Introduction

Plant growth-promoting microbes are soil and rhizosphere inhabitants affecting plant growth beneficially through different mechanisms (Velázquez et al., 2017). Among the plant associated-microorganisms, *Actinobacteria* are widely known due to their high potential to synthesize vast array of bioactive metabolites which may have positive effect on plant growth (Lehr et al., 2008). *Actinobacteria* are a group of filamentous, Gram-positive microorganisms which have high G+C content in their genomes, and they are widely distributed in both aquatic and terrestrial ecosystems. These bacteria are known to synthesize diverse compounds with distinct chemical structures and play important roles in nutrient cycling owing to their ability to degrade recalcitrant polymers such as chitin, lignocellulose and pectin (Barka et al., 2016).

Actinobacteria can also colonise rhizosphere and endophytic tissues of plants effectively, and survive under unfavourable environmental conditions (Grover et al., 2016). Thus, the potential of actinobacteria to improve plant growth has been extensively reported in recent decades. Many studies have reported plant growth promotion traits including phosphate solubilisation, nitrogen fixation, indole-3-acetic acid (IAA) and siderophore production in this promising group of bacteria (Jog et al., 2012; Cruz et al., 2014; Trujillo et al., 2015). Coombs and Franco (2003) had isolated and identified various actinobacteria from endophytic tissues of healthy wheat plants and demonstrated that *Streptomyces* sp. EN27 could colonize in sprouting wheat seeds. It was reported that *Streptomyces* sp. WYEC108 isolated from flax rhizosphere increased number and size of nodules in *Pisum sativum* by colonizing in the roots and also enhanced uptake of iron and other nutrients by the plant (Tokala et al., 2002). Goudjal et al. (2013) isolated various actinobacteria from wild plants adapted to harsh climate conditions and low nutrient levels in the Saharan Desert and reported that some of these actinobacteria could produce indole-3-acetic acid. In addition, they demonstrated that seed germination and shoot length in tomato seeds treated with fermentation broth of these bacteria increased significantly (Goudjal et al., 2013).

Legumes constitute a large group of plants and are considered an important protein source for human consumption (Fidan and Ekinialp, 2017). Bacteria dwelling in legume nodules are grouped into two categories, i.e. the rhizobia, responsible for nodule formation, and the other endophytic bacteria, e.g. actinobacteria, whose role in nodules is still poorly known (Velázquez et al., 2017). However, recent studies have shown that actinobacteria from legume nodules could promote plant growth in various ways such as by producing plant hormones or by fixing atmospheric nitrogen (Trujillo et al., 2015; Benito et al., 2017). This study was conducted to isolate and identify plant growth-promoting actinobacteria from wild legume nodules. This is the first study revealing plant growth-promoting actinobacteria which can produce indole-3-acetic acid and fix atmospheric nitrogen, isolated from wild legumes distributed in Turkey. Considering the high potential of actinobacteria for biotechnological applications, the results of present study will have application in agricultural biotechnology.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Isolation of actinobacteria

Legume specimens belonging to the genera *Lathyrus* and *Vicia* were collected from Samsun and kept sterile bags until isolation of microorganisms. For the isolation of actinobacteria, five nodules from each plant were randomly picked. Endophytic actinobacteria from legume nodules were isolated following the instructions described by Qin et al. (2009). Briefly, the nodules were sterilized using 5% NaOCl (4-10 min), 2.5% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (10 min), 75% ethanol (5 min) and 10% NaHCO<sub>3</sub> (10 min) successively, followed by a final wash step in sterilized distilled water and thoroughly dried under aseptic conditions. After surface sterilization process, one nodule from each plant was placed on the surface of the isolation media to validate the surface sterilization procedure. For the isolation of endophytic actinobacteria, the nodule samples were smashed into small pieces using a mortar and pestle. Then, the samples were diluted with ¼ Ringer's solution (Oxoid) and the diluted aliquots (200 µl) were transferred on the surfaces of ISP 2 agar (yeast extract 4 gL<sup>-1</sup>, malt extract 10 gL<sup>-1</sup>, dextrose 4 gL<sup>-1</sup>, agar 20 gL<sup>-1</sup>, distilled water 1000 ml, pH 7.2-7.4) and Czapek-Dox agar (sucrose 30 gL<sup>-1</sup>,

NaNO<sub>3</sub> 3 gL<sup>-1</sup>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 gL<sup>-1</sup>, KCl 0.5 gL<sup>-1</sup>, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 gL<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 gL<sup>-1</sup>, agar 13 gL<sup>-1</sup>, distilled water 1000 ml, pH 7.2-7.4) media prepared for the cultivation of actinobacteria. The inoculated plates were incubated at 28°C for 4 weeks. The actinobacteria-like colonies were purified and preserved in glycerol stock solutions (25%, v/v) at -20°C.

## 2.2. Identification and phylogenetic analysis of actinobacteria

According to the colour of substrate and aerial mycelia and the production of diffusible pigments, a total of six morphologically distinct isolates were selected and further analysed. The isolates were identified on genus level based on almost full length 16S rRNA gene sequence analysis. The genomic DNA of each isolate was obtained using PureLink Genomic DNA Isolation Kit (Invitrogen). The 16S rRNA genes from pure cultures were amplified using the universal primers 27F (5'-AGAGTTTGATC(AC)TGGCTCAG-3') and 1492R (5'-ACGG(CT)TACCTTGTACGACTT-3') as described previously (Ay et al., 2019). Purified PCR products were sequenced by Macrogen Inc. using an ABI PRISM 3730 XL automatic sequencer and the obtained 16S rRNA gene sequences were deposited in GenBank data library (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Pairwise sequence similarities for the almost complete 16S rRNA genes were conducted on EzBioCloud server (<https://www.ezbiocloud.net/>) (Yoon et al., 2017) and also on GGDC web server (Meier-Kolthoff et al., 2013) available at <http://ggdc.dsmz.de/>. Phylogenetic relationships were inferred by maximum likelihood and maximum parsimony trees as previously described (Ay et al., 2019).

## 2.3. Analysis of plant growth-promoting abilities

The isolates were screened for the abilities to synthesize IAA, fix atmospheric nitrogen and solubilize inorganic phosphate following the methods described by Ali et al. (2009), Li et al. (2018) and Gaur (1990), respectively, with minor modifications. For the colorimetric analysis of IAA production, the isolates were grown in tryptone-yeast extract-glucose broth for a week at 28°C and then 1 ml of culture broth was inoculated to sucrose-minimal salts (SMS) medium (10 gL<sup>-1</sup> sucrose, 1 gL<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>, 2 gL<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.5 gL<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>, 0.1 gL<sup>-1</sup> NaCl, 0.5 gL<sup>-1</sup> yeast extract, 0.5 gL<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>, 1 mg ml<sup>-1</sup> L-tryptophan, pH 7). After 7-day incubation at 28°C, 1 ml centrifuged broth obtained from bacterial culture grown in SMS medium was transferred into a tube and mixed with 2 ml of Salkowski's reagent (2 ml of 0.5 M FeCl<sub>3</sub>, and 98 mL of 35% HClO<sub>4</sub>, 1:1 v/v). A pink colour produced after 30-min incubation at room temperature was observed. For the quantitative analysis of IAA production, the absorbance was measured at 530 nm (Ali et al. 2009). The IAA concentration was calculated using a calibration curve of pure IAA as a standard following the linear regression analysis. Each experiment was carried out in triplicate and the values reported are the mean of these experiments.

For the screening of nitrogen fixation ability, the isolates were inoculated onto two selective media without nitrogen sources: Ashby's mannitol agar (10.0 gL<sup>-1</sup> mannitol; 5.0 gL<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>; 0.1 gL<sup>-1</sup> CaSO<sub>4</sub>; 0.2 gL<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0.2 gL<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>; 0.2 gL<sup>-1</sup> NaCl; 15.0 gL<sup>-1</sup> agar; pH 7.0) and NFC medium (10.0 gL<sup>-1</sup> mannitol; 5.0 gL<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>; 0.2 gL<sup>-1</sup> CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O; 0.2 gL<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0.2 gL<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 0.2 gL<sup>-1</sup> NaCl; 15.0 gL<sup>-1</sup> agar; pH 7.2). Based on colony growth on the agar plates after incubation at 28°C for 14 days, the isolates were considered positive for nitrogen fixation activity (Li et al. 2018).

Solubilisation of inorganic phosphate was tested on solid Pikovskaya's medium (10 gL<sup>-1</sup> glucose; 0.5 gL<sup>-1</sup> yeast extract; 0.2 gL<sup>-1</sup> KCl; 0.1 gL<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 0.5 gL<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0.2 gL<sup>-1</sup> NaCl; 0.002 gL<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 0.002 gL<sup>-1</sup> MnSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) supplemented with Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (5 gL<sup>-1</sup>). After incubation at 28°C for 14 days, formation of clearing zones were evaluated as positive for phosphate solubilisation (Gaur et al., 1990).

## 3. Results

### 3.1. Isolation of actinobacteria

Root nodules obtained from two *Lathyrus* spp. and one *Vicia* sp. species were used to isolate endophytic actinobacteria. After selective isolation and colour-grouping of the isolates for

morphological growth characteristics (colour of substrate and aerial mycelium, pigment production etc.) on tryptone-yeast extract-glucose agar medium, six isolates were selected for further analyses.

### 3.2. Identification and phylogenetic analysis of actinobacteria

The isolates were determined by the pairwise 16S rRNA gene sequence analyses. For each isolate, a nearly full length 16S rRNA gene sequence was acquired and compared with the databases on EzBioCloud and GGDC web servers. Pairwise sequence identity levels of the strains to their closest type species are shown in Table 1. Molecular typing indicated that the isolates belong to the genera *Streptomyces* and *Micromonospora* with relatively high level of 16S rRNA gene sequence identities to the closest type strains. Five isolates, i.e. BCA3, BSP1, MCA2, MSP5A and VSP3 were identified as members of the genus *Streptomyces* (Figure 1) and an isolate, BSP4, was identified as a member of the genus *Micromonospora* (Figure 2). The isolates *Streptomyces* sp. BCA3 and *Streptomyces* sp. BSP1 are closely related to *Streptomyces albidoflavus* DSM 40455<sup>T</sup> with 99.93% and 99.72% pairwise sequence identity values, respectively. *Streptomyces* sp. BCA3 has one nucleotide difference in 1443 positions with its most closely related type strain *Streptomyces albidoflavus* DSM 40455<sup>T</sup> while *Streptomyces* sp. BSP1 has four different nucleotides in 1444 positions. *Streptomyces* sp. MCA2 has completely identical 16S rRNA gene sequence with its closest type strain *Streptomyces decoyicus* NRRL 2666<sup>T</sup>. The lowest pairwise sequence identity value was observed for the isolate *Streptomyces* sp. MSP5A which shows 99.24% identity with 11 different nucleotides in 1438 positions to its closest type strain *Streptomyces umbrinus* NBRC 13091<sup>T</sup>. The other isolate belonging to the genus *Streptomyces*, VSP3, has 99.93% pairwise sequence identity to *Streptomyces hydrogenans* NBRC 13475<sup>T</sup> with one nucleotide difference in 1429 positions.

Table 1. Pairwise sequence identity values for the 16S rRNA genes of the isolates and their source of isolation

Source	Strain	GenBank accession number	The closest type strain	16S rRNA gene sequence identity
<i>Lathyrus</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp. BCA3	MT176504	<i>Streptomyces albidoflavus</i> DSM 40455	99.93
<i>Lathyrus</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp. BSP1	MT176505	<i>Streptomyces albidoflavus</i> DSM 40455	99.72
<i>Lathyrus</i> sp.	<i>Micromonospora</i> sp. BSP4	MT176511	<i>Micromonospora taraxaci</i> DSM 45885	99.86
<i>Lathyrus</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp. MCA2	MT176506	<i>Streptomyces decoyicus</i> NRRL 2666	100.0
<i>Lathyrus</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp. MSP5A	MT176508	<i>Streptomyces umbrinus</i> NBRC 13091	99.24
<i>Vicia</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp. VSP3	MT176507	<i>Streptomyces hydrogenans</i> NBRC 13475	99.93

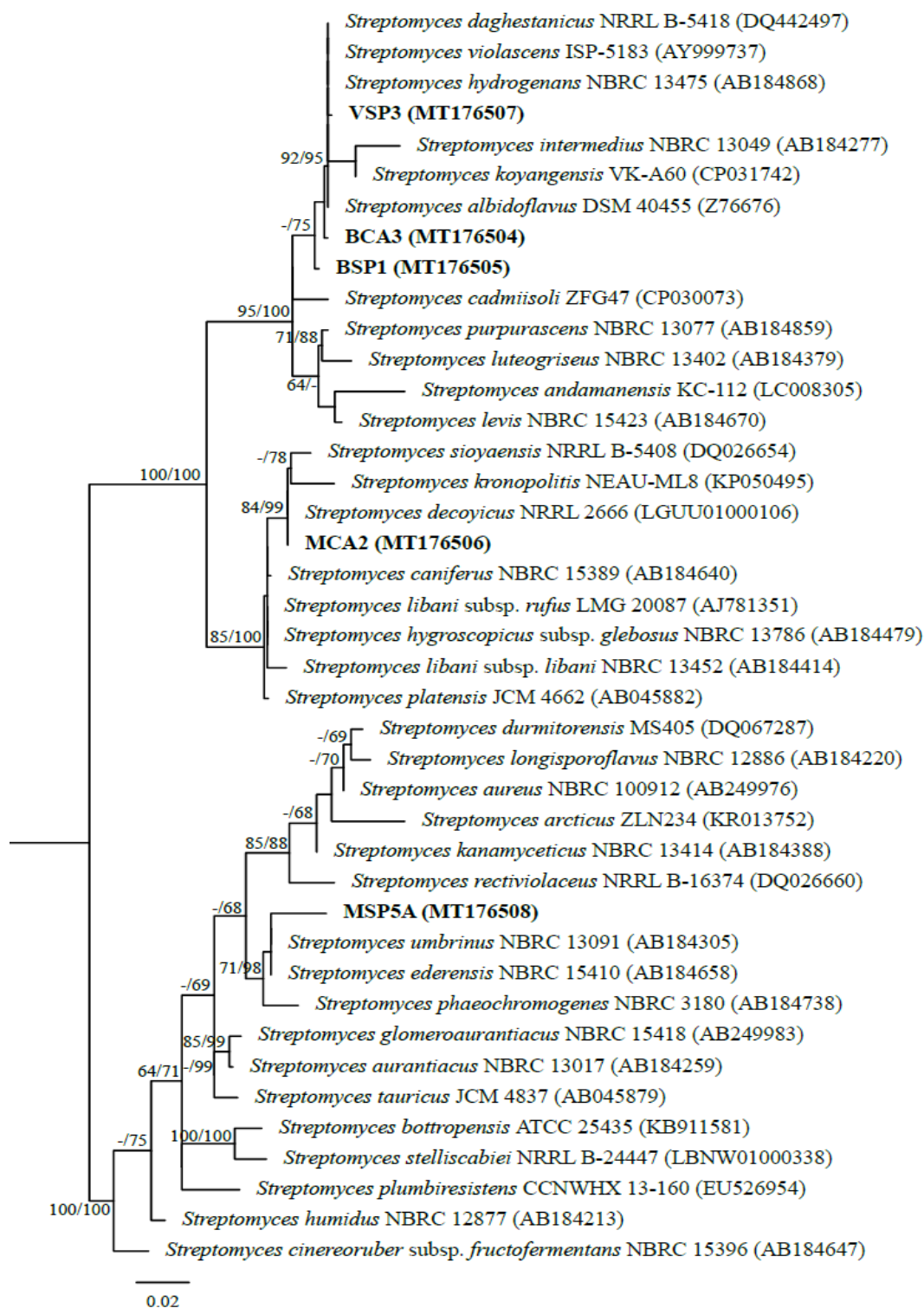


Figure 1. Maximum likelihood tree for the *Streptomyces* isolates interpreted under the model of GTR+GAMMA and rooted at midpoint. The scale bar indicates the expected number of substitutions per site. The support values for bootstrapping are shown above the branches when higher than 60% for maximum likelihood (left) and maximum parsimony (right). The GenBank accession numbers for the 16S rRNA gene sequences are given in brackets.

The only isolate belonging to the genus *Micromonospora*, BSP4, shares 99.86% gene sequence identity with its closest type species *Micromonospora taraxaci* DSM 45885<sup>T</sup> and it has only two nucleotides difference in 1437 positions.

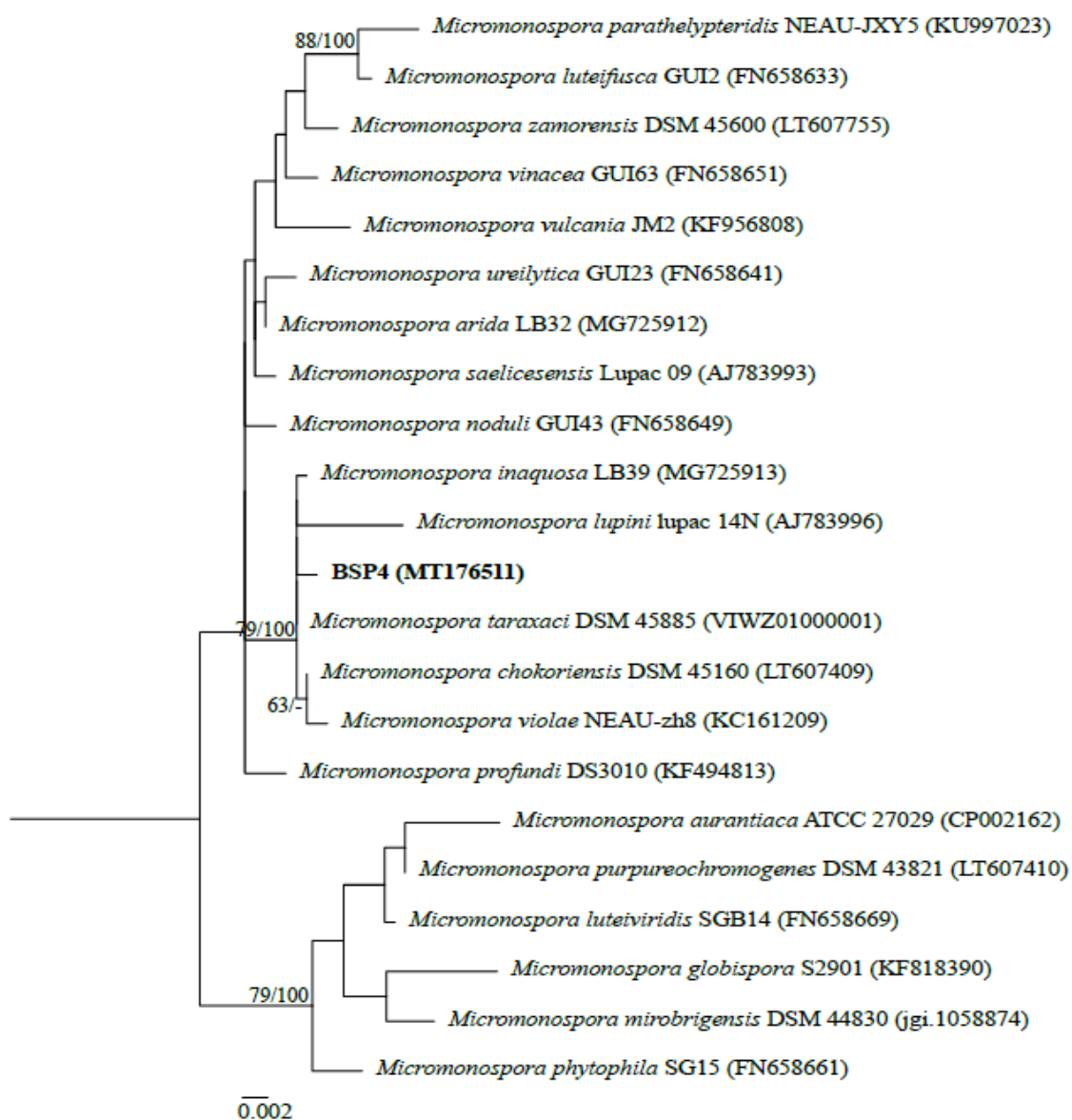


Figure 2. Maximum likelihood tree for the *Micromonospora* strain interpreted under the model of GTR+GAMMA and rooted at midpoint. The scale bar indicates the expected number of substitutions per site. The support values for bootstrapping are shown above the branches when higher than 60% for maximum likelihood (left) and maximum parsimony (right). The GenBank accession numbers for the 16S rRNA gene sequences are given in brackets.

Although the isolates have relatively high level of 16S rRNA gene sequence identity levels ranging from 99.24% to 100 % with their closest type strains, the tree topologies inferred from maximum likelihood algorithm indicated that the isolates *Streptomyces* sp. BSP1 and *Streptomyces* sp. MSP5A could be considered as potential novel species.

### 3.3. Analysis of plant growth-promoting abilities

Six isolates were investigated for their plant growth-promoting activities, i.e. IAA production, nitrogen fixation and inorganic phosphate solubilisation. The IAA is a plant hormone and can also be produced by diverse microorganisms including actinobacteria. All isolates obtained through this study were found to produce IAA at levels of 0.33-113.9  $\mu\text{g ml}^{-1}$  (Table 2). The most productive strain was *Micromonospora* sp. BSP4 with the highest IAA concentration of 113.9  $\mu\text{g ml}^{-1}$  while the lowest level was measured for the isolate *Streptomyces* sp. MCA2.

In this study, ability of the isolates to utilize the atmospheric nitrogen was qualitatively tested on two nitrogen-free media and all isolates were able to grow on both media. Phosphate solubilisation is one of the most studied mechanisms of plant growth promotion and only one strain, *Streptomyces* sp. MCA2 could solubilize inorganic phosphate in Pikovskaya's medium.

Table 2. Plant growth-promoting abilities of the isolates

Strain	IAA production ( $\mu\text{g/ml}$ )	Nitrogen fixation	Phosphate solubilisation
<i>Streptomyces</i> sp. BCA3	21.0 $\pm$ 0.8	+	-
<i>Streptomyces</i> sp. BSP1	21.0 $\pm$ 3.8	+	-
<i>Micromonospora</i> sp. BSP4	113.9 $\pm$ 4.3	+	-
<i>Streptomyces</i> sp. MCA2	0.33 $\pm$ 0.0	+	+
<i>Streptomyces</i> sp. MSP5A	1.67 $\pm$ 0.48	+	-
<i>Streptomyces</i> sp. VSP3	19.6 $\pm$ 2.1	+	-

### 4. Discussion and Conclusion

Actinobacteria are a group of biotechnologically important microorganisms which have been benefited for their role in synthesizing many bioactive metabolites as well as agriculturally important compounds. These bacteria have been shown to dwell in rhizosphere and occupy plant tissues after producing durable spores to survive in agricultural soils for long periods. Actinobacteria have been investigated for their plant growth-promoting abilities and biocontrol activities to improve agricultural production in an environmentally friendly way. In the present study, a culture-dependant approach was employed to isolate actinobacteria from legume nodules and their phylogenetic relationships were revealed by the 16S rRNA gene sequence analysis. Pairwise sequence analyses have shown that the isolates are members of the genera *Streptomyces* and *Micromonospora*, which have been known as most prolific actinobacteria for their potential to produce diverse bioactive metabolites, and that the isolates have high level of 16S rRNA gene sequence identity levels to their closest type species. Considering tree topologies inferred by maximum likelihood algorithm, however, the isolates *Streptomyces* sp. BSP1 and *Streptomyces* sp. MSP5A have high potential to be novel species. Due to weak resolution power of the 16S rRNA gene sequence analysis, especially among streptomycetes, a high number of novel species have been described for this genus even with totally identical 16S rRNA gene sequences (Biswas et al. 2017; Tang et al. 2019; Li et al. 2020).

Previous studies have revealed that members of the genus *Micromonospora* are ubiquitous in legume nodules (Trujillo et al. 2010; Martinez-Hidalgo et al. 2014). In this study, however, strain BSP4 was the only isolate belonging to *Micromonospora* and showed high level of IAA production. The isolated actinobacteria were found to be promising candidates for biological fertilizers especially because of their ability to use atmospheric nitrogen and produce high level of IAA. Atmospheric nitrogen fixation is one of the ways to mobilize nutrient for the host plants and carried out by symbiotic and free-living bacteria through nitrogenase enzymes. In terms of nitrogen fixation, all isolates have potential to be used as biological fertilizers particularly in soils with low level of nitrogen. Moreover, the strain *Streptomyces* sp. MCA2 has the ability to solubilize inorganic phosphate and also it shares relatively low level of 16S rRNA gene sequence identity with its closest

type species. Although several bacteria and fungi were reported as solubiliser of inorganic phosphate, very few reports are available for phosphate solubilisation by *Streptomyces* (Gupta et al. 2010). These results suggest that actinobacteria could play an important ecological role by enhancing the availability of nutrients to the host plant as well as by producing plant hormones to promote the host plant's growth directly. Therefore, actinobacteria obtained through this study have high potential to be used as microbial fertilizers, especially in soils with low level of nitrogen, to increase agricultural productivity without harming environment. In conclusion, further studies involving greenhouse or field experiments should be performed to confirm the suitability of these strains as microbial fertilizers.

## References

- Ali, B., Sabri, A. N., Ljung, K., & Hasnain, S. (2009). Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum aestivum* L. *Lett Appl Microbiol*, 48(5), 542-547.
- Ay, H., Nouioui, I., Carro, L., Klenk, H. P., Cetin, D., Igual, J. M., Sahin, N., & Isik, K. (2019). *Jiangella anatolica* sp. nov. isolated from coastal lake soil. *A Van Leeuw J Microb*, 112(6), 887-895.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., & Klenk, H. P., et al. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 80(1), 1-43.
- Benito, P., Alonso-Vega, P., Aguado, C., Luján, R., Anzai, Y., Hirsch, A. M., & Trujillo, M. E. (2017). Monitoring the colonization and infection of legume nodules by *Micromonospora* in co-inoculation experiments with rhizobia. *Sci Rep*, 7(1), 1-12.
- Biswas, K., Choudhury, J. D., Mahansaria, R., Saha, M., & Mukherjee, J. (2017). *Streptomyces euryhalinus* sp. nov., a new actinomycete isolated from a mangrove forest. *J Antibiot*, 70(6), 747-753.
- Coombs, J. T., & Franco, C. M. (2003). Isolation and identification of actinobacteria from surface-sterilized wheat roots. *Appl Environ Microbiol*, 69(9), 5603-5608.
- Cruz, J. A., & Paterno, E. S. (2014). Isolation and screening of Actinomycetes for its growth promoting activities. *Asia Life Sci-The Asian International Journal of Life Sciences*, 23(2), 413-427.
- Fidan E, Ekinci alp A (2017). Bazı fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin farklı seviyelerdeki tuz stresine gösterdikleri tepkilerin incelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27 (4), 558-568.
- Gaur, A. C. (1990). Phosphate solubilizing micro-organisms as biofertilizer. *Omega scientific publishers*, p 176.
- Goudjal, Y., Toumatia, O., Sabaou, N., Barakate, M., Mathieu, F., & Zitouni, A. (2013). Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. *World J Microb Biot*, 29(10), 1821-1829.
- Grover, M., Bodhankar, S., Maheswari, M., & Srinivasarao, C. (2016). *Actinomycetes as mitigators of climate change and abiotic stress. Plant Growth Promoting Actinobacteria*. Springer, Singapore, pp 203–212.
- Gupta, N., Sahoo, D., & Basak, U. C. (2010). Evaluation of in vitro solubilization potential of phosphate solubilising *Streptomyces* isolated from phyllosphere of *Heritiera fomes* (mangrove). *Afr J Microbiol Res*, 4(3), 136-142.
- Jog, R., Nareshkumar, G., & Rajkumar, S. (2012). Plant growth promoting potential and soil enzyme production of the most abundant *Streptomyces* spp. from wheat rhizosphere. *J Appl Microbiol*, 113(5), 1154-1164.
- Lehr, N. A., Schrey, S. D., Hampp, R., & Tarkka, M. T. (2008). Root inoculation with a forest soil streptomycete leads to locally and systemically increased resistance against phytopathogens in Norway spruce. *New Phytologist*, 177(4), 965-976.
- Li, J., Wang, L., Ye, Z., Lu, L., & Li, Y. (2020). *Streptomyces tibetensis* sp. nov., an actinomycete isolated from the Tibetan Plateau. *A Van Leeuw J Microb*, 113(1), 33-41.
- Li, L., Mohamad, O. A. A., Ma, J., Friel, A. D., Su, Y., Wang, Y., Musa, Z., Liu, Y., Hedlund, B.P., & Li, W. (2018). Synergistic plant–microbe interactions between endophytic bacterial



- communities and the medicinal plant *Glycyrrhiza uralensis* F. A Van Leeuw *J Microb*, 111(10), 1735-1748.
- Martínez-Hidalgo, P., Galindo-Villardón, P., Trujillo, M. E., Igual, J. M., & Martínez-Molina, E. (2014). *Micromonospora* from nitrogen fixing nodules of alfalfa (*Medicago sativa* L.). A new promising Plant Probiotic Bacteria. *Sci Rep*, 4(1), 1-11.
- Meier-Kolthoff, J.P., Auch, A.F., Klenk, H.-P., & Göker, M. (2013) Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC Bioinform* 14:60
- Qin, S., Li, J., Chen, H. H., Zhao, G. Z., Zhu, W. Y., Jiang, C. L., Xu, L.H., & Li, W. J. (2009). Isolation, diversity, and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China. *Appl Environ Microbiol*, 75(19), 6176-6186.
- Tang, X., Zhao, J., Li, K., Chen, Z., Sun, Y., & Gao, J. (2019). *Streptomyces cyaneochromogenes* sp. nov., a blue pigment-producing actinomycete from manganese-contaminated soil. *Int J Syst Evol Micr*, 69(8), 2202-2207.
- Tokala, R. K., Strap, J. L., Jung, C. M., Crawford, D. L., Salove, M. H., Deobald, L. A., Bailey, J.F., & Morra, M. J. (2002). Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Appl Environ Microbiol*, 68(5), 2161-2171.
- Trujillo, M. E., Alonso-Vega, P., Rodríguez, R., Carro, L., Cerda, E., Alonso, P., & Martínez-Molina, E. (2010). The genus *Micromonospora* is widespread in legume root nodules: the example of *Lupinus angustifolius*. *The ISME journal*, 4(10), 1265-1281.
- Trujillo, M. E., Riesco, R., Benito, P., & Carro, L. (2015). Endophytic actinobacteria and the interaction of *Micromonospora* and nitrogen fixing plants. *Front Microbiol*, 6, 1341.
- Velázquez, E., Carro, L., Flores-Félix, J. D., Martínez-Hidalgo, P., Menéndez, E., & Ramírez-Bahena, M. H., et al. (2017). *The legume nodule microbiome: a source of plant growth-promoting bacteria. Probiotics and plant health*. Springer, Singapore, pp 41–70.
- Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H., & Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. *Int J Syst Evol Micr*, 67(5), 1613.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Araştırma Makalesi (Research Article)

**Effects of Low Temperature and Sowing Date on the Germination and Seedling Characteristics of Forage Peas**

**Gülçin KÜÇÜKÖZCÜ<sup>1</sup>, Süleyman AVCI<sup>2\*</sup>**

<sup>1,2</sup>Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, 26160, Eskişehir, Türkiye  
<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-5630-6397> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-4653-5567>

\*Sorumlu yazar e-posta: [savci@ogu.edu.tr](mailto:savci@ogu.edu.tr)

**Article Info**

Received: 06.04.2020  
Accepted: 07.08.2020  
Online Published 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.715245

**Keywords**

Cold stress,  
Forage pea,  
Germination,  
Low temperature,  
Sowing date.

**Abstract:** In the study reported here, six forage pea cultivars Töre, Taşkent, Özkaynak, Ulubatlı, Ürünlü, and Gölyazı were examined at different temperatures 20 °C (i.e., control), 15 °C, and 10 °C and sowing dates October 1, October 15, and November 1 in Eskişehir condition, to determine their cold tolerance during germination and as early seedling stages. Results included that survival rates varied among cultivars and by sowing date, with the highest rate achieved by Töre (98.2%) and the lowest (87.9%) by Ulubatlı; however, the high survival rates of the Töre, Taşkent, Özkaynak, Ürünlü, and Gölyazı varieties did not differ significantly. Early sowing negatively affected the survival rates of the Ulubatlı and Gölyazı cultivars more than the others. Survival rate correlated negatively with plant height and number of nodes but correlated positively with SPAD value and leaf relative water content. Gölyazı achieved the highest germination rate (92.8%) and Ulubatlı the lowest (81.8%), although the high rates of the Gölyazı, Töre, Taşkent, and Özkaynak cultivars did not significantly differ. Low temperatures adversely affected all observed characteristics, and seedling lengths highly paralleled survival rates obtained in field conditions. Taken together, such findings suggest that purple-flowered cultivars tolerate low temperatures better than white-flowered ones.

**Yem Bezelyesinin Çimlenme ve Fide Özellikleri Üzerine Düşük Sıcaklık ve Ekim Tarihlerinin Etkileri**

**Makale Bilgileri**

Geliş: 06.04.2020  
Kabul: 07.08.2020  
Online Yayınlanma 30.09.2020  
DOI: 10.29133/yyutbd.715245

**Anahtar kelimeler**

Soğuk stresi,  
Yem bezelyesi,  
Çimlenme,  
Düşük sıcaklık,  
Ekim zamanı.

**Öz:** Bu çalışmada, 6 yem bezelyesi çeşidinin Eskişehir koşullarında Töre, Taşkent, Özkaynak, Ulubatlı, Ürünlü, ve Gölyazı çimlenme ve erken fide dönemlerinde soğuğa toleransını belirlemek için farklı sıcaklıklar 20 °C (kontrol), 15 °C ve 10 °C ve ekim tarihleri 1 Ekim 15 Ekim ve 1 Kasım incelenmiştir. Sonuç olarak; sağkalım oranlarının çeşitlere ve ekim zamanlarına göre değiştiği, en yüksek (% 98,2) ve en düşük (% 87,9) sağkalım oranlarının sırasıyla Töre ve Ulubatlı çeşitlerinde görüldüğü; ancak Töre, Taşkent, Özkaynak, Ürünlü ve Gölyazı çeşitlerinin sağkalım oranları arasında önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Erken ekim Ulubatlı ve Gölyazı çeşitlerinin sağkalım oranlarını diğerlerinden daha fazla olumsuz etkilemiştir. Sağkalım oranı bitki boyu ve boğum sayısı ile negatif, SPAD değeri ve yaprak nispi su içeriği ile pozitif korelasyon göstermiştir. Çimlenme oranı en yüksek çeşit (% 92.8) Gölyazı ve en düşük çeşit (% 81.8) Ulubatlı olmasına rağmen Gölyazı, Töre, Taşkent ve Özkaynak çeşitlerinin çimlenme oranları arasında önemli bir farklılık oluşmamıştır. Düşük sıcaklıklar, gözlemlenen tüm özellikleri olumsuz etkilemiş ve fide uzunluğu değerleri tarla koşullarında elde edilen sağkalım oranlarıyla yüksek oranda paralellik göstermiştir. Birlikte ele alındığında, bu bulgular mor çiçekli çeşitlerin düşük sıcaklıkları beyaz çiçeklilerden daha iyi tolere ettiğini göstermektedir.

## 1. Introduction

In arable regions worldwide, cold stress can limit the production of plants by up to 15% (Blum and Jordan, 1985). For plants in those areas, extremely low temperatures represent an environmental factor that affects germination, growth and development, reproductive organs, and post-harvest storage periods (Wang, 1990). Exposure to such temperatures and, in turn, cold stress prevent plants from reaching their genetic potential and achieving efficient productivity. Symptoms of cold damage occurring in plants vary depending on duration of exposure to the cold, plant genotype and developmental stage, the plant tissue (e.g., leaves, roots, and flowers) exposed to the cold, and environmental conditions such as water, wind and light (Saltveit and Morris, 1989; Mahajan and Tuteja, 2005).

Forage peas are good fodder plants for cool climates that can adapt to nearly all climatic and soil conditions in Turkey (McKenzie and Sponer, 1999; Avcioglu et al., 2009). Including forage peas to crop rotations can benefit both animal nutrition and soil composition, for its hay and seeds offer a tasty, nutritious, protein-rich food for livestock and it supplies a significant source of added nitrogen and organic matter for soils (Acikgoz et al., 1985; Parr et al., 2011).

Winter-resistant or -tolerant varieties of forage peas are important in winter cultivation as primer crops, especially during bare periods between the cycles of two main crops. On that topic, researchers have investigated the effects of low temperatures on different pea genotypes at different developmental stages under controlled conditions in laboratories (Bourion et al., 2003; Sincik et al., 2005; Raveneau et al., 2011), under field conditions (Kadıoğlu and Tan, 2014; Homer et al., 2016; Karaköy et al., 2016; Davies and Pham, 2017), and under controlled conditions in both a greenhouse and a laboratory (Shafiq et al., 2012). Nevertheless, the responses of different forage pea genotypes to low temperatures should also be determined under field and laboratory conditions in different ecological conditions.

Thus, in the study reported here, six forage pea varieties were planted on different sowing dates in field as well as controlled condition in laboratory in Eskişehir, Turkey, in order to determine their response to low temperatures.

## 2. Materials and Methods

Purple-flowered (i.e., Töre, Özkaynak, and Taşkent) and white-flowered (i.e., Ulubatlı, Ürünlü, and Gölyazı) forage pea (*Pisum sativum* var. *arvense* L. Poir.) cultivars were used as materials. Field experiment was carried out under the ecological conditions of Eskişehir, Turkey. Monthly mean, minimum, and maximum temperatures at the experimental site between October 1, 2018, and March 31, 2019, are presented in Table 1. Minimum temperatures decreased from October to January and increased thereafter, with the lowest minimum temperature measured as -13.5 °C in January 2019.

Table 1. Changes and trends in maximum, minimum and mean temperatures in experimental site

Dates	Temperatures		
	Mean	Min	Mak.
Oct. 2018	13.3	-1.3	26.5
Nov. 2018	7.6	-3.8	24.9
Dec. 2018	2.3	-8.3	10.4
Jan. 2019	1.2	-13.5	12.8
Feb. 2019	3.4	-8.6	15.4
Mar. 2019	6.3	-6.8	22.2

All data were provided by Turkish State Meteorological Service.

The field experiment was arranged in split plots in a randomized complete block design with four replications. The primary plots corresponded to sowing dates (i.e., October 1, October 15, and November 1), whereas the sub-plots corresponded to the different forage pea cultivars. The controlled experiment in laboratory was performed in incubators in a two-factor arrangement with a completely

randomized design involving four replications. The first factor was temperature 20 °C (i.e., control), 15 °C, and 10 °C while the second factor was forage pea cultivars.

In the field experiment, each plot consisted of four rows with 50 seeds sown in each. Inter- and intra-row spacings were 30 × 4 cm, and sowing depth was 3 cm. Irrigation was performed to germinate the seeds, and weeds were removed by hand as necessary. To determine the survival rate of the different varieties, the number of plants emerging in each row before the first frost and the number of seedlings that survived the winter into March were recorded. Height, number of nodes, SPAD value measured with a chlorophyll meter (SPAD-502 Plus), dry matter, and leaf relative water content (LRWC), calculated according to formula (1), were determined in the seedlings before winter began.

$$\text{LRWC} = (\text{Fresh weight} - \text{dry weight}) / (\text{Turgor weight} - \text{Dry weight}) \times 100 \quad (1)$$

To gauge the low-temperature germination of the forage pea varieties, cool and cold tests were performed by following Hampton and Tekrony's (1995) method. In the cold test, seeds were kept at 10 °C for 7 d, then at 25 °C for another 7 d, and germination percentages were determined by counting the seeds that had germinated by the end of Day 14. In the cool test, by contrast, the seeds were kept in a dark incubator at 15 °C for 14 d, and ones that germinated were counted in order to determine the germination percentage.

Germination was performed in four replicates of 50 seeds each, all placed on filter papers in plastic zipper-sealed bags (ISTA, 2018). To the filter papers, 7 mL of pure water was added and replenished as necessary, which required checking the papers every 2 days. Seeds were counted every day, and when roots had extended at least 2 mm, the seeds were considered to have germinated. At the end of laboratory experiments, germination percentage, length of seedlings, fresh and dry weight of seedlings, and mean germination time (MGT), calculated as described by Ellis and Roberts (1980), were examined.

Data were analyzed in SPSS 16.0 and MSTAT. Arcsin  $\sqrt{x}$  transformation was applied to percentage values (Sokal and Rolf, 1981), and Duncan's multiple comparison test was performed to determine the differences between mean values.

### 3. Results

Forage pea cultivars and sowing dates significantly affected the characteristics of seedlings in the field, except regarding the number of nodes, dry matter weight, and LRWC (Table 2). The interaction effect of cultivar and sowing date on all characteristics were also significant.

The survival rate by cultivars ranged from 87.9% to 98.2%, with the highest rate achieved by Töre and the lowest by Ulubatlı (Table 2). However, the high survival rates of the Töre, Taşkent, Özkaynak, Ürünlü, and Gölyazı cultivars did not differ significantly, nor did the low rates of the Ulubatlı and Gölyazı cultivars. From highest to lowest survival rate, the cultivars could be ordered as Töre, Taşkent, Özkaynak, Ürünlü, Gölyazı, and Ulubatlı. The early sowing date (i.e., October 1) negatively affected survival rates more than the late sowing dates (i.e., October 15 and November 1). Among those planted on October 1, the Ulubatlı and Gölyazı cultivars had especially low survival rates compared to the other cultivars (Table 3).

The longest seedling length and highest number of nodes were observed in Gölyazı cultivars sown on October 1 (Table 3). For all cultivars, the early sowing dates (i.e., October 1 and 15) facilitated longer seedlings and more nodes than the late sowing date (i.e., November 1).

The SPAD value and dry matter ratio among cultivars were highly similar (Table 2); both values were especially high for the Taşkent and Özkaynak and especially low for the Ulubatlı. In all cultivars, SPAD values increased with later sowing dates (Table 3). As shown in Table 2, the LRWC percentage in the cultivars ranged from 73.33% (i.e., Gölyazı) to 85.57% (i.e., Töre). The highest LRWC values in Töre, Özkaynak, and Ulubatlı did not significantly differ, nor did the lowest in Gölyazı, Ürünlü, Ulubatlı, and Taşkent.

Table 2. Analysis of variance and differences between mean values of survival rate and seedling characters in forage pea cultivars grown under different sowing dates

Factors	Survival rate (%)	Seedling length (cm)	Number of node	SPAD value	Dry matter (%)	LWRC (%)
<b>Cultivars</b>						
Töre	98.2 <sup>a†</sup>	6.82 <sup>b</sup>	4.35	47.53 <sup>b</sup>	17.03 <sup>b</sup>	85.57 <sup>a</sup>
Taşkent	97.5 <sup>a</sup>	5.10 <sup>c</sup>	4.25	51.07 <sup>a</sup>	20.79 <sup>a</sup>	74.28 <sup>bc</sup>
Özkaynak	97.0 <sup>a</sup>	5.41 <sup>c</sup>	4.20	50.82 <sup>a</sup>	19.39 <sup>a</sup>	81.67 <sup>ab</sup>
Ulubatlı	87.9 <sup>b</sup>	8.55 <sup>a</sup>	4.58	40.65 <sup>c</sup>	15.39 <sup>c</sup>	79.76 <sup>a-c</sup>
Ürünlü	96.5 <sup>a</sup>	5.70 <sup>c</sup>	4.11	46.02 <sup>b</sup>	17.00 <sup>b</sup>	77.47 <sup>bc</sup>
Gölyazı	91.8 <sup>ab</sup>	8.15 <sup>a</sup>	4.45	47.16 <sup>b</sup>	17.47 <sup>b</sup>	73.33 <sup>c</sup>
<b>Sowing dates</b>						
Oct. 1	88.8 <sup>b</sup>	10.40 <sup>a</sup>	5.55 <sup>a</sup>	39.09 <sup>c</sup>	17.55	79.73
Oct. 15	97.8 <sup>a</sup>	6.32 <sup>b</sup>	4.44 <sup>b</sup>	46.47 <sup>b</sup>	18.41	79.10
Nov. 1	97.9 <sup>a</sup>	3.15 <sup>c</sup>	2.97 <sup>c</sup>	56.07 <sup>a</sup>	17.57	77.19
<b>Analysis of variance</b>						
Cultivars (C)	**	**	ns	**	**	**
Sowing dates (S)	**	**	**	**	ns	ns
C × S	**	**	*	**	**	*

\*, \*\*: significant level of 5% and 1%, respectively, ns: non-significant. †: letters show different groups at 5% level.

Table 3. The effect of cultivars × sowing dates interaction on survival rate and some seedling characters

Cultivars	Sowing dates	Survival rate (%)	Seedling length (cm)	Number of node	SPAD value	Dry matter (%)	LWRC (%)
Töre	Oct. 1	98.5	10.67	5.55	38.97	16.32	85.27
	Oct. 15	97.5	7.55	4.70	45.47	16.47	85.27
	Nov. 1	98.5	2.25	2.80	58.15	18.30	86.17
Taşkent	Oct. 1	92.5	7.02	5.20	46.35	19.70	82.72
	Oct. 15	100.0	5.00	4.40	51.35	24.65	61.82
	Nov. 1	100.0	3.27	3.15	55.52	18.02	78.30
Özkaynak	Oct. 1	99.0	8.20	5.30	46.12	21.55	76.35
	Oct. 15	93.0	5.10	4.15	47.47	18.55	87.22
	Nov. 1	99.0	2.95	3.15	58.87	18.07	81.35
Ulubatlı	Oct. 1	69.5	12.27	5.40	32.85	15.50	81.60
	Oct. 15	96.0	9.75	5.30	40.15	15.12	82.95
	Nov. 1	98.0	3.62	3.05	48.97	15.55	74.75
Ürünlü	Oct. 1	95.5	9.07	5.40	35.55	15.65	84.25
	Oct. 15	100.0	4.92	4.20	47.21	17.84	78.67
	Nov. 1	94.0	3.12	2.75	55.32	17.52	69.50
Gölyazı	Oct. 1	77.5	15.15	6.50	34.70	16.57	68.22
	Oct. 15	100.0	5.60	3.90	47.21	17.84	78.67
	Nov. 1	98.0	3.70	2.95	59.57	18.00	73.10
LSD <sub>5%</sub>		10.68	1.52	0.84	4.11	2.05	8.77

A positive correlation was detected between survival rate and both SPAD value and LRWC; however, survival rate was more closely related to SPAD value than to LRWC (Table 4). Beyond that, survival rate demonstrated a strong negative correlation with seedling length and number of nodes as well as decreased as plant height and number of nodes increased.

Table 4. Correlation values among the examined characteristics of forage pea cultivars under field conditions

Characters	1	2	3	4	5	6
1. Survival rate	1.000					
2. Seedling length	-0.484**	1.000				
3. Number of node	-0.412**	0.896**	1.000			
4. SPAD value	0.299**	-0.855**	-0.774**	1.000		
5. Dry matter	-0.052 <sup>ns</sup>	-0.266*	-0.046 <sup>ns</sup>	0.376**	1.000	
6. LWRC	0.250*	0.032 <sup>ns</sup>	0.017 <sup>ns</sup>	-0.471**	-0.471**	1.000

\*, \*\*: significant level of 5% and 1%, respectively, ns: non-significant.

Cultivars and temperatures significantly affected germination and seedling characteristics (Table 5). The interaction of cultivars and temperatures was also significant except concerning seedling length and fresh weight. Germination showed a downward trend as temperatures dropped (Table 5), and the greatest rate of germination (97.5%) occurred with Gölyazı at 15 °C (Table 6). In all cultivars, low temperatures steadily prolonged MGT as well. The most quickly germinating seeds, which sprouted in only 2.36 days, were of the Özkaynak at 20 °C.

The longest seedlings, at 9.97 cm, were observed in Töre, although seedling length did not differ significantly among Töre, Taşkent, Özkaynak, Ürünlü, and Gölyazı cultivars (Table 5). The responses of the cultivars to different temperatures in terms of seedling length, from longest to shortest, can be ranked as Töre, Özkaynak, Taşkent, Gölyazı, Ürünlü, and Ulubatlı. Last, the heaviest fresh weight occurred in the Gölyazı, at 183.50 mg/seedling, and lower temperatures were associated with lower fresh weights as well as seedling lengths. Although the heaviest dry weight, 27 mg/seedling, was observed in Gölyazı at 20 °C, the most light weight value, at 7.75 mg/seedling, emerged in Taşkent at 10 °C (Table 6). In low temperatures, the dry weight of forage pea seedlings decreased regularly across all cultivars.

Table 5. Analysis of variance and differences between mean values of germination and early seedling characters in forage pea cultivars grown under different temperatures

Factors	Germination (%)	MGT (day)	Seedling length (cm)	Fresh weight (mg/seedling)	Dry weight (mg/seedling)
<b>Cultivars</b>					
Töre	92.2 <sup>ab†</sup>	3.44 <sup>cd</sup>	9.97 <sup>a</sup>	149.67 <sup>b</sup>	14.66 <sup>cd</sup>
Taşkent	90.7 <sup>ab</sup>	3.69 <sup>b</sup>	9.37 <sup>a</sup>	149.75 <sup>b</sup>	14.00 <sup>d</sup>
Özkaynak	89.2 <sup>ab</sup>	3.38 <sup>d</sup>	9.47 <sup>a</sup>	147.58 <sup>b</sup>	14.00 <sup>d</sup>
Ulubatlı	81.8 <sup>c</sup>	4.43 <sup>a</sup>	8.31 <sup>b</sup>	145.17 <sup>b</sup>	16.33 <sup>b</sup>
Ürünlü	87.2 <sup>b</sup>	3.63 <sup>bc</sup>	8.95 <sup>ab</sup>	162.67 <sup>ab</sup>	15.58 <sup>bc</sup>
Gölyazı	92.8 <sup>a</sup>	3.55 <sup>b-d</sup>	9.39 <sup>a</sup>	183.50 <sup>a</sup>	18.16 <sup>a</sup>
<b>Temperatures</b>					
Control (20 °C)	90.2 <sup>a</sup>	2.62 <sup>c</sup>	13.38 <sup>a</sup>	240.58 <sup>a</sup>	22.04 <sup>a</sup>
15 °C	89.6 <sup>a</sup>	3.49 <sup>b</sup>	9.31 <sup>b</sup>	173.25 <sup>b</sup>	15.95 <sup>b</sup>
10 °C	87.2 <sup>b</sup>	4.95 <sup>a</sup>	5.04 <sup>c</sup>	71.04 <sup>c</sup>	8.37 <sup>c</sup>
<b>Analysis of variance</b>					
Cultivars (C)	**	**	**	*	**
Temperatures (T)	*	**	**	**	**
C × T	**	**	ns	ns	**

\*, \*\*: significant level of 5% and 1%, respectively, ns: non-significant. †: letters show different groups at 5% level.

Table 6. The effect of cultivars × temperatures interaction on germination and some early seedling characters

Cultivars	Temperatures	Germination (%)	Mean germination time (day)	Dry weight (mg/seedling)
Töre	Control (20 °C)	93.0	2.38	20.25
	15 °C	90.0	3.13	15.75
	10 °C	92.1	4.80	8.00
Taşkent	Control (20 °C)	95.0	2.71	21.00
	15 °C	90.0	3.74	13.25
	10 °C	87.0	4.62	7.75
Özkaynak	Control (20 °C)	88.0	2.36	18.50
	15 °C	92.5	3.14	14.75
	10 °C	87.0	4.65	8.75
Ulubatlı	Control (20 °C)	83.5	3.04	23.50
	15 °C	77.0	4.13	17.25
	10 °C	85.0	6.12	8.25
Ürünlü	Control (20 °C)	85.5	2.71	22.00
	15 °C	90.5	3.39	16.00
	10 °C	85.5	4.79	8.75
Gölyazı	Control (20 °C)	96.0	2.52	27.00
	15 °C	97.5	3.38	18.75
	10 °C	85.0	4.74	8.75
LSD <sub>5</sub>		6.87	0.30	1.73

#### 4. Discussion and Conclusion

In the experiment, the survival rates of the forage pea cultivars differed by sowing date. An earlier sowing increased the length of seedlings and the number of nodes, which made the cultivars more susceptible to cold stress due to the development of excess vegetative parts. Moreover, purple-flowered cultivars had greater cold tolerance than white-flowered ones. Annicchiarico and Iannucci (2007) found that having four to five leaves and rosettes reduces cold stress when temperatures are lowest in winter. Added to those findings, Kadioğlu and Tan (2014) reported that purple-flowered cultivars of forage peas of the Özkaynak, Töre, and Taşkent varieties were the most winter-hardy; however, unlike in the experiment reported here, late sowing increased cold damage. In other studies, Karaköy et al. (2016) observed that pea genotypes collected from different regions had different levels of cold resistance, while Geren and Alan (2012) found that early sowing negatively affected the height of vegetation in peas.

Chlorophyll and dry matter content are important indicators of a plant's growth (Pavlović et al., 2014). In the experiment, Özkaynak and Taşkent cultivars with high levels of chlorophyll and dry matter content demonstrated good survival rates, and Homer and Şahin (2015) reported that Taşkent and Özkaynak varieties with high chlorophyll content were the most tolerant to cold stress. According Wang et al. (2016), SPAD values of plants under freezing stress are another good metric to measure cold damage. That proposition was later confirmed by Tanaka and Nakano (2019), who found that later sowing dates increased SPAD values.

Leaf water and chlorophyll contents are widely used in determining water stress. In past research, total chlorophyll content decreased by 55% under high water stress compared to controls (Kirnak et al., 2001). By comparison, in the experiment presented here, a positive relationship between survival rate and both SPAD value and LRWC was observed. Contrary to those findings, Hao and Arora (2009) demonstrated in cold applications that the growth and LRWC of guava plants decreased while the accumulation of anthocyanins increased. The following year, Balestrasse et al. (2010) observed that the application of 5-aminolevulinic acid at low concentrations (i.e., 5–10 µM) increased chlorophyll content and LRWC, which provided significant protection against cold stress compared to what occurred in untreated plants.

Also in the experiment, germination and MGT varied by cultivars and temperatures under controlled conditions; germination decreased and MGT increased as temperatures dropped. Reporting similar results, Sincik et al. (2004) and Çaçan et al. (2014) found that germination and emergence rates in pea genotypes increased in direct proportion to the rise in temperature. In addition, Raveneau et al.

(2011) and Sincik et al. (2004) respectively demonstrated that pea germination was faster in winter than in spring genotypes and in purple-flowered than in white-flowered ones. For the different varieties of forage peas examined in the experiment, lower temperatures negatively affected seedling length as well as fresh and dry weights. Those findings were confirmed in studies on different pea genotypes conducted by Sincik et al. (2004), Stavang et al. (2005), and Raveneau et al. (2011).

In conclusion, in the experiment reported here, the responses of forage pea cultivars to cold stress were determined during the germination and early seedling stages. The most cold-tolerant and cold-sensitive cultivars were of the Töre and Ulubatlı cultivars, respectively. In general, purple-flowered cultivars were also more tolerant to cold conditions than white-flowered ones, although white-flowered genotypes seem able to tolerate cold conditions provided that they are sown after October 15. To determine the tolerance of the genotypes to cold, the reliable results were obtained from seedling length in controlled condition when compared with survival rate in the field. Although the cultivars were evaluated in early periods of development, it can be decided which cultivar should be sown in winter once the yield components of those cultivars are evaluated.

## References

- Acikgoz, E., Katkat, V., Omeroglu, S., & Okan, B. (1985). Mineral elements and amino acid concentrations in field pea and common vetch herbage and seeds. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 55, 179-185.
- Annicchiarico, P., & Iannucci, A. (2007). Winter survival of pea, faba bean and white lupin cultivars across contrasting Italian locations and sowing times, and implications for selection. *Journal of Agricultural Sciences*, 145, 611-622.
- Avcioglu, R., Hatipoglu, R., & Karadag, Y. (2009). *Leguminous Forage Crops Volume II*. Ministry of Food, Agriculture and Livestock, Publications of the General Directorate of Agriculture and Publication.
- Balestrasse, K. B., Tomaro, M. L., Batlle, A., & Noriega, G. O. (2010). The role of 5-aminolevulinic acid in the response to cold stress in soybean plants. *Phytochemistry*, 71(17-18), 2038-2045.
- Blum, A & Jordan, W. R. (1985). Breeding crop varieties for stress environments. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2 (3), 199-238.
- Bourion, V., Lejeune-Hénaut, I., Munier-Jolain, N., & Salon, C. (2003). Cold acclimation of winter and spring peas: carbon partitioning as affected by light intensity. *European Journal of Agronomy*, 19 (4), 535-548.
- Çaçan, E., Özbay, N., & Kökten, K. (2016). Bazı Yem bezelyesi hat ve çeşitlerinin farklı sıcaklıklarda çimlenme ve çıkış performanslarının belirlenmesi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD Özel Sayı*, 62-68.
- Davies, P. A., & Pham, T. N. T. (2017). A method to select for reproductive frost tolerance in field pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(4), 332-337.
- Ellis, R. H., & Roberts, E. H. (1980). *Towards a Rational Basis for Testing Seed Quality*. In P.D. Hebblethwaite (Ed), *Seed Production* (pp. 605-635). Butterworths, England.
- Geren, H., & Alan Ö. (2012). Farklı ekim zamanlarının iki bezelye (*Pisum sativum* L.) çeşidinde ot verimi ve diğer bazı özellikler üzerine etkileri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 22 (2), 37-47.
- Hampton, J. M., & Tekrony, D. M. (1995). *Handbook of vigour test methods*. 3rd Edition, ISTA, Zürich.
- Hao, W., & Arora, R. (2009). Freezing tolerance and cold acclimation in Guava (*Psidium guajava* L.). *HORTSCIENCE*, 44(5), 1258-1266.
- Homer, A., Şahin, M., & Küçüközdemir, Ü. (2016). Evaluation of pea (*Pisum sativum* L.) germplasm for winter hardiness in Central Anatolia, Turkey, using field and controlled environment. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 52 (2), 55-63.
- ISTA. (2018). *International rules for seed testing*, International Seed Testing Association, Basserdorf, Switzerland.
- Kadioğlu, S., & Tan, M. (2018). Erzurum şartlarında farklı tarihlerde kışlık ekilen yem bezelyesi çeşitlerinin verim ve bazı özellikleri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 27 (1), 25-32.



- Karaköy, T., Demirbaş, A., Yörük, V., Toklu, F., Baloch, F., Ton, A., Anlarsa, A., & Özkan, H. (2016). Sivas ekolojik koşullarında soğuğa dayanıklı bezelye (*Pisum sativum* ssp. *sativum* L. ve ssp. *arvense* L.) genotiplerinin belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25 (ÖZEL SAYI-1), 171-176.
- Kirnak, H., Kaya, C., Taş, I., & Higgs, D. (2001). The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in eggplants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 27(3-4), 34-46.
- Mahajan, S., & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444(2), 139-158.
- McKenzie, D. B., & Sponer, D. (1999). White lupin: an alternative to pea in oat-legume forage mixtures grown in New Foundland. *Canadian Journal of Plant Science*, 79, 43-47.
- Parr, M., Grossman, J. M., Reberg-Horton, S. C., Brinton, C., & Crozier, C. (2011) Nitrogen delivery from legume cover crops in no-till organic corn production. *Agronomy Journal* 103 (6), 1578-1590.
- Pavlović, D., Nikolić, B., Đurović, S., Waisi, H., Anđelković, A., & Marisavljević, D. (2014). Chlorophyll as a measure of plant health: Agroecological aspects. *Pestic. Phytomed. (Belgrade)*, 29(1), 2014, 21-34.
- Raveneau, M. P., Coste, F., Moreau-Valancogne, P., Lejeune-Hénaut, I., & Durr, C. (2011). Pea and bean germination and seedling responses to temperature and water potential. *Seed Science Research*, 21(03), 205-213.
- Saltveit, Jr, M. E., & Morris L. L. (1989). Overview on chilling injury of horticultural crops. In C.Y. Wang (Ed.), *Chilling injury of horticultural crops* (pp. 1-14). Boca Raton, Fla: CRC Press.
- Sincik, M., Bilgili U., Uzun A., & Acikgoz, E. (2005). Effect of low temperatures on the germination of different field pea genotypes. *Seed Science and Technology*, 32(2), 331-339.
- Shafiq, S., Mather, D. E., Ahmad, M., & Paull, J. G. (2012). Variation in tolerance to radiant frost at reproductive stages in field pea germplasm. *Euphytica*, 186(3), 831-845.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1981). *Biometry*. W. H. Freeman and Company, San Francisco, California.
- Stavang, J. A. (2005). Thermoperiodic stem elongation involves transcriptional regulation of gibberellin deactivation in pea. *Plant Physiology*, 138(4), 2344-2353.
- Tanaka, R., & Nakano, H. (2019). Barley yield response to nitrogen application under different weather conditions. *Scientific Reports*, 9, 8477.
- Wang, C.Y. (1990). *Chilling Injury of Horticultural Crops*, CRC Press, Boca Raton FL.
- Wang, H., Huo, Z., Zhou, G., Liao, Q., Feng, H., & Wu, L. (2016). Estimating leaf SPAD values of freeze-damaged winter wheat using continuous wavelet analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 98, 39-45.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

**Determination of the Optimum Mulch-Irrigation Program Combination for Young Apple Trees**

**Cenk KÜÇÜKYUMUK<sup>\*1</sup>, Halit YILDIZ<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>İzmir Demokrasi University, Voc. Highschool, Park and Gardening Plants, 35140, Karabağlar, İzmir, Turkey

<sup>2</sup>Fruit Resarch Institute, Department of Soil and Water Resources, 3250, Eğirdir, İzmir, Turkey

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-0728-059X> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-7922-9366>

\*Sorumlu yazar e-posta: [cenk.kucukyumuk@idu.edu.tr](mailto:cenk.kucukyumuk@idu.edu.tr)

**Article Info**

Received: 02.05.2020

Accepted: 07.08.2020

Online Published 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.731093

**Keywords**

Apple,  
Black textile,  
MM106,  
Vegetative development.  
Water saving,

**Abstract:** The gradual increase demand for water resources, the interest for growing techniques provides irrigation water saving in agricultural production and have no undesired impacts on yield, crop quality, growth and development. This study determined the effects of different mulch materials (black textile, rose oil processing wastes, wheat straw, and no mulch) and irrigation programs on growth of in an orchard for Fuji apple variety grafted on MM106 rootstock on irrigation water, water consumption, shoot number, shoot diameter, shoot length, leaf area index and trunk cross-sectional area. The highest vegetative development was obtained at mulch treatments and frequently irrigated 1<sup>st</sup> irrigation program. 1<sup>st</sup> irrigation program was determined as recommended irrigation when the available water resources are sufficient and also 2<sup>nd</sup> irrigation program together with mulch materials when available water resources are scarce. Each mulch treatment saved water compared to control as 22.0-31.3%, 21.2-28.7% and 17.8-23.5% in 2009, 2010 and 2011, respectively. Black textile was determined the most suitable mulch material for young apple trees according to results of water saving and vegetative development. Rose oil processing wastes and straw also can be used as mulch materials.

**Genç Elma Ağaçları için Uygun Malç-Sulama Programı Kombinasyonunun Belirlenmesi**

**Article Info**

Geliş: 02.05.2020

Kabul: 07.08.2020

Online Yayınlanma 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.731093

**Anahtar kelimeler**

Elma,  
Siyah taban örtüsü,  
MM106,  
Vejetatif gelişme,  
Su tasarrufu.

**Öz:** Su kaynakları için talep giderek artmaktadır ve tarımsal üretimde sulama suyu tasarrufu sağlayan ve verim, ürün kalitesi, büyüme ve gelişme üzerinde olumsuz etkileri olmayan yetiştirme tekniklerine olan ilgi de artmaktadır. Bu çalışma, MM106 anaçlı Fuji elma çeşidinde farklı malç uygulamaları (siyah taban örtüsü, gül posası işleme atığı, buğday samanı ve malçsız konu-kontrol) ve sulama programlarının sulama suyu, evapotranspirasyon, sürgün çapı, sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, yaprak alan indeksi ve gövde kesit alanı üzerinde etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Her bir malç uygulaması için üç farklı sulama programı (sulamaya etkili kök derinliği bölgesindeki elverişli suyun %20, 40 ve 60'ı tüketildiğinde başlama) en uygun sulama programını belirlemek için denenmiştir. En yüksek vejetatif gelişim malç uygulamalarında ve sık sulama yapılan 1. sulama programlarında elde edilmiştir. Tavsiye edilen sulama programı su kaynaklarının elverişli ve yeterli olduğu bölgelerde 1. sulama programıdır. Elverişli su kaynakları miktarının yetersiz olduğu zamanlarda ise malç uygulamalarıyla birlikte 2. sulama programı da uygulanabilir. Malç uygulamalarından elde edilen su tasarrufu miktarı control konusuna göre 2009,

2010 ve 2011 yıllarında sırasıyla 22.0-31.3%, 21.2-28.7% and 17.8-23.5% arasında değişmiştir. Su tasarrufu ve vejetatif gelişim sonuçlarına göre genç elma ağaçları için siyah taban örtüsü en uygun malç materyali olarak belirlenmiştir. Gül posası işleme atıkları ve buğday samanı da malç materyali olarak kullanılabilir.

## 1. Introduction

As the using of water in other fields (industrial production, domestic use, etc.) has been increasing over the time, the available water amounts for agricultural production have been decreasing (Önder et. al., 2005). So to increase water-use efficiency is mandatory (Naor et. al., 2008). That's why, available water resources must be used more carefully. The importance of studies for more efficient use of available water resources is increasing. The studies on the applications which ensure water saving and do not have the negative effects on vegetative development, yield and crop quality are going on all over the world. Mulch using is one of these applications. It provides water saving and has positive effect on plant growth development besides preventing weed growth in apple orchards (Neilsen, et al., 2003; Hogue et. al., 2005).

Amount of irrigation water and irrigation time of plants must be determined accurately to get full efficiency from irrigation (Barragan and Wu, 2001). Haphazard irrigations obstruct plants from obtaining irrigation efficiency which results in un- desired consequences such as salinity-sodium, high cost and low yields. Apple production quantity of Turkey is estimated as 4.0 % of the world's total apple production and apples are one of the most important fruits produced (FAO, 2019). Isparta is at first rank on apple production nearly 20.4% of the country's total (3.618.752 tons) (TUİK, 2019). There are some problems on apple growing (irrigation scheduling, weed control etc.) (Küçükumruk and Ay, 2010).

This study was aimed to determine the effects of different mulch materials namely black textile, straw (wheat straw) and rose oil processing wastes on water saving, evapotranspiration and vegetative development of Fuji apple variety (grafted onto MM106 rootstock. Also, three different irrigation programs have been used for each different mulch materials and the most suitable irrigation program was determined for Fuji variety grafted on MM106 rootstock.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study area and plant material

This experiment was conducted for the three consecutive years (2009- 2011) at Fruit Research Institute (37°49'17.97"N and 30°52'22.44"E), Eğirdir-Isparta, Turkey. The experimental area has a transition climate between Mediterranean and Central Anatolia. The soil of experimental area was loamy, contained low salt content, pH 8.15 and low soil organic matter content. Table 1 shows the physical properties of the experimental soil. According to US Salinity Laboratory Graphical System, the salinity level of the irrigation water, which are in 250- 750 ECx10<sup>6</sup> is included in category C<sub>2</sub>, and S<sub>1</sub> in terms of SAR value (USSS, 1954). Irrigation water was classified as C<sub>2</sub>S<sub>1</sub> suitable for irrigation of the experimental plots. Apple trees were planted in March 2009 at 4 m x 3 m of distance and Fuji variety (grafted onto MM106 rootstock) was used in this experiment.

Table 1. Soil characteristics of the experimental area

Depth (cm)	FC (%)	WP (%)	$\gamma$ (g cm <sup>-3</sup> )	FC (mm)	WP (mm)	AWHC (mm)
0-30	23.80	10.90	1.52	108.53	49.70	58.83
30-60	21.32	10.25	1.48	94.66	45.51	49.15
60-90	22.60	10.55	1.53	103.73	48.42	55.31
90-120	23.50	10.70	1.57	110.69	50.40	60.29
0-90 cm (effective root zone)						163.29

FC: field capacity, WP: wilting point,  $\gamma$ : unit weight of soil, AWHC: available water holding capacity

## 2.2. Study treatments

The study was conducted considering consisted of four mulch treatments (including control) and three different irrigation programs for each mulch treatments. Mulch treatments: no mulch, Control (C); black textile-polypropylene woven cloth (100 g m<sup>-2</sup>) (B); straw-wheat straw (S) and rose oil processing wastes (R)- the rose waste obtained from the wastes of the rose oil processing factories in Isparta province of Turkey were used after sun-dried. Each mulch treatment had three different irrigation programs (1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> irrigation programs) 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> irrigation programs treatments include irrigation of the field with water holding capacity of 20, 40 and 60% was used at 0-90 cm depth of the soil.

In the study, drip irrigation system was used. Two lateral pipes were used for each tree row. The emitters (having 4 l h<sup>-1</sup> flow rate) spacing were 0.75 m on each lateral sides. Digital tensiometers (Soilspec digital tensiometer, JGK TECH, Australia) were used for measuring soil water (placed at 30, 60, 90 and 120 cm depth). Before first irrigation, calibration of tensiometers was made to determine the soil water which corresponds. Programmed irrigation applications were initiated after the available moisture at 0-90 cm soil depth was reached to field capacity at the end of the full bloom period each year.

(ET) was determined according to soil water balance method (Eq. (1)) (James, 1988) for each irrigation treatment.

$$ET = I + R + C_r - D_p - R_f \pm \Delta s \quad (1)$$

In Equation (1); ET, evapotranspiration (mm); I, irrigation water amounts (mm); C<sub>r</sub>, capillary rise (mm); R, rainfall (mm); R<sub>f</sub>, surface run-off (mm); D<sub>p</sub>, water leakage by deep percolation (mm); Δs, change in profile soil water content (mm). C<sub>r</sub> and R<sub>f</sub> were considered as zero, since there were not any ground water problems in the area and emitter discharge rate was selected in accordance with infiltration rate. Deep percolation was calculated after each precipitation during irrigation season. Precipitation was measured with a pluviometer after every rainy day. For determining the irrigation water amounts, The Equation (2) was used (Kanber, 2002).

$$I = \frac{(P_{w_{FC}} - P_w) \times D \times \gamma \times P}{100} \quad (2)$$

In the Equation 2, I; the amount of applied irrigation water (mm), P<sub>w<sub>FC</sub></sub>; field capacity (%), P<sub>w</sub>; water level at effective rootzone before irrigation (%), D; wetting depth (mm), γ; unit weight of soil (g cm<sup>-3</sup>) and P; wetting percentage (%). We determined P as 38.0% (0.38) end of the calculating according to Yıldırım (2005).

The plots were irrigated until they reached field capacity for each irrigation. After the nurseries were planted in March 2009, weeds in the study area were hoed on 15 May, and drip irrigation system was laid. After placing tensiometers, mulch materials were laid on both sides of the trees with 0.70 m width, and in total 1.40 m width. The thickness of straw and rose oil processing wastes was 0.20 m.

## 2.3. Measurement of vegetative growth

Beginning from the planting year, shoot numbers, shoot diameter (mm) and shoot length (cm) of single-year shoots for all trees were measured in during dormancy period in February. Digital calipper was used for measuring shoot diameter.

## 2.4. Leaf area index (m<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>)

Totally 250 leaves were picked from the one year old shoots of all trees for each plot to determine leaf area index at the end of September during study. The digital planimeter (Koizumi KP-90 N) was used to measure leaf area. We calculated “leaf area index” by using Equation 3 (Ünlü, 2000).

$$\text{Total leaf area (for each tree)} = \text{Leaf area (m}^2\text{)} \times \text{total leaf numbers (for each tree)}$$

$$\text{Leaf area index (m}^2\text{/m}^2\text{)} = \frac{\text{Total leaf area (m}^2\text{) (for each tree)}}{\text{Unit area for each tree (m}^2\text{) (4 m x 3 m)}} \quad (3)$$

## 2.5. Trunk cross-section area (cm<sup>2</sup>)

In the first year, after the planting and in the following years, every year during dormancy period, the trunk diameters of all trees were measured on two different directions (east-west and north-south) at 15 cm above the graft point of all trees, and trunk cross-sectional areas were calculated by means of the Equation (4).

$$TCSA = \pi \times r^2 \quad (4)$$

In the equation;

TCSA = trunk cross-section area (cm<sup>2</sup>)

r = trunk radius (cm)

## 2.6. Experimental design and statistical analysis

The experiment was designed according to split plot design. Main plots were mulch treatments and sub plots were irrigation programs. There were three replications for each treatments and each replication had twenty one apple trees (Figure 1). Only five trees (grey color in Figure 1) were used for measurements. The analysis of variance (ANOVA) test for the data was conducted with JUMP software program and differences among treatments were compared by means of LSD test.

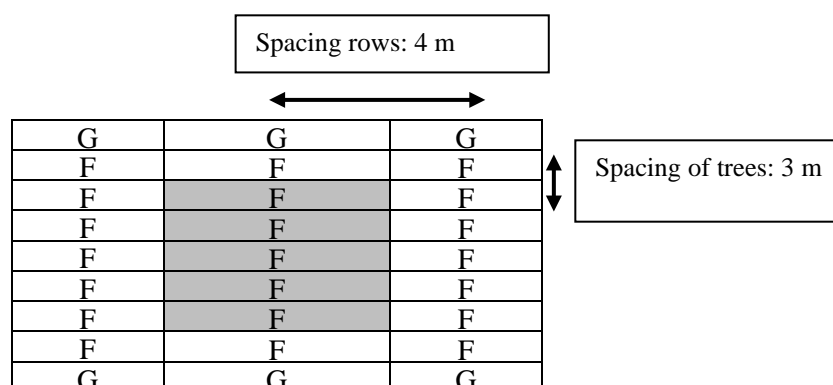


Figure 1. An experimental plot of the study.  
 (F: Fuji variety, G: Granny Smith-pollinator variety)

## 3. Results

### 3.1. Irrigation water (I) and evapotranspiration (ET)

Irrigation water (I) and evapotranspiration (ET) were presented in Table 2, Table 3 and Table 4. The first irrigation dates were 20 May in 2009, 18 May in 2010, and 23 May in 2011, while the latest irrigation dates were 27 September in 2009, 27 September in 2010 and 22 September in 2011, respectively. Irrigation water amounts obtained from treatments were in the range of 279.2-424.1 mm in 2009, 306.7-461.5 mm in 2010 and 363.1-504.7 mm in 2011. It was determined that the plant water consumption varied in the range of 289.2-516.1 mm in 2009, 317.8-565.4 mm in 2010 and 372.2-570.3 mm in 2011. Mulch treatments required less irrigation water according to control treatment beginning from the first year.

Table 2. Irrigation water amounts (I), evapotranspiration (ET), evaporation (Epan) and precipitation (P) in 2009

Months	Epan	P	Treatments											
			Control			Rose oil processing wastes			Straw			Black textile		
May <sup>1</sup>	77.4	10.9	40.4	57.8	18.9	41.0	18.9	18.9	40.9	18.9	18.9	40.9	18.9	18.9
June	236.1	15.1	90.1	83.2	61.0	73.2	81.6	65.0	65.4	86.6	61.0	72.8	83.3	61.2
July	254.3	8.8	113.3	85.9	124.6	89.5	81.9	67.5	70.5	45.3	60.0	68.9	41.7	63.5
Aug.	238.3	0.7	109.7	88.1	127.2	86.6	86.5	135.5	92.1	84.0	62.3	66.3	82.5	62.0
Sept. <sup>2</sup>	114.1	35.4	70.6	95.5	71.5	40.3	55.9	22.5	37.5	62.3	83.6	42.1	52.8	79.2
Total	920.2	70.9												
Total I			424.1	410.5	403.2	330.6	324.8	309.4	306.4	297.1	285.8	291.0	279.2	284.8
Total ET			516.1	498.0	492.1	342.2	332.6	318.8	317.7	307.1	293.8	302.5	289.2	291.9

<sup>1</sup>Total values were between May 20<sup>th</sup> and 31<sup>st</sup>.

<sup>2</sup>Total values were between September 1<sup>st</sup> and 27<sup>th</sup>.

Table 3. Irrigation water amounts (I), evapotranspiration (ET), evaporation (Epan) and precipitation (P) in 2010

Months	Epan	P	Treatments											
			Control			Rose oil processing wastes			Straw			Black textile		
May <sup>1</sup>	66.1	26.0	57.7	35.6	39.0	48.0	28.9	31.0	46.9	22.6	26.7	44.4	18.8	20.2
June	164.9	50.3	67.5	83.2	63.6	68.3	85.2	61.1	63.8	83.8	61.2	64.8	83.5	61.3
July	233.8	2.5	140.9	122.4	129.9	92.9	92.1	62.6	96.9	87.5	62.0	90.9	84.1	60.8
Aug.	253.6	1.7	117.1	85.6	125.4	93.9	88.2	122.7	70.1	85.5	123.5	72.8	44.7	62.1
Sept. <sup>2</sup>	126.6	8.1	78.3	103.5	74.6	60.6	61.3	67.6	66.3	58.7	61.4	55.7	84.4	102.3
Total	870.7	88.6												
Total I			461.5	430.3	432.5	363.7	355.7	345.0	344.0	338.1	334.8	328.6	315.5	306.7
Total ET			565.4	536.3	533.9	377.2	366.7	358.2	357.7	348.7	344.6	343.3	327.5	317.8

<sup>1</sup>Total values were between May 18<sup>th</sup> and 31<sup>st</sup>.

<sup>2</sup>Total values were between September 1<sup>st</sup> and 27<sup>th</sup>.

Table 4. Irrigation water amounts (I), evapotranspiration (ET), evaporation (Epan) and precipitation (P) in 2011

Months	Epan	P	Treatments											
			Control			Rose oil processing wastes			Straw			Black textile		
May <sup>1</sup>	40.7	15.0	29.0	30.6	31.0	21.0	22.4	23.4	22.0	24.0	23.5	26.8	23.1	21.5
June	188.0	20.6	104.0	127.7	121.2	90.6	87.6	61.5	88.0	86.3	61.2	85.2	88.0	63.5
July	242.9	0.0	140.1	84.8	121.4	113.7	87.9	125.2	111.3	91.5	129.4	89.6	88.6	66.7
August	237.9	8.3	140.9	127.0	61.2	96.4	92.2	64.3	92.3	91.3	64.5	122.1	89.4	129.1
September <sup>2</sup>	156.2	4.5	90.7	113.6	134.7	93.2	100.6	121.1	81.8	95.8	89.8	62.2	90.4	82.3
Total	844.2	48.4												
Total I			504.7	483.7	469.5	414.9	390.7	395.5	395.4	388.9	368.4	385.9	379.5	363.1
Total ET			570.3	543.8	533.8	426.4	403.9	405.7	412.3	400.1	376.4	402.8	391.6	372.2

<sup>1</sup>Total values were between May 23<sup>th</sup> and 31<sup>st</sup>.

<sup>2</sup>Total values were between September 1<sup>st</sup> and 22<sup>nd</sup>.

### 3.2. Vegetative growth

#### Shoot number

Shoot numbers obtained during the study is shown on Table 5. It was determined that mulch and irrigation program treatments had statistically important effects in 2009 ( $p < 0.01$ ). The highest vegetative development was obtained from black textile and rose oil processing wastes mulch treatments and from 1<sup>st</sup> irrigation program among irrigation programs. Mulch x irrigation program interaction was found significant in 2010 ( $p < 0.01$ ). The highest shoot numbers were determined in 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> irrigation programs of the mulch treatments. According to the results in 2011, the mulch and irrigation programs had separate effects on shoot numbers ( $p < 0.01$ ). Black textile and the 1<sup>st</sup> irrigation program had the highest values among treatments. In general, mulch treatments had a positive effect on shoot numbers and it was observed that 1<sup>st</sup> irrigation program also had a similar effect.

Table 5. Shoot numbers of apple trees in 2009, 2010 and 2011

Mulches	Irrigation programs			Average
	1 <sup>st</sup> program	2 <sup>nd</sup> program	3 <sup>rd</sup> program	
2009				
Black textile	5.13 <i>ns</i>	4.27	4.17	4.52 a**
Straw	4.40	4.27	3.47	4.04 ab
Rose oil processing wastes	4.40	4.33	3.79	4.18 a
Control	4.27	3.47	3.29	3.67 b
Average	4.55 a**	4.08 b	3.68 b	
2010				
Black textile	14.40 a**	13.07 ab	9.47 def	12.31
Straw	13.03 ab	10.80 cd	8.73 efg	10.85
Rose oil processing wastes	12.27 bc	11.33 c	10.87 cd	11.49
Control	9.73 de	8.03 g	7.73 fg	8.49
Average	12.36	10.73	9.28	
2011				
Black textile	51.67 <i>ns</i>	30.67	24.33	35.56 a**
Straw	36.00	26.33	24.00	28.78 b
Rose oil processing wastes	32.00	26.67	22.67	27.11 b
Control	29.67	23.33	19.67	24.22 b
Average	37.33 a**	26.75 b	22.67 b	

\*\*Means followed by the same letter are not significantly different (LSD test, P<0.01; ns: no significant).

### Shoot length

According to the results of shoot length (Table 6), the mulch x irrigation program interaction in 2009 and 2010 was effective as statistically 1% level (p<0.01). 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> irrigation programs in mulch treatments had the highest values. Mulch and irrigation program had separate effects (p<0.01) in 2011. The highest shoot lengths were obtained from black textile among mulch treatments and from 1<sup>st</sup> irrigation program among the irrigation programs.

Table 6. Shoot length (cm) values of apple trees in 2009, 2010 and 2011

Mulches	Irrigation programs			Average
	1 <sup>st</sup> program	2 <sup>nd</sup> program	3 <sup>rd</sup> program	
2009				
Black textile	65.81 a**	56.34 b	39.80 c	53.98
Straw	52.24 b	41.51 c	24.25 e	39.33
Rose oil processing wastes	54.51 b	40.71 c	40.16 c	45.12
Control	37.50 cd	35.32 cd	32.99 d	35.27
Average	52.51	43.47	34.30	
2010				
Black textile	105.19 a**	91.58 b	62.79 g	86.52
Straw	94.21 b	81.42 cd	59.64 gh	78.42
Rose oil processing wastes	82.98 c	75.72 ef	57.57 gh	72.09
Control	76.47 de	69.73 f	56.04 h	67.41
Average	89.72	79.61	59.10	
2011				
Black textile	68.47 <i>ns</i>	66.03	61.70	65.40 a**
Straw	64.33	62.07	54.97	60.46 bc
Rose oil processing wastes	63.90	61.27	58.63	61.27 b
Control	63.27	58.67	50.83	57.59 c
Average	64.99 a**	62.00 b	56.53 c	

\*\*Means followed by the same letter are not significantly different (LSD test, P<0.01; ns: no significant).

### Shoot diameter

According to the results of shoot diameter (Table 7), mulch x irrigation program interaction in 2010 was found significant while mulches and irrigation programs had separate effects in the other

years. The highest shoot diameter values in 2009 were obtained from rose oil processing wastes and black textile in mulch treatments and from 1<sup>st</sup> irrigation program. 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> irrigation programs of mulch treatments had the highest shoot diameter according to the results of 2010. In the last year, black textile was at the first rank among mulch treatments, and 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> irrigation programs were in the same group statistically.

Table 7. Shoot diameter (mm) of apple trees in 2009, 2010 and 2011

Mulches	Irrigation programs			Average
	1 <sup>st</sup> program	2 <sup>nd</sup> program	3 <sup>rd</sup> program	
2009				
Black textile	5.31 <i>ns</i>	4.90	4.77	4.99 <i>ab</i> *
Straw	4.79	4.70	4.24	4.58 <i>b</i>
Rose oil processing wastes	6.46	5.22	4.37	5.35 <i>a</i>
Control	4.57	4.38	4.20	4.39 <i>b</i>
Average	5.28 <i>a</i> *	4.80 <i>ab</i>	4.39 <i>b</i>	
2010				
Black textile	9.80 <i>a</i> **	9.01 <i>b</i>	7.24 <i>de</i>	8.68
Straw	9.11 <i>b</i>	9.10 <i>b</i>	7.07 <i>de</i>	8.43
Rose oil processing wastes	9.04 <i>b</i>	7.73 <i>c</i>	6.95 <i>e</i>	7.91
Control	7.54 <i>cd</i>	7.16 <i>de</i>	6.78 <i>e</i>	7.16
Average	8.87	8.25	7.01	
2011				
Black textile	8.14 <i>ns</i>	7.82	7.42	7.79 <i>a</i> *
Straw	7.87	7.84	7.00	7.57 <i>ab</i>
Rose oil processing wastes	7.70	7.49	7.41	7.53 <i>ab</i>
Control	7.52	7.28	6.87	7.22 <i>b</i>
Average	7.81 <i>a</i> **	7.61 <i>a</i>	7.18 <i>b</i>	

\*Means followed by the same letter are not significantly different (LSD test, P<0.05).

\*\*Means followed by the same letter are not significantly different (LSD test, P<0.01; ns: no significant).

### Leaf area index (LAI)

While mulch x irrigation program interaction had significant effect on LAI (p<0.01) in 2010, mulch and irrigation program had significant effects on LAI (p<0.01) separately in 2011. LAI values ranged between 0.123 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> and 0.238 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> in 2010. Black textile x 1<sup>st</sup> irrigation program interaction had the highest LAI and the lowest LAI was obtained from control x 3<sup>rd</sup> irrigation program interaction. LAI was ranged 0.136 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> and 0.333 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> and black textile mulch had the highest average LAI (0.258 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup>) in 2011. Straw and rose oil processing wastes had similar results. LAI values of study in 2011 were higher than LAI values in 2010. According to irrigation programs, while irrigation water amounts increased, LAI increased.

Table 8. Leaf area index (m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup>) of the study in 2010 and 2011

Mulches	Irrigation programs			Average
	1 <sup>st</sup> program	2 <sup>nd</sup> program	3 <sup>rd</sup> program	
2010				
Black textile	0.238 <i>a</i> **	0.214 <i>b</i>	0.150 <i>fg</i>	0.195
Straw	0.203 <i>bc</i>	0.163 <i>ef</i>	0.140 <i>g</i>	0.171
Rose oil processing wastes	0.214 <i>b</i>	0.188 <i>d</i>	0.146 <i>g</i>	0.180
Control	0.190 <i>cd</i>	0.166 <i>ef</i>	0.123 <i>h</i>	0.170
Average	0.22	0.18	0.14	
2011				
Black textile	0.333 <i>ns</i>	0.272	0.168	0.258 <i>a</i> **
Straw	0.304	0.252	0.162	0.239 <i>b</i>
Rose oil processing wastes	0.303	0.252	0.168	0.241 <i>b</i>
Control	0.264	0.209	0.136	0.203 <i>c</i>
Average	0.301 <i>a</i> **	0.246 <i>b</i>	0.159 <i>c</i>	

\*\*Means followed by the same letter are not significantly different (LSD test, P<0.01; ns: no significant)



### Trunk cross-sectional area (TCSA)

At measurements after planting in 2009, there was no differences among all treatments as statistically (Table 9). According to the measurements results of 2009 following the first measurement, mulch treatments and irrigation programs have separate effects ( $p < 0.01$ ). The highest values were obtained from black textile among mulch treatments and from the 1<sup>st</sup> irrigation program among the irrigation programs. The effects of mulch x irrigation program interaction were significant in 2010 and 2011 ( $p < 0.05$ ). A significant increasing was determined of measurements TCSA for all treatments during the study.

Table 9. Trunk cross-sectional area values (cm<sup>2</sup>) of apple trees in the study

Mulches	Irrigation programs			Average
	1 <sup>st</sup> program	2 <sup>nd</sup> program	3 <sup>rd</sup> program	
2009 (at planting)				
Black textile	110.72 <i>ns</i>	111.89	114.31	112.31 <i>ns</i>
Straw	120.16	113.94	109.40	114.50
Rose oil processing wastes	105.05	113.75	110.56	109.79
Control	105.69	101.47	113.75	106.97
Average	110.41 <i>ns</i>	110.27	112.01	
2009				
Black textile	250.61 <i>ns</i>	207.21	205.95	221.25 a**
Straw	224.25	190.54	177.26	197.35 b
Rose oil processing wastes	187.86	183.22	188.42	186.50 b
Control	186.19	159.79	156.84	167.61 c
Average	212.23 a**	185.19 b	182.11 b	
2010				
Black textile	756.83 a*	585.42 bc	431.27 efg	591.18
Straw	598.98 b	507.27 cde	419.02 fg	508.42
Rose oil processing wastes	570.28 bc	474.72 def	408.16 fg	484.39
Control	523.10 bcd	424.40 fg	376.75 g	441.42
Average	612.30	497.95	408.80	
2011				
Black textile	1919.15 a*	1284.86 bc	977.99 cd	1393.99
Straw	1361.03 b	1191.14 bc	947.65 cd	1166.61
Rose oil processing wastes	1033.33 bcd	968.67 cd	956.26 cd	986.09
Control	1016.27 bcd	961.09 cd	759.37 d	912.24
Average	1332.45	1101.44	910.32	

\*Means followed by the same letter are not significantly different (LSD test,  $P < 0.05$ ).

\*\*Means followed by the same letter are not significantly different (LSD test,  $P < 0.01$ ; ns: no significant)

## 4. Discussion and Conclusion

### 4.1. Irrigation water (I) and evapotranspiration (ET)

As the mulch materials prevented the sunlight, the evaporation from the soil surface was minimized; therefore, evapotranspiration decreased and also irrigation water amounts. Rose oil processing wastes mulch was less effective than wheat straw mulch, while black textile mulch was the most effective. For example, in 2009, applied irrigation water amounts was 424.1 mm to the control treatment for the 1<sup>st</sup> irrigation program while it was 330.6 mm, 306.4 mm and 291.0 mm in rose oil processing wastes, straw and black textile mulch treatments, respectively. Irrigation water amounts obtained from mulch treatments were in the range of 306.7-363.7 mm and 363.1-414.9 mm for second and third years old apple trees. Uçar et al. (2009) obtained for Galaxy Gala apple variety grafted onto M9 rootstock without mulches as between 355.7-446.5 mm and 359.2-538.9 mm for two and three years old apple trees in the same area. When comparing the results, it can be said that mulch treatments had water saving.

Mulch treatments had significant effects on irrigation intervals. While more frequent irrigation was made in control treatment, irrigation interval was longer for mulch treatments. Irrigation numbers and amounts were the highest for the 1<sup>st</sup> irrigation treatments. For example, while irrigation interval for 1<sup>st</sup> irrigation programs were 4 days for control treatments, they were 5-6 days for the other treatments.

Some of researchers stated that more soil water could be stored at root zone with mulching and irrigation interval was longer than no mulch treatments and less amounts of irrigation water was used (Treder et al., 2004; Hogue et al., 2005; Zambreno et al.; 2005; Li et al., 2013).

Irrigation water and plant water consumption increased for all treatments continuously during the study. Reason for the increasing is that young apple trees growth continuously from year to year. Similarly, the differences among irrigation water amounts of control and mulch treatments was higher in 2009 while it narrowed down in 2010 and 2011. The reason is, apple trees in mulch treatments had higher vegetative growth compared to trees in control treatments, therefore they consumed more irrigation water. Water saving in mulch treatments was %22.0-31.3, %21.2-28.7 and %17.8-23.5 in 2009, 2010 and 2011, respectively, when it was compared to control treatment. Phadung et al. (2005); Hegazi and Oguer (2000); Treder et al. (2004) and Hogue et al. (2005) obtained similar results.

#### 4.2. Vegetative growth

The highest shoot development was determined in 1<sup>st</sup> irrigation program with frequent irrigation and lower values were obtained from 3<sup>rd</sup> irrigation program with less irrigation water amounts. That is, the vegetative development was effected negatively as irrigation interval increased. Frequent irrigation of apple trees had positive effects on the vegetative development (Çay et al., 2009; Uçar et al., 2009), less water or water stress had negative effects on the vegetative development of apple trees (Lakso, 2003; Naor, 2006).

According to the results of shoot numbers, shoot length and shoot diameter in 2011, it was determined that the rose oil processing wastes, wheat straw and control treatments were generally in same group as statistically. Because the thicknesses of the wheat straw and rose oil processing wastes decreased in time, their effectiveness also decreased. This is why they had similar results. As synthetic mulch materials are more effective on the water preservation compared to organic mulches (wheat straw, rose oil processing wastes etc.), black textile was more effective on the vegetative development of the trees.

##### *Leaf area index (LAI)*

Leaf area measurements is important as for monitoring the plant development (Kılıç and Anaç, 2005) as the leaves are a very important stress indicator for plants (Kocaçalışkan, 2005). Therefore, leaf area index is also important indicator for plants. The highest leaf area index ~~were~~ **was** obtained from mulch treatments and 1<sup>st</sup> irrigation program. The treatments with a greater leaf area index may be recommended as it is also a good indicator of plant development. Young apple trees growth continuously. So they had more leaf and also leaf area for each tree. Cohen and Naor (2002) determined that average LAI of Golden Delicious apple variety grafted on M9 rootstock M9 was 2.4 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup>. Uçar et al. (2009) reported that the values of Galaxy Gala and Top Red apple varieties grafted on M9 rootstock ranged between 0.11 and 0.94 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup>. Because of different apple variety, rootstocks and planting distances used in the study, values were different from this study.

##### *Trunk cross-sectional area (TCSA)*

According to results of TCSA values obtained from the study, it was observed that these values were continuously increasing each year after planting. Black textile had the highest values and the lowest values were obtained from the control treatment. Shoot development of fruit trees increased at young apple orchard when mulch materials were used and this increasing affected positively to trunk diameter increasing (Buban et al., 1996). Also frequent irrigation had a positive effect on trunk cross-sectional area. It is possible to said that the vegetative development increased in 1<sup>st</sup> irrigation program with more frequent irrigation. Vegetative development of fruit trees decrease when soil water at effective root zone of trees decreases (Uçar et al., 2009). Vegetative development was negatively affected as the irrigation interval increased (for 3<sup>rd</sup> irrigation programs). Yazgan et. al. (2004) for young sweet cherry trees and Uçar et. al. (2009) for young apple trees also reported similar results.

Water saving was determined in the study and less irrigation water was used for apple growing without a negative effect on vegetative development. Strong vegetative development has a positive

effect when the trees grown up to yield age. Vegetative development (shoot number, shoot length, shoot diameter, trunk cross-sectional area, leaf area index) increased continuously because apple trees were young. Vegetative development of apple trees in mulch treatments was higher than apple trees in control treatments. Black textile among mulch materials had the highest vegetative development. Rose oil processing wastes and wheat straw mulches generally had similar results. Researchers reported that mulch materials increased shoot diameter, shoot length and shoot numbers of fruit trees (Kviklys et al., 2004; Phadung et al., 2005). The soil water was preserved at effective root zone for a longer period with mulch materials. Therefore, apple trees spent less energy during water intake with their roots (massive water intake) and as a result they had a higher vegetative growth and development. Neilsen et. al. (2003) and Hogue et. al. (2005) obtained similar results.

It was determined that mulching and irrigation programs had both positively effects on vegetative development and water saving for young apple orchards. Irrigation is recommended when %20 of available water holding capacity at effective root zone (0-90 cm) is consumed (1<sup>st</sup> irrigation program) for young apple trees grafted on MM106 rootstock. Recommended irrigation is the 1<sup>st</sup> irrigation program when the available water resources are sufficient. In addition, apple growers can use 2<sup>nd</sup> irrigation program together with mulch materials when water resources are scarce. 22.0 and 31.3% in average water saving was obtained in mulch treatments. The highest water saving values were determined in black textile treatments as 23.5-31.3%. Accordingly, irrigation for more agricultural area may be provided with mulch using when water resources are also sufficient. Irrigation interval could be expanded with mulch using and a reduction of labor, energy cost etc. cost items was occurred by using less water. At the orchards where organic mulch materials such as wheat straw and rose oil processing wastes are used; completion of the missing thicknesses may be recommended at the end of every growing season to continue the effectiveness of mulches. According to the current status or at the regions where water resources are limited; the mulch and irrigation programs determined with this study may be recommended to apple growers.

## Acknowledgements

This experiment was summarized partially from the research project supported by the General Directorate of Agricultural Research and Policy of the Turkish Ministry of Agriculture and Forest.

## REFERENCES

- Barragan, J., & Wu, I. P. (2001). Optimal scheduling of a micro irrigation system under deficit irrigation. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 80 (2), 201-208.
- Buban, T., Helmeczi, B., Papp, J., Dorgo, E., Jakab, I., Kajati, I. & Merwin, I. (1996, July). *IFP-compatible ground-cover management systems in a new-planted apple orchard* Paper presented at the Proceedings of 19th International Conference on Integrated Fruit Production, 19(4), 263-267, Crackow, Poland.
- Cohen, S. & Naor, A. (2002). The Effect of three rootstocks on water use, canopy conductance and hydraulic parameters of apple trees and predicting canopy from hydraulic conductivity. *Plant, Cell and Environment*, 25(1), 17-28.
- Çay, Ş., Tarı, A. F., Dinç, N., Bitgi, S., Özbahçe, A., Palta, Ç., & Okur, O. (2009). Effects of different irrigation programmes on yield and quality characteristics of Granny Smith apple variety grafted onto M9 rootstock. *Journal of Agriculture Sciences Researches*, 2(2), 73-79.
- FAO, (2019). Food and Agriculture Organization Statistics. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Erişim tarihi: 12.02.2020
- Hegazi A. & Ogier, J.P. (2000). Plastic mulching for weed control and water economy in vineyards. *Acta Horticulturae* 2000, (536,) 245-250.
- Hogue, E. J., Kuchta, S., Neilsen, G. H., Forge, T. & Neilsen, D. (2005, June). *Improving yield and soil quality with mulches and amendments in orchards* Paper presented at the Proceedings of the Third National Organic Tree Fruit Research Symposium, 6-8 June 2005, p. 76-77, Campbell's Resort, Chelan, WA.
- James, L.G. (1988). *Principles of Farm Irrigation System Design*. John Wiley and Sons Inc., New York, USA.

- Kanber, R. (2002). *Irrigation*. Çukurova University Agriculture Faculty General Publication Number:174, Lesson books No: A-52, Adana, 530 p.
- Kılıç, C., & Anaç, D. (2005, October). *The relationship between potassium fertilization and physiological parameters of satsuma mandarine under salt stress* Paper presented at the Workshop on Potassium, 3-4 October 2005, p. 188-195, Eskişehir, Turkey.
- Kocaçalışkan, İ. (2005). *Plant Physiology*. 5th ed. Academic Pres, Dumlupınar University, Kütahya-Turkey, 318 p.
- Küçükyumruk, C., & Ay. Z. (2010, June). *Meyve yetiştiriciliğinde yüzey sulama yönteminden damla sulama yöntemine geçişte yapılan hatalar ve çözüm yolları* Paper presented at the 1. Ulusal Toprak ve Su Kaynakları Kongresi, 1-4 Haziran 2010, Eskişehir, (sözlü bildiri), Bildiriler kitabı, s: 232-237.
- Kviklys, D., Rumpunen, K., & Ruusa, S. (2004). Mulching systems and weed control in Japanese Quince (*Chaenomeles japonica* LDL.) Plantations. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 12, 125-132.
- Lakso, A. N. (2003). *Water Relations of Apples*. p. 67-194. In Apples, CABI Publishing, Cambridge, USA. ISBN 0 85199 592 6.
- Li, S. X., Wang, Z. H., Li, S. Q., Gao, Y.J. & Tian, X.H. (2013). Effect of plastic sheet mulch, wheat straw mulch, and maize growth on water loss by evaporation in dry land areas of China. *Agricultural Water Management*, 116, 39-49.
- Naor, A. (2006). Irrigation scheduling and evaluation of tree water status in deciduous orchards. In: Janick, J. (Ed.), *Horticultural Reviewers*, 32, 111-165.
- Naor, A., Naschitz, S., Peres, M. & Gal., Y. (2008). Responses of apple fruit size to tree water status and crop load. *Tree Physiology*, 28, 1255-1261.
- Neilsen, G., Hogue, E.J., Forge, T., & Neilsen, D. (2003). Mulches and biosolids affect vigour, yield and leaf nutrition of fertigated high density apple. *Hortscience*, 38(1), 41-45.
- Önder, S., Kanber, R., Önder, D., & Kapur, B. (2005, September). *The differences of possibility of global climate changing on irrigation methods and management techniques*. Paper presented at the GAP IV. Congress of Agriculture, 21–23 September 2005, p. 1128-1135. Şanlıurfa.
- Phadung, T., Nilnond, S., Phavaphutanon, L., & Thongpae, S. (2005). *Effects of irrigation and mulching materials on growth, yield and berry quality of "Perlette" grape* Paper presented at the Proceeding of 43rd Kasetsart University Annual Conference, p. 459-466. Thailand, 1-4 Feb., 2005.
- Treder, W., Klankowski, K., Mika, A., & Wojcik, P. (2004). Response of young apple trees to different orchard floor management systems. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 12, 113-122.
- TUİK, 2019. TUİK Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist>. Erişim tarihi: 12.02.2020
- Uçar, Y., Kadayıfçı, A., Aşkın, M.A., Kankaya, A., Şenyiğit, U., & Yıldırım, F. (2009). *The Effect of Different Irrigation Programs On Vegetative and Reproductive Growth Parameters of Young Dwarf Apple Varieties* (final report). Project number: TUBİTAK-TOVAG 105-O-538, 197 p.
- U.S. Salinity Laboratory Staff (1954). *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkaline Soils*. Agricultural Handbook No: 60.
- Ünlü, M. (2000). *Determining of water consumption of cotton and crop coefficients by micrometeorological methods in Çukurova conditions* (PhD). Çukurova University Natural Applied Science.
- Yazgan, S., Büyükcangaz, H., Demirtaş, Ç., & Candoğan, B. N. (2004). The effects of different irrigation programme on vegetative development parameters and plant water consumption in young sweet cherry trees. *Uludağ University Agriculture Faculty Publication*, 18(2), 1-12.
- Yıldırım, O. (2005). *Irrigation Systems Design*. Ankara University Agriculture Faculty Publications: 1542, Lesson Book:495, Ankara, 348 p.
- Zambreno, K., Hoover, E., Poppe, S. & Proppom, F. (2005, June). *Organic mulches affect soil moisture and temperature during establishment of apple trees* Paper presented at the Proceedings 3rd National Organic Tree Fruit Research Symposium. June 6-8, 2005, p. 74-75. Chelan, Washington. Washington State University Tree Fruit Research and Extension Center, Wenatchee, WA. In: Granatstein, D. and A. Azarenko (eds.).



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Derleme Makalesi (Review Article)

**Su Ürünlerinde Nisin Uygulamaları\*\***

**Yılmaz UÇAR\*<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, 52400, Ordu, Türkiye

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 01330, Adana, Türkiye

<sup>1,2</sup><https://orcid.org/0000-0002-6770-6652>

\*Sorumlu yazar e-posta: [yucar@cu.edu.tr](mailto:yucar@cu.edu.tr); [ucarylmz@gmail.com](mailto:ucarylmz@gmail.com)

**Makale Bilgileri**

Geliş: 25.04.2020

Kabul: 07.08.2020

Online Yayınlanma 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.726727

**Anahtar kelimeler**

Antimikrobiyal,  
Nisin,  
Su ürünleri.

**Öz:** Gıdaların muhafazası sadece balık etinde değil tüm gıdalar için insanlık tarihi boyunca önemli bir sorun olarak görülmüştür. Bu durum gıdaların uzun süre tüketilebilir düzeylerde kalabilmesi amacıyla dünyanın farklı bölgelerinde birçok geleneksel muhafaza metotlarının geliştirilmesine yol açmıştır. Günümüzde ise iletişim teknolojilerinin gelişmesi ve kentleşmenin etkisiyle gıda endüstrisi her geçen gün daha da büyümektedir. Gıda endüstrisindeki bu büyümeye rağmen, mikroorganizma etkisiyle oluşan bozulmalar ve gıda zehirlenmeleri gözlenebilmektedir. Sentetik koruyucuların gıda ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri, antibiyotige dirençli suşları geliştirmesi ve tüketicilerin sentetik koruyuculara karşı olumsuz algıları nedeniyle daha "doğal" ve "minimum düzeyde işlenmiş" gıdalara yönelik bir talep yaratmış ve doğal antimikrobiyal ajanlara ilgi artmıştır. Son yıllarda pek çok araştırmacı gıda üretimi ile ilgili patojenleri engellemek için doğal bir bakteriyosin olan nisin uygulamaktadır. Nisin, penisilinden önce keşfedilen ve çok çeşitli gram-pozitif bakterilere (vejetatif hücreler ve sporlar) karşı antimikrobiyal aktivite gösteren bir ajandır. Ayrıca diğer koruyucu maddelerle birlikte kullanıldığında bazı gram-negatif bakterilere karşı da yararlı olabilmektedir. Nisin, 50'ye yakın ülkede ve Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü ve Avrupa Birliği tarafından onaylanmış, genellikle güvenli olarak kabul edilen (GRAS; Generally Recognized As Safe) ticari uygulamalarda geniş çapta kullanılmaktadır. Nisin, Avrupa Gıda Katkı Maddesi listesinde E234 kodu ile biyoprezervatif bileşen olarak yer almıştır. Bu derlemede doğal bir koruyucu olan nisinin su ürünleri sektöründe kullanım olanakları değerlendirilmiştir.

**Nisin Applications in Seafood**

**Article Info**

Received: 25.04.2020

Accepted: 07.08.2020

Online Published 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.726727

**Keywords**

Antimicrobial,  
Nisin,  
Seafood.

**Abstract:** Food preservation has been seen as an important problem not only in seafood but also all foods throughout human history. This situation has led to the development of many traditional preservation methods in different parts of the world to keep the food at levels that can be consumed for a long time. Today, with the development of communication technologies and urbanization, the food industry is growing day by day. Despite this growth in the food industry, deterioration and food poisoning caused by the microorganism effect can be observed. Due to the negative effects of synthetic preservatives on food and human health, the development of antibiotic-resistant strains, and the negative perceptions of consumers towards synthetic preservatives, they created a demand for more "natural" and "minimally processed" foods, and interest in natural antimicrobial agents increased. In recent years, many researchers have

been applying nisin, a natural bacteriocin, to prevent pathogens associated with food production. Nisin is an agent discovered before penicillin and shows antimicrobial activity against a wide range of gram-positive bacteria (vegetative cells and spores). It can also be useful against some gram-negative bacteria when used with other preservatives. Nisin is widely used in nearly 50 countries and commercial applications that are "generally recognized as safe (GRAS)" approved by the Food and Agriculture Organization/World Health Organization and the European Union. Nisin is listed as a bio preservative component with the E234 code. In this review, the possibilities of nisin using as a natural preservative are evaluated in the seafood sector.

## 1. Giriş

İşlenmiş su ürünlerinin mikrobiyal florası pek çok araştırmacı tarafından incelenmiştir (Gram ve Dalgaard, 2002; Gram ve Huss, 2000; Uçar ve ark., 2020). Farklı mikrobiyal gruplar muhafaza koşullarına bağlı olarak, su ürünleri depolanması sırasında seçilebilir. Düşük miktarda NaCl ekleme, hafif asitleştirme ve vakum pakette soğuk depolamada (soğuk-tütsülenmiş balık gibi) muhafaza edilen balık ürünlerinde baskın mikroflora, gram-negatif bakterilerle birlikte laktik asit bakterileri (LAB; temel olarak *Lactobacillus* ve *Carnobacterium*) tarafından oluşturulur (*Photobacterium phosphoreum* ve psikrotrofik *Enterobacteriaceae*).

Su ürünleri endüstrisindeki temel sorunlardan birisi de *L. monocytogenes* kontaminasyonudur (Rocourt ve ark., 2000; Rørvik, 2000). Yüksek riskli su ürünleri arasında tütsülenmiş balık (sıcak ve soğuk tütsüleme) gibi hafif korunmuş ürünler (< % 6, su, tuz, pH 5), hafif tuzlanmış (havyar, deniz suyu ile pişirilmiş karides, soslanmış ringa), ve marine edilmiş ürünler yer almaktadır (Huss ve ark., 2000). Bunların çoğu yüksek oranda işlenmiş ve buzdolabı sıcaklıklarında uzatılmış bir raf ömrüne sahiptir. Ancak bu ürünler *L. monocytogenes*'in gelişimini destekleyebilir ve daha fazla pişirmeden tüketilir (Huss ve ark., 2000). Füme somon ve füme gökkuşağı alabalığı listeriosis için riskli ürün olarak kabul edilmektedir (Rocourt ve ark., 2000; Rørvik, 2000). Kontamine olmuş soğuk tütsülenmiş gökkuşağı alabalığının yanı sıra soğuk ve sıcak füme gökkuşağı alabalığı ürünlerinin de listeriyoz için kontamine kaynağı olduğu düşünülmektedir (Miettinen ve ark., 1999). Füme midye ve çiğ istiridye ile ilişkili listeriosis salgınları da bildirilmiştir (Brett ve ark., 1998). Sonuç olarak, bu alandaki bakteriyosinlerin uygulanması üzerine yapılan araştırmaların çoğu, *L. monocytogenes*'in önlenmesi ve kontrolüne odaklanmıştır.

Isıl işlemlerin su ürünlerine uygulanması, doku, renk ve lezzeti ciddi şekilde etkileyebileceğinden, bazı sınırlamalara sahiptir. Bu nedenle, su ürünlerine uygulanan ısıl işlemlerin yoğunluğunu azaltmak için bakteriyosinlerin kullanımı incelenmiştir. Al-Holy ve ark., (2004), nisin solüsyonuna daldırılarak işlemde geçirilen havyar üzerinde yeni geliştirilen bir radyofrekans (RF) ısıtma yöntemini test etmişlerdir. Nisin ile birlikte RF ısıtma yöntemi, *L. innocua* ve toplam mezofilik mikroorganizmaları inaktive etmek için sinerjistik olarak kullanılmıştır. 65 °C'de RF-nisin muamelesinden sonra ürünlerde *L. innocua* gözlenmemiştir. RF ile muamele edilen havyar ürünlerinin görsel kalitesi, nisinli veya nisinsiz, kontrol grubu ile karşılaştırılabilir nitelikte olmuştur (Al-Holy ve ark., 2004). Nisin' in *L. monocytogenes* inhibisyonu ve mersin balığı havyarlarında toplam mezofilik bakteriler üzerindeki ısı veya antimikrobiyal kimyasal uygulamalar (laktik asit, kloröz asit, sodyum hipoklorit gibi) ile birlikte kullanımının etkisi Al-Holy ve ark., (2005) tarafından rapor edilmiştir. Nisinin laktik asit ve kloröz asit kombinasyonlarında sinerjistik etki gözlenmemiştir, ancak nisin ile hafif ısıl işlem uygulamalarının birlikte kullanımı sinerjik etkileri ile *L. monocytogenes* ve toplam mezofil sayısını azaltmıştır. Nisin ve ılımlı ısıtmanın kombine etkisi de "soğuk-paket" ıstakoz teneke kutularında *L. monocytogenes*'in engellenmesinde incelenmiştir (Budu-Amoako ve ark., 1999). Ticari süreçle karşılaştırıldığında, ısı ve nisin kombine uygulaması, ürün kaybında önemli bir azalmaya neden olmuştur ve ıstakoz endüstrisindeki işlem maliyetlerini düşürmüştür.

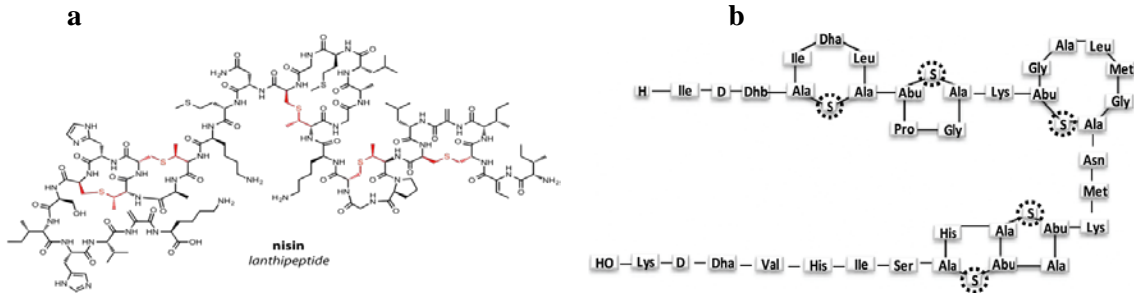
Elotmani ve ark., (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, nisin ve laktoperoksidaz (LP) sisteminin sardalya florasına karşı antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Nisin ve LP sisteminin kombinasyonu, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* ve *Vibrio alginolyticus* haricinde tüm suşlara karşı tek başına kullanılan LP sisteminden ve tek başına kullanılan nisinden önemli derecede daha etkili olarak gözlenmiştir. Benzer şekilde, Nisaplin, headspace CO<sub>2</sub> seviyeleri ve EDTA'nın

3°C'de depolanan suda çözünebilir bir balık kası ekstresinde *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. faecium*'un hayatta kalması üzerindeki ortak etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, ikincisinin hızla inaktive olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, *P. aeruginosa* muameleye çok daha az duyarlı olmuştur ve Nisaplin, istenmeyen etkileşime neden olduğu için uygun olmamıştır (Cabo ve ark., 2001).

### 1.1. Nisin ve antimikrobiyal etki mekanizması

Nisin, çeşitli gram-pozitif bakterileri inhibe eden nispeten geniş bir hedef spektruma sahip olan çeşitli *Lactococcus lactis* suşları tarafından üretilen bir katyonik, amfilik peptittir. Nisin'in antimikrobiyal özelliği ilk olarak 1928 yılında, bir süt starter kültür inhibisyonunun fajlardan kaynaklanmadığı, ancak *L. lactis* (eskiden laktik streptokok ve grup N streptokoklar olarak adlandırılan) denilen bir suşun neden olduğu bildirilmiştir (Rogers, 1928). Bu inhibisyona neden olan bileşik daha sonra incelenmiştir ve "N Grubu Streptokok İnhibitör Maddesi" olarak adlandırılan nisin ismini vermiştir (Mattick ve Hirsch, 1947). Süt ürünlerinin korunmasına yönelik nisin uygulaması, 1951'de İsviçre tipi peynirde şişmeyi engellemek için önerilmiştir (Hirsch ve ark., 1951). Bu olaydan kısa bir süre sonra, ilk ticari girişim 1953 yılında Aplin ve Barret tarafından yapılmıştır. Nisinin bir gıda koruyucu olarak kullanılması 1969 yılında Birleşmiş Milletler'in Gıda ve Tarım Örgütü ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından, 1983 yılında Avrupa Birliği (AB) tarafından (E234) onaylanmıştır ve 1988 yılında Amerika Gıda ve İlaç idaresi (FDA) tarafından "Genellikle Güvenilir Kabul Edilen (GRAS)" ürünler listesine dahil edilmiştir.

Nisin, sınıf I bakteriyosinler olarak adlandırılan lantiyonin içeren bakteriyosinler grubuna aittir. Posttranslasyonel modifikasyonlarla oluşturulan sıra dışı lantionin kalıntılarını içeren bakteriyosinlerin üretimi, laktik asit bakterileri arasında nadir olarak gözlenmemekle beraber lineer, globüler ve iki peptid varyantları dahi karakterize edilmiştir (Şekil 1). Bu peptitlerin birçoğu, genel etki mekanizmasına atfedilen oldukça geniş aralıkta gram-pozitif bakterilere karşı düşük konsantrasyonlarda dahi etkilidir: nisin ve diğer lantibiyotikler hedef bakterilerin hücre kılıfında bulunan bakteriyel hücre duvarı yapımında aracı molekül görevi gören lipid II kenetlenme molekülüne yüksek afinite ile bağlanır (Islam ve ark., 2012). Nisin, hücre duvarı oluşumunu inhibe ederek ve ayrıca membran gözenekleri oluşturarak antibakteriyel etkisini gösteren lineer bir lantibiyotiktir; ayrıca sporlara karşı da aktiftir. Nisinin çeşitli varyantları doğal olarak oluşur. Günümüzde hala ticari ürünler olarak kullanılan nisin A ve nisin Z, tek bir amino asitte farklılık içerirler. Bu da molekülün yük ve çözünürlüğünde fark yaratır.



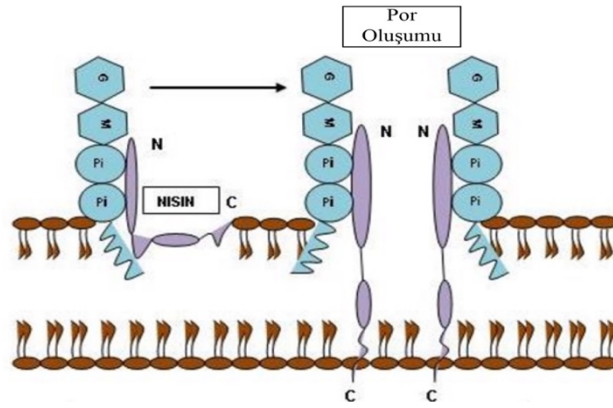
(Dha = dehidroalanin, Dhb = dehidrobutirin, Abu =  $\alpha$ -aminobutirik asit, Ala-S-Ala = mezo-lantionin, Abu-S-Ala= threo-metillantionin. ve diğer L-amino asitler (İzolösin, Alanin, Lösin, Prolin, Glisin, Lizin, Metiyonin, Asparagin, Serin, Histidin, Valin)

Şekil 1. Nisin molekülünün kimyasal yapısı (a) ve amino asit dizilimi (b) (Anonim, 2020).

Lipid II molekülü, lantibiyotiklerin gram-pozitif bakterilere karşı geniş hedef spektrumunu sağlayan temel ve yüksek oranda korunmuş bir moleküldür. Bununla birlikte, gram-negatif bakterilerde lipid II, dış membranın altında korunur. Bu nedenle gram-negatif organizmalar, dış zarlarının parçalandığı durumlarda lantibiyotiklere karşı duyarlı hale gelmektedirler. Gram-pozitif

bakteriler olan üretici organizmalar, biyosentez genleri ile bağlantılı olarak kodlanmış özel bir bağışıklık sistemi tarafından korunurlar (Alkhatib ve ark., 2012).

Bakteriyosinler, çok çeşitli kimyasal yapılara bağlı olarak canlı hücrenin transkripsiyonu, translasyonu, replikasyonu ve hücre duvarı biyosentezi gibi farklı temel fonksiyonlarını etkiler. Ancak pek çoğu, membranda kanal veya por oluşturarak zayıflamış hücrelerin enerji potansiyelini yok ederler (Ganzle, 2004). En iyi tanımlanmış etki mekanizması por oluşumudur. Hedef hücrenin membranındaki moleküler reseptörlerin varlığı, bazı bakteriyosinler için nispeten küçük etki spektrumu ile olabileceğine dair öneriler olmuştur da bu uygulamada gösterilememiştir (Van ve Stiles, 2000). Nisinin antimikrobiyal etkinliği de hedef hücrenin sitoplazma membranında por oluşumunu teşvik etmek (Şekil 2) ve murein sentezini engellemek suretiyle meydana gelmektedir (Ruhr ve Sahl, 1985). Ortama nisin eklenmesi durumunda hassas hücrelerde membran potansiyeli düşmekte ve bu durum proton motivasyon gücünün kaybına neden olmaktadır (Garcerá ve ark., 1993). Nisin varlığında oluşan porlarla hücreler için gerekli olan amino asitler ile monovalent katyonların ve ATP'nin kaybı meydana gelmektedir (Ruhr ve Sahl, 1985). Sonuç olarak zayıflamış hücredeki tüm biyokimyasal reaksiyonlar durmaktadır.



Şekil 2. Nisin tarafından oluşturulan por mekanizması (Ramu ve ark., 2015).

Antimikrobiyal bakteriyosinlerin uzun süreli kullanımıyla ilgili genel kaygı, hedef mikroorganizmalarda potansiyel direnç gelişmesidir. Hücre kılıfında çeşitli modifikasyonlara bağlı olarak gelişen nisin duyarlılığında orta derecede bir azalma, laboratuvar kökenli mutantlar için tanımlanmıştır (Kaur ve ark., 2011). Yaygın bir mekanizma, penisilin bağlayan bir proteinin gelişmiş ifadesini içermiştir (Gravesen ve ark., 2001), ki buda nisin'in lipit II'ye olan erişilebilirliğini ve afinitesini azaltabilir. Bununla birlikte, muhtemelen kenetlenme molekülünün tabiatından dolayı, nisine karşı yüksek seviyeli veya tam bir direnç gözlenmemiştir. Bağışıklık sisteminin üreticiden hedef organizmalara aktarılması da benzer şekilde rapor edilmemiştir (Gravesen ve ark., 2001).

Nisinin test edilmiş uygulamaları oldukça fazladır. Başlangıçta, nisin, ısıya dirençli sporlar ile işlenmiş peynirlerin bozulmasını önlemek için ısıl işlem ile birlikte kullanılmıştır. O zamandan beri, süt ürünleri ve işlenmiş et ve sebzeler de dahil olmak üzere çeşitli gıda türlerinde raf ömrü ve güvenlik amaçları için nisinin etkin bir şekilde kullanımı ispatlanmıştır (Galvez ve ark., 2008; Settanni ve Corsetti, 2008). Nisin, ısıl işlem uygulanmış düşük pH ürünlerinde özellikle etkili olmuştur.

Dikkat edilmesi gereken teknik sınırlamalar, nisin molekülünün özellikleri ve aynı zamanda etki mekanizmasıyla ilişkilidir. Nisin, peptidolitik enzimler (örneğin çiğ et) tarafından ayrışmaya karşı hassastır ve gıda matrislerinde (örneğin yağ fazında) ayrı tutulabilir. Ek olarak, nisin düşük pH'ta nispeten ısıya dayanıklıdır, ancak nötr veya daha yüksek pH'ta ısıya dayanıklı değildir. Ayrıca, fermente ürünlerde kullanıldığında, nisin gram pozitif starter kültürlerini inhibe etmektedir.

Diğer antimikrobiyaller gibi nisinin de etkinliği ve uygulama aralığı, çok faktörlü bir sistemde kullanımla genişletilebilir. Nisin, peptidolitik enzimlerden korunabilir veya lipozomlara (Malheiros ve ark., 2010) dahil edilerek ya da yenilebilir kaplamalara veya filmlere dahil edilerek ayrı tutulabilir (Campos ve ark., 2011). Nisinin etkinliği ve hedef aralığı, bitki ekstraktları veya esansiyel yağlarla



veya yüksek hidrostatik basınç gibi fiziksel uygulamalarla kombinasyon halinde arttırılabilir (Hereu ve ark., 2012).

Nisin, bilimsel literatürde bahsedilen ilk lantibiyotiktir (Class I-Bakteriyosinler) ve *Lactococcus lactis*' in belirli suşları tarafından üretilir (Murugesu ve ark., 2003). Nisin, 3354 moleküler ağırlığa sahiptir, 34 amino asitten oluşur, bakterisidal etki gösterir ve hayvanlara ve insanlara toksik olmadığı söylenir (Hurst, 1983). Rogers ve Whittier, ilk kez 1928'de nisinin etkisini gözlemlemiş ve 1944'te ayrı bir antimikrobiyal madde olarak çalışılmıştır (Mattick ve Hirsch, 1947). Nisin, bazı *Lactococcus lactis* suşları tarafından üretilen en iyi çalışılmış bakteriyosindir ve 50'den fazla ülkede hali hazırda gıda muhafazası için kullanılmaktadır. İlgili çalışma, geleneksel tahıl bazlı fermente gıda olan bozadan (Türkiye) izole edilen nisin Z üreten *L. lactis* suşunun karakterizasyonunu açıklamaktadır. Bu çalışmada, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* GYL32 suşundan elde edilen bakteriyosin sadece ilgili suşları değil aynı zamanda *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* gibi gram pozitif bakterileri de inhibe etmiştir. Proteinaz K ve  $\alpha$ -kimotripsin ile muamele, bu antimikrobiyal maddeyi inaktive eder. 100 °C'de 20 dakika ısıya dayanıklıdır. Farklı pH, enzim ve ısıl işlemlerde GYL32 tarafından üretilen bakteriyosinin nisin Z olduğu sonucuna varılmıştır. Sekans analizi sonucu, bunun nisin Z olduğu ve genetik determinantlarının genomik DNA üzerinde kodlandığını göstermiştir. Nisin Z'nin moleküler ağırlığı Tricine-SDS-PAGE analizi ile 6.700 Da olarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları ile nisin Z üretici *L. lactis* subsp. *lactis* GYL32 suşu fermente ürünlerin güvenliğini arttırmada başlangıç kültürü olarak kullanılabilir (Gözde ve Yasin, 2012).

## 1.2. Nisinin güvenilirliği

Gram-pozitif bakterilerin çoğu, nisine (Class I-Bakteriyosin) özellikle duyarlıdır, fakat gram-negatif bakteriler, maya veya küfler üzerinde çok az veya hiç etkisi yoktur (De Vuyst ve Vandamme, 1994). 1969 yılında, FAO/WHO uzman komitesi tarafından nisinin gıdalar için güvenli ve doğal gıda katkı maddesi olduğu belirtilmiştir (FAO/WHO, 1969). Bunun üzerinden yaklaşık 15 yıl sonra nisin yaklaşık 39 ülkede ticari olarak kullanılmaya başlanmıştır (Hurst, 1983). 1983'te EEC gıda katkı listesine (EEC, 1983) dahil edildikten sonra E234 kodunu almıştır. Nisin, ABD'de 1988'de (FDA, 1988) sertifikalanmış ve 2001 yılında Gıda ve İlaç İdaresi tarafından (FDA, 2001) GRAS (Genel Olarak Güvenilir) statüsü almıştır. 1996 yılına kadar Avrupa, Çin ve ABD dahil üzere 50'den fazla ülkede gıda katkı maddesi olarak kullanımına izin verilmiştir (Delves-Broughton ve ark., 1996). Potansiyel uygulaması ilk olarak 1981'de gıda muhafazası için gösterilmiş ve 1990'dan beri kullanım alanı genişletilmiştir (Delves-Broughton, 1990). Nisin konsantresi Alpin ve Barrett tarafından 'Nisaplin' olarak ticarileştirilmiştir ve şu anda süt ürünleri, kurutulmuş et, konserve gıda ve diğer fermantasyon sanayi bölümlerinde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Nisin, ilk olarak 1928 yılında, süt depolanmasının, inhibitör üretmek için kirletici organizmaların büyümesini desteklediği, peynir yapımında karşılaşılan zorlukların bir sonucu olarak keşfedilmiştir (Hirsch ve ark., 1951). Kısmen saflaştırılmış bir nisin formu ticari olarak üretilmiştir (Twomey ve ark., 2002) ve satılabilir bir bakteriyosin içeren fermente edilmiş toz bir gıda katkı maddesi olarak mevcuttur (Rodríguez ve ark., 1999).

## 1.3. Nisinin Antioksidan Etkisi

Oksidasyon, biyolojik süreçlerde ihtiyaç duyulan enerji üretiminde birçok canlı organizma için gereklidir. Çeşitli sentetik ve doğal antioksidanlar bildirilmiştir; fakat sentetik antioksidanların sağlık üzerindeki güvenlik ve uzun vadeli etkileri hakkında şüpheler vardır. Doğal kaynaklardan gelen antioksidanlar daha fazla arzu edilir. Laktik asit bakterilerinin tüketilmesinin güvenliğini kanıtlayan uzun tüketim geçmişinin yanı sıra laktik kültürlerin, süt ve diğer gıda ürünlerinin üretiminde kullanım için bu mikroorganizmaların kullanımını cazip hale getiren sağlığı teşvik edici özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Fernandes ve Shahani, 1989). Laktik asit bakterilerinin insan sağlığını geliştirmedeki rolüne olan ilgi, en azından Metchnikoff'un laktobasil ile mayalanmış süt tüketiminin yaşam süresini uzatacağını önerdiği 1908'e kadar uzanmaktadır (Metchnikoff, 1908). Eğer bu doğruysa, uzun yaşam ömrü, kısmen laktik asit bakterilerinin antioksidatif yeteneğine bağlı olabilir. Bununla birlikte, günümüzde mevcut olan laktik kültürlerin antioksidatif yeteneği hakkında fazla veri yoktur. Nisinin

antioksidan etkisi ile ilgili literatürde çok fazla çalışma mevcut değildir. Fakat yapılmış olan çalışmalar aşağıda verilmiştir.

*Lactococcus lactis*, nisin Z ve nisin A olmak üzere iki tip bakteriyosin üretir. Bu bakteriyosinlerin soğukta depolanmış balıklarda *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas* sp. dahil olmak üzere yaygın olarak bulunan bakteriler üzerinde inhibitör etkileri vardır. Soğutulmuş gıdalarda, nisin Z ve nisin A, antimikrobiyal etkilerinin artırılması için, sodyum propionat, sodyum sitrat, sodyum benzoat gibi organik asitlerin bir kombinasyonu ile kullanılır (Sallam, 2007). Sodyum asetat ve nisin gibi antimikrobiyal ajanların, depolama koşullarında mikrobiyal büyümenin önlenmesinde ve gıda kalitesinin iyileştirilmesinde etkili oldukları bulunmuştur. Sallam (2007) sonuçlarına göre sodyum asetat, sodyum laktat ve sodyum sitratın nisin Z ile kullanılması, soğukta depolanan dilimlenmiş somondaki antimikrobiyal ve antioksidan kaliteyi artırmıştır. Ayrıca Ghomi ve ark., (2011), % 0.2 nisin ile % 3 sodyum asetatın birlikte kullanımının buzdolabı koşullarında muhafaza edilen ot sazanı (*Ctenopharyngodon idella*) fileto dilimlerinin ürün kalitesini artırdığı en iyi koşul olduğunu rapor etmişlerdir.

Mirshakari ve ark., (2016)'nın yaptığı çalışmada 4 °C' de depolanan vakum paketlenmiş *Rutilus frisii* filetolarında nisin Z (% 0.02) ve sodyum benzoatın (% 1.5 ve % 2.5) antimikrobiyal ve antioksidan etkilerini değerlendirmek amacıyla filetoların 0, 4, 8, 12 ve 16. günlerde mikrobiyal [aerobik canlı sayımları (APC), psikrotrofik sayımlar (PTC) ve laktik asit bakterileri] ve kimyasal [peroksit değeri (PV) ve toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N)] değişimlerini belirlemişlerdir. Sonuçlara göre kontrol örnekleri (önceden soğutulmuş saf suya daldırılmış örnek) PV ve TVB-N açısından 12. günde red edilirken muamele örnekleri 16 günlük bir raf ömrüne sahip olmuştur. Mikrobiyolojik analizler, kontrol grubunda depolamanın 16. gününde APC ve PTC bakteri gruplarını standartlardan daha yüksek içerdiğini, muamele örneklerinin ise kabul edilebilir aralıkta olduğunu göstermiştir. Laktik asit bakterileri açısından 16 gün sonra bile tüm örnekler kabul edilebilir aralıkta olmuştur. Kimyasal ve mikrobiyolojik sonuçlar, nisin Z ve sodyum benzoatın kombine kullanılmasının vakumla paketlenmiş *R. frisii*'nin raf ömrünü uzatabileceğini göstermiştir.

Nisinin antioksidan özelliği ile ilgili Behnama ve ark., (2015)'nin vakum paketlenmiş gökkuşuğu alabalıklarının 16 günlük buzdolabı (4 °C) depolaması ile ilgili yaptığı çalışmada nisin ile muamele edilen gökkuşuğu alabalıklarında depolama süresi boyunca daha düşük lipid oksidasyonu ( $p < 0,05$ ) gözlemlendiğini ve bu durumun nisinin antioksidatif aktivitesinden kaynaklanan reaktif oksijen türlerini temizlemesi veya metal iyonu şelatlanmasından kaynaklandığına atfedildiğini bildirmiştir (Lin ve Yen, 1999). Ayrıca, muamele grubunda gözledikleri daha yüksek EPA ve DHA değerlerinin, nisinin antioksidan aktivitesine bağlı olabileceğini, bunun da gökkuşuğu alabalığının kas dokusundaki yüksek lipid oksidasyonunu inhibe etmesinden kaynaklı olduğunu bildirmiştir. Sonuç olarak nisin kullanımının en iyi sonucu olarak, nisin ile muamele edilip vakum paketlenmiş gökkuşuğu alabalığı filetolarının raf ömrünün nisin kullanılmayan gruba göre 12 günden 16 güne kadar uzattığı ve bu durumun biyo-prezervatif olarak kullanılan nisinin bakterisidal ve antioksidan aktivitesinden kaynaklandığı sonucuna varmışlardır.

#### 1.4. Su ürünlerinde nisin kullanımı

1969 yılında Gıda Tarım ve Dünya Sağlık Örgütleri ortak birliktelikleri tarafından nisin gıda katkı maddesi olarak kullanılmasına izin verilmiş olup, Dünya'da elliden fazla ülkede güvenilir ve etkili bir şekilde bu bakteriyosin kullanılmaktadır (Roller ve Lusengo, 1997). Çizelge 1'de 1989'da "Aplin and Barrett Ltd." şirketi tarafından yayınlanan ve bazı ülkelere izin verilen maksimum nisin miktarları ve kullanıldığı gıdalar gösterilmiştir (Delves-Broughton, 1990).

Çizelge 1'den de görüldüğü üzere yasal olarak nisin su ürünlerinde kullanımı, sadece taze balıkları depolamada kullanılan buz ile konserve gıdalarla sınırlı kalmıştır. Ancak gerek taze balık ve diğer su ürünlerinin raf ömrünü uzatmada gerekse çeşitli patojenik mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmede bu bakteriyosinin kullanımı ile ilgili pek çok araştırma yapılmaktadır.

Çizelge 1. Bazı ülkelerde nisinin kullanıldığı gıdalar ve maksimum miktarları (Delves-Broughton, 1990)

Ülkeler	Kullanıldığı Gıda	Maksimum Miktarları
ABD	İşlem görmüş eritme peynirler	10000 IU/g
Avustralya	Peynir, domates püresi-salçası ve konservesi, konser ve çorbalar	Limitsiz
Bulgaristan	Peynir, taze balıkları depolamak için kullanılan buzlar	200 mg/kg
Çekoslovakya	Tahıl ürünleri, mayonez, işlenmiş peynir, hazır ve yarı-hazır gıda ürünleri, konserve sebzeler, bebek gıdaları	500 IU/g
Singapur	Peynir ve konserve gıdalar	Limitsiz

<sup>a</sup>1 µg nisin 40 IU (Uluslararası Birim)=40 RU

Su ürünleri endüstrisindeki temel sorunlardan birisi de *L. monocytogenes* kontaminasyonudur (Rørvik, 2000). Yüksek riskli su ürünleri arasında tütsülenmiş balık (sıcak ve soğuk tütsüleme) gibi hafif korunmuş ürünler (<6% su, tuz, pH 5), hafif tuzlanmış (havyar, deniz suyu ile pişirilmiş karides, soslanmış ringa), ve marine edilmiş ürünler yer almaktadır (Huss ve ark., 2000). Bunların çoğu (1) yüksek oranda işlenmiş, (2) buzdolabı sıcaklıklarında uzatılmış bir raf ömrüne sahiptir, (3) *L. monocytogenes*'in gelişimini destekleyebilir ve (4) daha fazla pişirmeden tüketilir (Huss ve ark., 2000). Füme somon ve füme gökkuşağı alabalığı listeriosis için riskli ürün olarak kabul edilmektedir (Rocourt ve ark., 2000). Kontamine olmuş soğuk tütsülenmiş gökkuşağı alabalığının yanı sıra soğuk ve sıcak füme gökkuşağı alabalığı ürünlerinin de listeriyoz için kontamine kaynağı olduğu düşünülmektedir (Miettinen ve ark., 1999). Füme midye ve çiğ istiridye ile ilişkili listeriosis salgınları da bildirilmiştir (Brett ve ark., 1998). Sonuç olarak, bu alandaki bakteriyosinlerin uygulanması üzerine yapılan araştırmaların çoğu, *L. monocytogenes*'in önlenmesi ve kontrolüne odaklanmıştır.

El-Bedaway ve ark. (1985) çalışmalarında, bir çeşit tatlı su balığı olan *Tilapia nilotica*'nın raf ömrünün uzatılmasında nisinin etkili olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar bu çalışmanın sonucunda, nisin uygulaması ile ilk 3 gün içerisinde mikrobiyal yükteki azalmaya dikkat çekmişler ve soğutulmuş ürünlerin uzak mesafelere transportasyonu sırasında bu uygulamanın etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Taylor ve ark. (1990), üç farklı tür balık üzerinde *Cl. botulinum* Tip E sporlarının toksin üretimine nisinin etkisini 10 ile 26°C depolama sıcaklıklarında araştırmışlardır. Ancak yapılan çalışma dikkate alındığında, nisinin toksin oluşumunu engellemediğini ve bu konu ile ilgili daha geniş ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada ise, az tuzlu uskumru balıklarının (*Scomber australasicus*) fileto işleminde koruyucu olarak nisin üreticisi *L. lactis* CCRC 14016 kültürünün pratikte uygulanabilirliği önerilmiştir (Chen ve ark., 1997).

Nykanen ve ark., (1999) soğuk tütsülenmiş gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) mikrobiyolojik ve duyu kalitesi üzerine laktik asit (448 g/kg) ve nisin içeren ticari peyniraltı suyunun (4000-6000 IU nisin/ml) etkisini inceledikleri çalışmalarında daha güvenli ve iyi kalitede soğuk işlem görmüş balık ürünleri üretimi için laktat ve nisin kombinasyonu kullanımının mümkün olabileceğini belirtmişlerdir.

Behnama ve ark., (2015)'nin yaptığı diğer bir çalışmada nisinin vakum paketlenmiş gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) 16 gün süreyle 4°C'de depolanması sırasında biyokimyasal, mikrobiyal kalite ve raf ömrüne etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, nisin ile muamele edilen balıklar kontrol grubuna göre daha düşük (p<0.05) ve kabul edilebilir biyokimyasal (peroksit değeri, tiyobarbitürik asit indeksi, pH ve toplam uçucu bazik azot) ve mikrobiyolojik (toplam canlı sayısı, psikrotrofik canlı sayımı ve laktik asit bakteri sayısı) etki göstermiştir ve 16 güne kadar daha uzun depolama raf ömrüne sahip olmuştur. Ayrıca, yağ asitleri kompozisyon analizi sonuçlarına göre, nisin varlığının balıkta lipid kalitesini koruduğunu, dolayısıyla nisin ile muamele edilen örneklerin eikosapentaenoik asit (C20:5) ve dokosaheksaenoik asit (C22:6) gibi esansiyel yağ asitlerinin daha yüksek yüzdesini (p>0,05) içerdiğini göstermiştir. Bu çalışma ile vakum paketlenmiş gökkuşağı alabalıklarına nisin uygulaması, balıkların besin kalitesinin artırmış ve raf ömrünü 4°C'de 12 ila 16 gün arasında uzattığı sonucuna varmışlardır.

Behnama ve ark. (2016), yaptıkları diğer bir çalışmada, nisinin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetoalarının 4°C' de 16 gün süre ile depolanması süresince gıda güvenliği ve

raf ömrüne etkisinin biyokimyasal ve mikrobiyolojik analizlerle incelenmesini amaçlamışlardır. Elde edilen sonuçlar, nisin ile muamele edilen örneklerin, depolama boyunca daha düşük ( $p < 0.05$ ) biyokimyasal (peroksit değeri, tiyobarbitürik asit indeksi, pH, serbest yağ asitleri ve toplam uçucu bazik azot) ve mikrobiyolojik (toplam canlı sayısı ve laktik asit bakterisi) bozulmalarına sahip olduğunu göstermiştir. Bu durumun nisinin bakterisidal ve antioksidan aktivitesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, toplam uçucu bazik nitrojen ve toplam canlı sayım değerleri, sırasıyla kontrol ve nisin muamele gruplarında depolamanın 8 ve 12. günlerinde kabul edilebilir sınırı aştığı gözlenmiştir. Bu çalışmanın biyokimyasal ve mikrobiyolojik sonuçlarına göre nisin uygulamasının 4°C'de depolama süresince gökkuşağı alabalıkları filetoalarının kalitesini ve raf ömrünü 4 ila 8 gün arttırdığını göstermiştir.

Taze Atlantik somonunda nisin ile kombine edilmiş modifiye atmosfer paketlemenin koruyucu etkisini inceleyen Han ve ark., (2016), yerel pazardan satın aldıkları çiftlik Atlantik somonlarını %19 CO<sub>2</sub>: % 70 N<sub>2</sub>:% 11 O<sub>2</sub>, % 38 CO<sub>2</sub>:% 51 N<sub>2</sub>:% 11 O<sub>2</sub> ve atmosferik hava koşulları (nisinsiz ve 400 IU/g nisin konsantrasyonunda) altında paketlenerek toplam 6 uygulama yapmışlardır. Mikrobiyolojik (aerobik canlı sayısı, psikrotrofik bakteriler ve laktik asit bakterileri) ve toplam uçucu bazik nitrojen analizleri depolamanın 0., 2., 4., 7. ve 10. günlerinde gerçekleştirilmiştir. Paket üst katman boşluğu ve duyuşal değerlendirmeleri de 0., 2. ve 4. günlerde yapılmıştır. CO<sub>2</sub> varlığı, her üç tip bakteriyi etkin bir şekilde inhibe ederken, nisin laktik asit bakterileri üzerinde daha az etki ile aerobik mikroorganizmaların büyümesini önemli ölçüde inhibe etmiştir. TVB-N analizi, CO<sub>2</sub>'nin Atlantik somonunun bozulmasını geciktirdiğini göstermiş, nisin ise Atlantik somonu raf ömrü üzerinde daha az ama ölçülebilir bir etkiye sahip olmuştur. Duyusal test sonuçlarına göre ürünün görünüm, renk ve kokusunda farklılıklar gözlenmemiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre araştırmacılar, modifiye atmosfer paketleme ve nisin kombine uygulamalarının, geleneksel koruma yöntemleriyle kıyaslandığında Atlantik somonunun bozulmasını sınırlamak için etkili bir yöntem olarak kullanılma potansiyeli olduğunu bildirmişlerdir.

Ghomi ve ark., (2011)'nin yaptıkları çalışmada; sodyum asetat (% 0.1 ve %3), nisin (% 0, % 0.1 ve % 0,2) ve bunların kombinasyonlarına daldırma yöntemiyle uygulanan 8 günlük buzdolabı depolaması sırasında ot sazanları (*Ctenopharyngodon idella*) dilimlerinde meydana getirdikleri mikrobiyolojik kalite, lipit oksidasyonu ve yağ asidi bileşimi üzerine etkileri incelenmiştir. Hem nisin hem de sodyum asetat, toplam mezofil ve laktik asit bakterilerinin çoğalmasında doza bağlı olarak inhibe etmiştir, ancak kombinasyon uygulamaları, mikrobiyal çoğalmanın önlenmesinde önlemede daha yüksek etki göstermiştir. Sodyum asetatın yüksek konsantrasyonları (% 3), lipit oksidasyonunu önlemede daha etkili olmuştur. Depolama süresinin sonunda, n3 yağ asitleri, EPA (C20: 5n-3) ve DHA (C22: 6n-3) içeriği ve daha düşük n6/n3 oranı % 3 sodyum asetat + % 0.1 ve % 0.2'lik nisin muamele gruplarında gözlenmiştir. Sonuç olarak, nisin sodyum asetat ile kombine kullanıldığında, buzdolabında depolama sırasında dilimlenmiş sazan etinin kalitesini korumada etkili koruyucu maddeler olarak kullanılabilceğini rapor etmişlerdir.

Raju ve ark. (2003), üç farklı nisin konsantrasyonunun (12.5, 25 ve 50 ppm), balık sosilerinin ortam (28±2 °C) ve buzdolabı (6±2 °C) sıcaklıklarında depolanması süresince ürün kalitesine olan etkilerini incelemişlerdir. Jel dayanıklılığı, su içeriği, toplam uçucu bazik azotu, toplam canlı sayısı ve aerobik spor sayıları, depolama sıcaklıkları ve kullanılan nisin konsantrasyonlarından etkilenmiştir. 50 ppm nisin ile muamele edilen balık sosisi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortam sıcaklığında 20-22 gün olarak kabul edilebilir raf ömrüne sahip olmuştur. Bu durumda 2 günlük bir raf ömrü uzaması söz konusu olmuştur. Soğukta depolanan sosilerin kalitesi ise kontrol grubunda 30 gün ve 50 ppm nisin ile muamele edilmiş örneklerde 150 güne kadar değişkenlik göstermiştir. Nisin rezidüsü, soğukta depolanan örneklerde yavaşça azalırken, ortam sıcaklığında depolanan balık sosislerinde azalma hızlı olmuştur. 50 ppm konsantrasyonlu nisinin hem ortam sıcaklığında hem de soğukta depolanan örneklerde jel dayanıklılığı ve genel kabul edilebilirlik puanları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir etki gösterdiği ( $p < 0.05$ ) bildirilmiştir.

Ceylan (2014), nisin (% 0.1) ve ışınlama (3 kGy) uygulamalarının birlikte kullanılmasının soğukta depolanan (2±1 °C) derisi alınarak fileto hale getirilen levreğin raf ömrüne etkisini incelemiştir. Çalışmada kullandığı tüm örnekler 100'er gram olacak şekilde vakum paket uygulaması ile paketlenmiştir (K, kontrol; N, nisin; I, ışın; NI, nisin+ışın grupları). 25 günlük depolama süresi boyunca duyuşal, fiziksel (pH, renk), kimyasal (TVB-N, TMA-N ve TBA) ve mikrobiyolojik (toplam mezofilik aerobik bakteri, toplam psikrofilik bakteri ve toplam maya-küf sayımları) analizler

gerçekleştirilmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre; K grubunun raf ömrü 7 gün iken N grubunun 11 gün, I grubunun 15 gün, NI grubunun ise 17 gün bulunmuştur. Işınlama teknolojisi mikrobiyal yükü düşürmekte, nisin ile kombine edildiğinde ise; duyusal kaliteyi artırmakta ve maya-küf gelişimini inhibe etmede diğer gruplara göre daha başarılı olmaktadır. Ancak nisin ve ışınlama uygulamalarının maliyetleri bir arada düşünüldüğünde sağlanan 2 günlük raf ömrü artışının ne kadar faydalı olduğu sorusu öne çıkmaktadır. Bu anlamda ışınlama ve nisin uygulamalarının tekli kullanımları tavsiye edilmekte olup, kombine kullanımlarının çok etkin bir raf ömrü artışı sağlamadığı tespit edilmiştir.

Lu ve ark. (2010), kuzey yılanbaşı balığı (*Channa argus*) filetolarının kalitesini buzdolabı sıcaklığında ( $4\pm 1$  °C) korumak için, alginat-kalsiyum kaplamada tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ve nisin kullanmıştır. Kuzey yılanbaşı balığı filetoları muamele uygulaması yapılmayan kontrol grubu (CK) ile muamele grupları (alginat-kalsiyum kaplama grubu (Y0), 10 µL/mL tarçın içeren alginat-kalsiyum kaplama grubu (Y1), 2000 IU/mL nisin ve 150 µL/mL etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) içeren alginat-kalsiyum kaplama grubu (Y2) ve 10 µL/mL tarçın ve 2000 IU/mL nisin ve 150 µg/mL EDTA içeren alginat-kalsiyum kaplama grubu (Y3) olarak gruplara ayrılmışlardır. Y1 ve Y3 muamele gruplarının kuzey yılanbaşı balığı bakteriyel büyümenin inhibe edilmesinde, pH, toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) ve tiyobarbitürik asit (TBA) değerlerinin korunmasında CK, Y0 ve Y2 gruplarından daha iyi etkileri olduğu belirlenmiştir. Tüm muamelelerdeki balık filetolarının renk parlaklığı ( $L^*$ ) değerleri CK' dan daha yüksek olmuştur. Alginat-kalsiyum kaplama işlemlerinde tarçın, depolama sırasında kuzey yılanbaşı balığı filetolarının kalitesini koruyabilir, ancak Y1 ve Y3 gruplarında balık filetolarının renkleri, tarçın renginden dolayı belirgin bir şekilde değişmiştir.

Langroudi ve ark. (2011), yapmış oldukları bu çalışmada, sodyum asetat (% 0, % 1 ve % 3), nisin (% 0, % 0.1 ve % 0.2) ve bunların kombinasyonlarına daldırılan ot sazani (*Ctenopharyngodon idella*) filetolarının mikrobiyolojik kalitesi ve lipit oksidasyonunu 16 günlük soğukta depolama süresince değerlendirmişlerdir. Nisinin antilisteriyal etkisini, artan sodyum asetat konsantrasyonu ile arttırılmıştır. Sodyum asetat konsantrasyonlarının arttırılması ile mezofilik bakterileri sayıları daha düşük olmasına rağmen nisin ile ilgili olarak % 0.1 nisin uygulanarak daha iyi sonuçlar elde edildiğini bildirmişlerdir. Kombinasyon uygulamasında daha fazla mezofil bakteri inhibisyonu gözlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda sodyum asetat ve nisin kullanıldığında lactobacillus sayısı daha düşük olarak tespit edilmiştir. Hem nisin hem de sodyum asetat ile muamele edilen örneklerde peroksit, TBA ve toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) değerleri daha düşük olmuştur ve kombinasyon uygulamalarında daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir.

Nisinin farklı konsantrasyonları ile kombine edilmiş kitosanın 4°C'de depolanan sarı kurbağa balığı (*Pseudosciaena crocea*) için kalite üzerindeki etkileri 8 gün boyunca Hui ve ark. (2016) tarafından değerlendirilmiştir. Çalışmada depolama süresi boyunca duyusal skor ve uçucu bozulma ürünlerindeki değişiklikler, toplam canlı sayıları ve ağırlık kaybı, renk, pH, toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) ve K-değeri gibi fizyo-kimyasal indeksler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, nisin ile muamele edilen örneklerin, sadece kitosan uygulanan örneklerden daha iyi kalitede olduğunu göstermiştir. % 1 kitosan ile % 0.6 nisin kombinasyonunun nem kaybı kontrolü, uçucu bozucu engelleme, TVB-N indirgeme, toplam canlı sayısı ve renk ve duyusal kabul edilebilirlik koruması gibi optimal kalite artışına neden olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle araştırmacılar, nisin ile kombine edilmiş kitosanın, sarı kurbağa balığının raf ömrü uzamasında gelecek vaat eden uygulamalar arasında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Tek başına laktik asit ve bunun nisin ile kombine uygulanması, soğukta depolanan karideslerde doğal olarak oluşan mikroorganizmaların popülasyonunu azaltmak için Shirazinejad ve ark., (2010) tarafından değerlendirilmiştir. Taze karidesler, yalnız başına laktik asitin % 0, % 1 ve % 2 (v/v) konsantrasyonlarına ve 0.04 (g /L/kg) nisin çözeltisi ile kombine uygulanması içine daldırılarak 10 dakika bekletilmiştir. 4°C'de depolama sırasında karideslerin aerobik bakteri, psikrotrofik sayımı, *Pseudomonas* spp. popülasyonu, H<sub>2</sub>S üreten bakteri ve laktik asit bakterilerinin toplam sayısı belirlenmiştir. Toplam plak sayımı, sırasıyla 7 ve 14 günlük depolama sonrası, muamele görmemiş karideslerde 2.91 ve 2.63 log kob/g olarak bulunurken 0.04 (g/L/kg) nisin ile kombine edilmiş % 2 laktik asit ile muamele edilmiş karideslerden daha düşük olmuştur. Her iki laktik asit konsantrasyonu, depolama sırasında karidesin ilk bozulma florası olan *Pseudomonas* sayımlarında önemli bir azalma olduğunu gösterirken, % 2 laktik asit ile nisin kombinasyonu en yüksek azalmayı göstermiştir. Ayrıca H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin, depolama sırasında nisin ile kombine edilmiş yüksek konsantrasyondaki laktik aside daha duyarlı olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma, laktik asit ve nisinin tek başına kullanılmalarından

ziyade kombine uygulanmasının, aerobik bakterilerin toplam canlı sayısının azaltılmasında ve karideslerin raf ömrünün uzatılmasında tercih edileceğini göstermiştir.

## 2. Sonuç

Sonuç olarak farklı gıdaların bozulma florasına karşı nisin koruyucu etkisi belirlenmiş olsa da maksimum koruyucu etki elde etmek için farklı gıdalar için nisin uygulama seviyeleri standardizasyonuna ihtiyaç vardır (Eapen ve ark., 1983). Nisin uygulama düzeyini standardize ederken gıda tutarlılığı, pH, işleme döngüsü, depolama süresi ve sıcaklığı, başlangıç bakteriyolojik durumu ve nisin kalıntı düzeyi gibi etmenler dikkat edilmesi gereken faktörlerdir.

## Kaynakça

- Al-Holy, M., Ruiter, J., Lin, M., Kang, D. H., & Rasco, B. (2004). Inactivation of *Listeria innocua* in nisin-treated salmon (*Oncorhynchus keta*) and sturgeon (*Acipenser transmontanus*) caviar heated by radio frequency. *Journal of Food Protection*, 67, 1848–1854.
- Al-Holy, M., Lin, M., & Rasco, B. (2005). Destruction of *Listeria monocytogenes* in sturgeon (*Acipenser transmontanus*) caviar by a combination of nisin with chemical antimicrobials or moderate heat. *Journal of Food Protection*, 68, 512–520.
- Alkhatib, Z., Abts, A., Mavaro, A., Schmitt, L., & Smits, S.H. (2012). Lantibiotics: how do producers become self-protected? *Journal of Biotechnology*, 159, 145–154.
- Anonim (2020), <https://en.wikipedia.org/wiki/Nisin>.
- Behnama, S., Anvari, M., Rezaei, M., Soltanian, S., & Safari, R. (2015). Effect of nisin as a biopreservative agent on quality and shelf life of vacuum packaged rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored at 4°C. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2184–2192.
- Behnama, S., Anvari, M., Rezaeia, M., & Soltanian, S. (2016). Effect of nisin on shelf-life extension of filleted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food and Allied Sciences*, 2(1), 1-7.
- Brett, M. S. Y., Short, P., & McLauchlin, J. (1998). A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels. *International Journal of Food Microbiology*, 43, 223–229.
- Budu-Amoako, E., Ablett, R.F., Harris, J., & Delves-Broughton, J. (1999). Combined effect of nisin and moderate heat on destruction of *Listeria monocytogenes* in cold-pack lobster meat. *Journal of Food Protection*, 62(1), 46-50.
- Cabo, M. L., Pastoriza, L., Berna rdez, M., & Herrera, J. J. R. (2001). Effectiveness of CO<sub>2</sub> and nisaplin on increasing shelf-life of fresh pizza. *Food Microbiology*, 18, 489–498.
- Campos, C.A., Gerschensin, L.N., & Flores, S.K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 849–875.
- Ceylan, Z. (2014). *Nisin ve ışınlama uygulamalarının birlikte kullanılmasının soğukta depolanan balığın raf ömrüne etkisi.* (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.
- Chen, H., Chen, M., & Chang, Y. (1997). Processing of low-salted mackerel fillets using biopreservative, p. 297-306. In: M. Üçüncü, U. Güvenç, M. Serdaroğlu, M. Çetin and Y. Göksungur [eds], The Sixth International Congress on Food Industry ‘New Aspects on Food Processing’. E.Ü. Basımevi, Bornova, İzmir.
- De Vuyst, L., & Vandamme, E. J. (1994). Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis*: Properties, biosynthesis, fermentation and applications, In: De Vuyst, L., Vandamme, E.J., Bacteriocins of lactic acid bacteria. Chapman & Hall, Glasgow, 165-167.
- Delves-Broughton, J. (1990). Nisin and its uses as a food preservative. *Food Technology*. November: 100, 102, 104, 106, 111-112, 117.
- Delves-Broughton, J., Blackburn, P., Evans, R. J., & Hugenholtz, J. (1996). Applications of the bacteriocin, nisin. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 69, 193–202.
- Eapen, K. C., Sankaran, R., & Vijayaraghavan, P. K. (1983). The present status on the use of nisin in processed foods. *Journal of Food Science and Technology*, 20, 231–240.

- El-Bedaway, A. El-F., Zaki, M. S., El- Sherbiney, A. M., & Khalil, A. H. (1985). The effect of certain antibiotics on boliti fish (*Tilapia nilotica*) preservation. *Die Nahrung*, 29(3), 303-308.
- Elotmani, F., & Assobhei, O. (2004). In vitro inhibition of microbial flora of fish by nisin and lactoperoxidase system. *Letters in Applied Microbiology*, 38(1), 60-65.
- European Economic Community (EEC) (1983). EEC Commission Directive 83/463/EEC.
- FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, (1969). *Specifications for Identity and Purity of Some Antibiotics*. Twelfth Report. WHO Technical Report Series, No. 430.
- FDA, (1988). Federal Register, Nisin preparation: affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient. *21 CFR Part 184. Fed Reg 53*, 11247-11251
- FDA, (2001). US *Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services*. Agency Response Letter GRAS Notice N. GRN 000065.
- Fernandes, C. F., & Shahani, K. M. (1989). *Modulation of Antibiosis by Lactobacilli and Yogurt and Its Healthful and Beneficial Significance*. In *Yogurt: Nutritional and health properties*; Chandan, R. C., Ed.; National Yogurt Association: McLean, VA.
- Galvez, A., López, R. L., Abriouel, H., Valdivia, E., & Omar, N. B. (2008). Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(2), 125-152.
- Ganzle, M. K. (2004). Biological activity, mode of action, and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(3), 326-332.
- Garcerá, M. J., Elferink, M. G., Driessen, A. J., & Konings, W. N. (1993). In vitro pore-forming activity of the lantibiotic nisin. Role of proton motive force and lipid composition. *European Journal of Biochemistry*, 212(2), 417-22.
- Ghomi, M. R., Nikoo, M., Heshmatipour, Z., Jannati, A. A., Ovissipour, M., Benjakul, S., Hashemi, M., Faghani Langroudi, H., Hasandoost, M., & Jadiddokhan, D. (2011). Effect of sodium acetate and nisin on microbiological and chemical changes of cultured grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*, 31, 169-175.
- Gözde, K., & Yasin, T. (2012). Nisin Z-Producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* GY132 Isolated from Boza. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37, 1-2.
- Gram, L., & Huss, H. H. (2000). Fresh and processed fish and shellfish. In *the Microbiological Safety and Quality of Foods*, 472-506. Lund, B. M., Baird-Parker, A. C., and Gould, G. W., eds., Chapman and Hall, London.
- Gram, L., & Dalgaard, P. (2002). Fish spoilage bacteria—problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 262-266.
- Gravesen, A., Sorensen, K., Aarestrup, F. M., & Knochel, S. (2001). Spontaneous nisin-resistant *Listeria monocytogenes* mutants with increased expression of a putative penicillin-binding protein and their sensitivity to various antibiotics. *Microbial Drug Resistance*, 7, 127-135.
- Han, D., Han, I., & Dawson, P. (2016). Combining modified atmosphere packaging and nisin to preserve Atlantic salmon. *Journal of Food Research*, 6(1), 22.
- Hereu, A., Bover-Cid, S., Garriga, M., & Aymerich, T. (2012). High hydrostatic pressure and biopreservation of dry-cured ham to meet the food safety objectives for *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 154, 107-112.
- Hirsch, A., Grinsted, E., Ho, P. H., Chapman, H. R., & Mattick, A. T. (1951). A note on the inhibition of an anaerobic sporeformer in Swiss-type cheese by a nisin-producing *Streptococcus*. *Journal of Dairy Research*, 18, 205-206.
- Hui, G., Liu, W., Feng, H., Li, J., & Gao, Y. (2016). Effects of chitosan combined with nisin treatment on storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Food Chemistry*, 203, 276-282.
- Hurst, A. (1983). Nisin and other inhibitory substances from lactic acid bacteria, In: Branen AL and Davidson PM, *Antimicrobials in foods*. Marcel Dekker, New York, 327-351.
- Huss, H. H., Jørgensen, L. V., & Vogel, B. F. (2000). Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 267-274.
- Islam, MR, Nagao, J, Zendo, T, & Sonomoto, K. (2012). Antimicrobial mechanism of lantibiotics. *Biochemical Society Transactions*, 40, 1528-1533.

- Kaur, G., Malik, R. K., Mishra, S. K., Singh, T.P., Bhardwaj, A., Singroha, G., Vij, S., & Kumar, N. (2011). Nisin and class IIa bacteriocin resistance among *Listeria* and other foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 17, 197–205.
- Langroudi, H. F., Soltani, M., Kamali, A., Ghomi, M. R., Hoseini, S. E., Benjakul, S., & Heshmatipour, Z. (2011). Effect of *Listeria monocytogenes* inoculation, sodium acetate and nisin on microbiological and chemical quality of grass carp *Ctenopharyngodon idella* during refrigeration storage. *African Journal of Biotechnology*, 10(42), 8484-8490.
- Lin, M. Y., & Yen, C. L. (1999). Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1460-1466.
- Lu, F., Ding, Y., Ye, X., & Liu, D. (2010). Cinnamon and nisin in alginate–calcium coating maintain quality of fresh northern snakehead fish fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 43(9), 1331-1335.
- Malheiros, P., Daroit, D.J., & Brandelli, A. (2010). Food applications of liposome-encapsulated antimicrobial peptides. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 284–292.
- Mattick, A. T. R., & Hirsch, A. (1947). Further observations on an inhibitory substance (nisin) from *Lactic streptococci*. *Lancet*, 250, 5-8.
- Metchnikoff, E. (1908). *The prolongation of Life*; G. P. Putnam's Sons: New York.
- Miettinen, M. K., Siitonen, A., Heiskanen, P., Haajanen, H., Bjorkroth, K. J., & Korkeala, H. J. (1999). Molecular epidemiology of an out- break of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* in cold-smoked rainbow trout. *Journal of Clinical Microbiology*, 37, 2358–2360.
- Mirshekari, S., Safari, R., Adel, M., Motalebi Moghanjoghi, A. A., Khalili, E., & Bonyadian, M. (2016). Antimicrobial and antioxidant effects of nisin Z and sodium benzoate in vacuum packed Caspian kutum (*Rutilus frisii*) fillet stored at 4° C. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(2), 789-801.
- Muruges, S., Mohanasrinivasam, V., Subathrs Devi, C., Mahesh, N., & Manivannam, S. (2003). Bio-preservation using Bacteriocin (NISIN) produced from *Lactococcus lactis* subsp *lactis*. *Indian Journal of Applied Microbiology*, 3(1), 23-26.
- Nykanen, A., Lapvetelainen, A., Hietanen, R., & Kallio, H. (1999). Applicability of lactic acid and nisin to improve the microbiological quality of cold-smoked rainbow trout. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 208, 116-120.
- Raju, C. V., Shamasundar, B. A., & Udupa, K. S. (2003). The use of nisin as a preservative in fish sausage stored at ambient (28±2°C) and refrigerated (6±2°C) temperatures. *International Journal of Food Science and Technology*, 38(2), 171-185.
- Ramu, R., Shirahatti, P. S., Devi, A. T., & Prasad, A. (2015). Bacteriocins and their applications in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*,
- Rocourt, J., Jacquet, C., & Reilly, A. (2000). Epidemiology of human listeriosis and seafoods. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 197–209.
- Rodriguez, E., Carina, G., & Magela, L. (1999). The structural gene for microcin H47 encodes a peptide precursor with antibiotic activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(9), 2176–2182.
- Rogers, L. A. (1928). The inhibiting effect of *Streptococcus lactis* on *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Bacteriology*, 16, 321–325.
- Roller, S., & Lusengo, J. (1997). Developments in natural food preservatives. *Agro-Food- Industry Hi-Tech*. July/August, 22-25.
- Rørvik, L. M. (2000). *Listeria monocytogenes* in the smoked salmon industry. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 183–190.
- Ruhr, E., & Sahl, H. G. (1985). Mode of action of the peptide antibiotic nisin and influence on the membrane potential of whole cells and on cytoplasmic and artificial membrane vesicles. *Journal of Bacteriology*, 27(5), 841-845.
- Sallam, K. I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18, 566–575.
- Settanni, L., & Corsetti, A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 121, 123–138.



- Shirazinejad, A. R., Noryati, I., Rosma, A., & Darah, I. (2010). Inhibitory effect of lactic acid and nisin on bacterial spoilage of chilled shrimp. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 41, 163-167.
- Taylor, L. Y., Cann, D. D., & Welch, B. J. (1990). Antibotulinal properties of nisin in fresh fish packaged in an atmosphere of carbon dioxide. *Journal of Food Protection*, 53(11), 953-957.
- Twomey, D., Ross, R. P., Ryan, M., Meaney, B., & Hill, C. (2002). Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: Structure, function and applications. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82, 165– 185.
- Ucar, Y., Özogul, Y., Özogul, F., Durmuş, M., & Köşker, A. R. (2020). Effect of nisin on the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fillets stored at chilled temperature ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ). *Aquaculture International*, 28, 851–863.
- Van, B. M. J., & Stiles, M. E. (2000). Non lantibiotics antibacterial peptides from lactic acid bacteria. *Natural Product Reports*, 17, 323–335.

## YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TARIM BİLİMLERİ DERGİSİ YAYIN İLKELERİ\*

1. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 1995 yılında yayın hayatına başlamış bir bilimsel araştırma dergisidir Dergide, tarım bilimleri (Bahçe Bitkileri, Bitki Koruma, Biyosistem Mühendisliği, Gıda Mühendisliği, Peyzaj Mimarlığı, Su Ürünleri Mühendisliği, Tarla Bitkileri, Tarımsal Biyoteknoloji, Tarım Ekonomisi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme, Zootečni) alanında düzenli olarak Mart, Haziran, Eylül ve Aralık aylarında yılda dört sayı yayımlanan uluslararası hakemli bir dergidir.
2. Dergimizde Türkçe ve İngilizce yazılmış Araştırma Makalesi, Teknik Not ve Derlemeler yayımlanır.
3. Yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin herhangi bir yerde yayımlanmamış veya yayımlanmak üzere herhangi bir dergiye gönderilmemiş olması zorunludur. On yıldan eski çalışmalar değerlendirilmeye alınmaz.
4. Dergiye yayımlanmak üzere gönderilen bir araştırma makalesi; Başlık, Türkçe ve İngilizce Özet, Giriş, Materyal ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Sonuç ve Kaynaklar ana başlıkları altında hazırlanmalıdır. Bulgular ve Tartışma kısmı birlikte de yazılabilir.
5. Araştırma Makalesi 2500-5000, Derleme 4.000-7000 ve Teknik Not 1000-2500 kelime sayısı sınırları içerisinde olmalıdır.
6. Derlemeler bilimsel dergilerde yayımlanmış bilimsel yazıların, çalışmaların veya güncel gelişmelerin belirtilen konuda yoğun çalışmaları bulunan deneyimli yazarlarca (sorumlu yazarın derleme konusu ile ilgili Uluslararası hakemli dergilerde en az 5 özgün makaleye sahip olması şartı aranır) yapılan bir sentezi, yorumu ve durum değerlendirmesi şeklinde olmalıdır. Her sayıda basılan makale sayısının en fazla % 10'u kadar derlemeye yer verilir.
7. Araştırma makalesi olarak dergimize gönderilen çalışmalar lisansüstü tezlerden üretilmiş ise bu durum ilk sayfada dipnot olarak verilmelidir.
8. Dergimiz **Açık Kaynak Yayın Politikası** benimsemektedir.
9. Dergimizde yayımlanacak makalelerin bilimsel etik kuralları içerisinde olması gerekmektedir. Makaleler, uluslararası kabul görmüş bilim etik kurallarına uygun olarak hazırlanmalıdır.
10. Etik Kurul Raporu gerekli hallerde (doğrudan/dolaylı olarak hayvan ile ilişkili olan çalışmalar) raporun bir kopyası metin ile birlikte gönderilmelidir.
11. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisine gönderilen makaleler intihal raporu iThenticate yazılımı aracılığıyla kontrol edilir. Makalenin Benzerlik İndeksi (SI) < % 20; Her bir benzerlik oranı (alıntı yapılan her bir kaynak) ise ≤ % 5 olmalıdır. Benzerlik indeksi belirtilen düzeylerin üzerinde ise ilgili yazar/yazarlara makale iade edilir (Bir makale için en fazla 3 benzerlik taraması yapılır). Bu konuda yeterli düzeltmelerin 10 gün içerisinde yapılmaması halinde makale reddedilir. İntihal, makalenin yayımlanmasından sonra ispatlanırsa, o makale derhal web sitesinden çekilecek ve kaldırılacaktır ve ilgili yazar/yazarlar, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisine beş yıl süre ile makale gönderemeyeceklerdir.
12. Makalede yer alan tüm yazarlar, çalışmalarının yayın haklarını Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi'ne verdiklerine dair Telif Hakları Formu'nu imzalamalıdır. Telif Hakkı Formu yazarlar tarafından gönderilmediği sürece çalışma değerlendirmeye alınmaz.
13. Değerlendirme süreci tamamlanan makaleler, geliş tarihi dikkate alınarak yayımlanır. Makaleler yayına hazır hale geldikleri andan itibaren yayımlanması planlanan ilk sayıya eklenirler; ancak tüm makaleler tamamlandıktan sonra ilgili sayı toplu halde yayımlanır.
14. Mizanpaj çalışması sırasında yazar(lar)a gönderilecek olan kontrol ve düzeltme amaçlı gönderilere (matbaa provası), en geç 15 gün içerisinde cevap verilmelidir. Belirtilen sürede cevap vermeyen yazar(lar)ın makaleleri daha sonraki sayıda değerlendirilmek üzere ötelenir.
15. Basımına karar verilen eserde ekleme ve çıkarma yapılamaz. Bir yazarın aynı sayıda sorumlu yazar olarak bir (1), sorumlu yazar olmadan da bir (1) eseri olmak üzere en fazla iki eseri basılabilir. Yayımlanan eserin tüm sorumluluğu yazar(lar)ına aittir.
16. Basım masrafları olarak eser başına 300 TL ya da 60 \$ alınır.

### ESER BAŞVURUSU

#### Makale Hazırlama

1. Dergimizde yayımlanmak üzere gönderilen eserler dergi yazım kurallarına göre hazırlanmalıdır. Yazım ilkelerine uygun olmayan çalışmalar hakem değerlendirme sürecine alınmadan yazarlara iade edilir. **YAZIM KURALLARI VE İLGİLİ ŞABLON için "https://dergipark.org.tr/yyutbd/writing-rules"** web adresine gidiniz.
2. Dergimizde yazım dili Türkçe ve/veya İngilizce olup makale metni anlaşılabilir, yalın ve akıcı bir tarzda ilgili alandaki teknik ifadelerle kaleme alınmalıdır. Gereksiz ve çok bilinen bilgilerden ve gereksiz kaynaklardan kaçınılmalıdır ve daha önce yayımlanmış veri, formül ve sonuçlara atıf yapılarak alıntı yapılmalıdır. Zorunlu ya da istisnai haller dışında 15 yıldan eski kaynak kullanılmamalıdır. Kaynak sayısı her 1000 kelime için 6 adetten fazla olmamalıdır.
3. Kaynaklar bölümündeki dergi isim kısaltmaları "**Web of Science Kısaltmaları**" a uygun düzenlenmelidir. Makaleye özgü veya ilgili alanda kullanılan kısaltmalar, ilk geçen yerde parantezde belirtilmelidir. Tüm makalelerde SI (International System of Units) ölçü birimleri ve ondalık kesir olarak nokta kullanılmalıdır (1,25 yerine 1.25 gibi). Binler basamağını ayırmak için boşluk kullanılmalıdır (100000 yerine 100 000).
4. Baskı için, resimlerin kaliteli kopyaları (JPG veya TIFF formatında 300 dpi) ek dosya olarak gönderilmelidir.
5. Dergi yazım kuralları aynı zamanda baskı formatıdır. Bu nedenle yazım kurallarının yazarlarca dikkatle uygulanması gerekmektedir. Yazım kurallarına uygun olmayan makaleler, yazarlara geri gönderilecektir.

**PUBLICATION GUIDLINES OF  
YUZUNCU YIL UNIVERSITY JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES\***

1. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences* is a scientific research journal that has been published in 1995. Journal of Agricultural Sciences (Agricultural Biotechnology, Agricultural Economics, Animal Science, Biosystems Engineering, Field Crops, Fisheries Engineering, Food Engineering, Horticulture, Landscape Architecture, Plant Protection, Soil Science and Plant Nutrition) is a refereed international journal published four times a year in March, June, September and December.
2. Research articles, technical notes and reviews written in Turkish and English are published in our journal.
3. Articles submitted for publication must not be published elsewhere or sent to any journal for publication. Older studies more than ten years are not accepted to evaluate.
4. A research paper submitted to the journal for publication have following sections; Turkish and English Abstract, Introduction, Material and Method, Results, Discussion and Conclusion and References. Results and Discussions can either be combined into one section.
5. Research Article 2500-5000 words, Reviews 4.000-7000 words and Technical Note must be within the limits of 1000-2500 words.
6. Reviews should include a synthesis, interpretation, and evaluation of previous scientific studies and current developments by experienced authors in the field of research area (the corresponding author of the review should have at least 5 research articles in international refereed journals). Reviews published up to 10% of the number of articles published in each issue.
7. If the research paper is summarized from graduate theses, this should be given as a footnote on the first page.
8. Our journal adopts the **Open Source Publication Policy**.
9. The articles published in our journal must comply with the scientific ethics rules. Manuscripts should be prepared in accordance with internationally accepted code of ethics.
10. A copy of the report should be submitted with the manuscript in the studies where the Ethics Committee Report is required (studies related directly / indirectly to the animal).
11. The articles submitted to *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences* are controlled through the iThenticate software. Similarity Index (SI) of the article should be <20%; Each similarity ratio should be  $\leq 5\%$ . If the similarity index is above the acceptable limits, the article will be returned to the author(s) (no more than 3 plagiarism scans are performed for an article). If revisions are not made within 10 days, the article will be rejected. If the plagiarism is proved after the publication of the article, that article will be withdrawn and removed from the website immediately and the author(s) will not be able to submit a paper for a period of five years to the *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*.
12. All authors should sign the Copyright Form for the publication rights of their article to the *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*. The article will not be taken into consideration unless the Copyright Form is submitted by the authors
- 13 The articles whose evaluation process is completed are published considering the date of submission. The articles are added to the first issue scheduled to be published as soon as they are ready for publication. The volume is published, after all articles will be published in the same volume are completed.
14. Response to control and correction postings to be sent to the author (s) during the page-layout the study should be replied within 15 days at the latest. The articles of the author (s) who are not responding within the specified period of time shall be forwarded for further volumes.
15. No changes are allowed in the study that is decided to be published. An author can publish a maximum of two study as a corresponding author, one without a corresponding author. The responsibility of the published study belongs to the author (s).
16. The publication fee is 300 TRY or 60 \$ per article.

**MANUSCRIPT SUBMISSION**

**Manuscript preparation**

1. Articles submitted for publication in our journal should be prepared according to the journal writing rules. The study which are not in accordance with the writing rules will be returned to the authors and will not be accepted for peer-review. **WRITING RULES AND TEMPLATE** are at this web adress "<https://dergipark.org.tr/yvutbd/writing-rules>".
2. In our journal, the writing language is Turkish and / or English. A good quality of scientific writing is required. The research must be understandable by a general scientific readership and by specialists. The research problem is identified, existing knowledge relevant to the problem is analyzed, the hypothesis is clear. Sentences are simple, short and direct, the style is concise and precise. Unnecessary and well-known info and unnecessary references should be avoided. Previously published data should be cited with reference to the formula and results. No reference of over 15 years should be used except for compulsory or exceptional cases. **The number of references should not be more than 6 per 1000 words.**
3. Journal name abbreviations in the reference section should be arranged in accordance with "**Web of Science Abbreviations**". Abbreviations used in the article should be written in full and provide in the parenthesis in the first mention. In all articles, the SI (International System of Units) units of measure and the decimal point must be used as a decimal fraction (1.25 instead of 1.25). Blank should be used to separate the thousands (100 000 instead of 100000)
4. For printing, quality copies of pictures (300 dpi in JPG or TIFF format) should be sent as an additional file.
5. Journal writing rules are also print format. Therefore, the rules of writing should be prepared carefully by the authors. Articles that do not comply with the writing rules will be sent back to the authors.

## MAKALE GÖNDERİMİ ve TELİF HAKKI DEVİR SÖZLEŞMESİ

Yazarlar tarafından Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisine iletilen “*Makale Gönderimi ve Telif Hakkı Devir Sözleşmesi*”, bu çalışma basıma kabul edildikten sonra yazar(lar)ın her türlü yayınlama yetkisinin YYÜ Tarım Bilimleri Dergisine devredildiğini açıkça ve yazılı olarak ifade etmektedir. Dolayısı ile sözleşme niteliğindeki aşağıdaki form, dergiye gönderilen her makale için doldurulmalı ve tüm yazarlar tarafından imzalanmalıdır.

Makale Başlığı: .....

olan makale, “Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri” dergisinde basılmak üzere gönderilmiştir.

Bu makalenin YYÜ, Tarım Bilimleri dergisi “Yazım Kuralları”na uygun olarak hazırlandığını onaylarız. Bu makale orijinal olduğunu, son haliyle basılı ve elektronik olarak daha önce yayınlanmadığını ve başka bir dergide yayınlanmak üzere değerlendirme aşamasında olmadığını taahhüt ederiz. Bildiğim(iz) kadarıyla bu makale herhangi bir mevcut telif hakkı, diğer üçüncü taraf hak, iftira niteliğinde, müstahcen veya başka yasadışı nitelikte herhangi bir materyal içermez; bu makale başkalarının haklarını ihlal etmez.

Makale “Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri ” dergisinde basıma kabul edildikten sonra, yazar(lar) olarak; makale ile ilgili tüm hakları, “telif hakkı devir” yasaları uyarınca, YYÜ-Ziraat Fakültesine devretmeyi kabul ediyoruz. Ancak, bu makalenin YYÜ, Tarım Bilimleri dergisi tarafından yayımlandığına dair referans verilmesi şartıyla aşağıdaki haklarımız saklıdır:

- Basılmış makalenin tamamı veya bir bölümü yazar(lar) tarafından çoğaltılarak ders materyali olarak kullanılabilir.
- Basılmış makalenin tamamı veya bir bölümü yazar(lar) tarafından yazılan bir derleme veya ders kitabında yeniden kullanılabilir.
- Basılmış makalenin tamamı veya bir bölümü çalıştığımız kurumun yayınladığı yayınlarda yeniden kullanılabilir.

Ancak, yayınlanan makalenin doğrudan kullanımı söz konusu olduğunda, YYÜ-Ziraat Fakültesi’ne bildirim yapılmalıdır.

Bu koşullar altında yapılacak kopyaların da, bu telif hakkı devir koşullarını taşıyacağını ve asıl telif hakkı sahibinin YYÜ-Ziraat Fakültesi olduğunu kabul ediyoruz. Diğer telif hakkı sahip(ler)inde olan; her türlü yöntem, şekil, çizelge ve/veya fotoğraflar ile benzeri materyalin bu makalede kullanılabilmesi için yazılı izin alındığını, YYÜ-Ziraat Fakültesine tarafından talep edilirse bunların belgeleneceğini ve bu materyal için YYÜ-Ziraat Fakültesinden ücret istenmeyeceğini yazar(lar) olarak taahhüt ederiz.

Adı Soyadı :

İmza Tarih:

Adı Soyadı :

İmza Tarih:

Adı Soyadı :

İmza Tarih:

Adı Soyadı :

İmza Tarih:

*(Bu form, makaledeki tüm yazarlar tarafından imzalanmış olarak makale ile birlikte “Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri” dergisine gönderilmelidir)*

**LÜTFEN İMZALANMIŞ SÖZLEŞMEYİ AŞAĞIDAKİ ADRESE GÖNDERİNİZ:** (Faks veya E-posta gönderilebilir)

**Tarım Bilimleri Dergisi**

**Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi**

**Telefon: (432) 225 13 92**

**Faks: (432) 225 11 04**

**E-posta: zyaykom@yyu.edu.tr, yyujagrsci@gmail.com**

**65080, Kampus, VAN**

## MANUSCRIPT SUBMISSION AND COPYRIGHT ASSIGNMENT FORM

“*Manuscript Submission and Copyright Release Agreement*” sent to Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences from author(s) clearly states in writing to enable the journal to ensure that it has the exclusive distribution rights of the authors’ work after the article is accepted for publication. Therefore, the following agreement form must be filled and signed by author(s) for each article submission made to the journal.

The article title:.....

is herewith submitted for publication to “*Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*”.

We affirm that the article has been prepared in accordance with Author Instructions of Journal of Agricultural Sciences, YYU. We hereby also warrant and undertake that the article is original, and has not been published before, and it is not under consideration for publication in its final form in printed and electronic form. This Article contains no violation of any existing copyright or other third party right or any material of an obscene, libelous or otherwise unlawful nature and that to the best of my knowledge; this article does not infringe the rights of others.

When the article is accepted for publication, we as the authors, hereby agree to transfer all rights under existing copyright laws to the Journal-Yuzuncu Yil University, Turkey. Provided that the reference be given to Journal of Agricultural Sciences, the following rights reserved:

- a. The right to make further copies of all or part of the published article for our use in classroom teaching.
- b. The right to reuse all or part of this material in a compilation of our own works or in a textbook of which we are the author.
- c. The right to reuse all or a portion of the published article in publications of the institution.

For clarity, we shall inform the Journal of Agricultural Sciences, YYU-Turkey if we directly use of the published article.

We hereby agree that copies made under these circumstances will continue to carry the copyright notice that appeared in the original published work. We certify that we have obtained written permission for the use of text, tables, figures and/or photographs etc. from any copyright source(s), and we also agree to supply such written permission(s) to inform YYU-College of Agriculture, Turkey upon request. We as the authors, hereby affirm that we will not ask for monetary return from YYU-College of Agriculture, Turkey for the use of this material.

Name :  
Signed Date :

Name :  
Signed Date :

Name :  
Signed Date :

Name :  
Signed Date :

Name :  
Signed Date :

*(This form must be signed by all authors and returned to the Editor Office of Yuzuncu Yil University, Journal of Agricultural Sciences)*

### PLEASE RETURN A SIGNED COPY OF THIS FORM TO:

(a fax or an email is acceptable, but the original must follow within 7 days)

Journal of Agriculture Sciences  
Yuzuncu Yil Univeristy  
Faculty of Agriculture  
Phone: +90 432 225 13 92  
Fax: +90 432 225 11 04  
Email: [yyujagrsci@gmail.com](mailto:yyujagrsci@gmail.com)  
65080, Campus, VAN, TURKEY

**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ, TARIM BİLİMLERİ DERGİSİ**  
**(YUZUNCU YIL UNIVERSITY, JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES)**  
**İÇİNDEKİLER**  
**(CONTENTS)**

**Araştırma Makaleleri/ Articles**

- **Bağ ve Elma Bahçelerinde Toprak Agregasyonunun Değerlendirilmesi** ..... 438-443  
- Assessment of Soil Aggregation in the Vineyards and Apple Orchard  
Metin MÜJDECİ, Pelin ALABOZ, Ahmet Ali İŞILDAR, Veli UYGUR
- **Antioxidant Properties of *Cichorium intybus* L. (Chicory) Extracts and Their Cytotoxic Effects on HepG2 Cells** ..... 444-453  
- *Cichorium intybus* L. (Hindiba) Ekstraktlarının Antioksidan Özellikleri ve HepG2 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri  
Neşe ERAY, Deniz İrtem KARTAL, İsmail ÇELİK
- **Bazı Ağaç Yapraklarının *in Vitro* Gaz Üretim Tekniğiyle Yem Değerlerinin Belirlenmesi** ..... 454-461  
- Determination of Feed Values of Some Tree Leaves by *in vitro* Gas Production Technique  
Özlem ÖZDEMİR, Adem KAYA
- **Cassava Farmers' Attitude Towards Participation in Root and Tuber Expansion Programme in Delta State, Nigeria** ..... 462-474  
- Nijerya Delta Eyaleti, Manyok Çiftçilerin Kök ve Yumru Genişletme Programına Katılım Yönündeki Tutumu  
Ogheneakpobor OYIBO
- **Ana Ürün Koşullarında Yerel Cin Mısıırı (*Zea mays everta*) Genotiplerinde Verim Performanslarının Araştırılması** ..... 475-485  
- Investigations on Yield Performances of Local Popcorn (*Zea mays everta*) Genotypes in The Main Crop Growth Conditions  
Leyla İDİKUT, Mustafa ÖNEM, Gülay ZULKADİR
- **Termografi Tekniği ile Biber Bitkisinde Su Stresinin ve Bazı Fizyolojik Özelliklerin Belirlenmesi** ..... 486-497  
- Determination of Water Stress and Some Physiological Traits in Pepper Plant with Thermography Technique  
İlker EROĞLU, Gökhan ÇAMOĞLU, Kürşad DEMİREL
- **Evaluating and Ranking the Development level of Rural Areas of Tabriz using Copeland Model and Comparison the Results with Topsis, Vikor and Electre Models** ..... 498-509  
- Copeland Modelini Kullanarak Tebriz'in Kırsal Alanlarının Gelişim Düzeyini Değerlendirme ve Sıralama ve Sonuçları Topsis, Vikor ve Electre Modelleriyle Karşılaştırma  
Soheila HEIDARZADEH, Razieh POURDARBANI, Fatemeh ZADVALI, Asghar PASHAZADEH
- **An Overview of Doubled Haploid Plant Production in *Cucurbita* Species** ..... 510-520  
- *Cucurbita* Türlerinde Dihaploid Bitki Üretimine Genel Bir Bakış  
Ertan Sait KURTAR, Musa SEYMEN, Ünal KAL
- **Çeşitli Kültür Bitkilerinden İzole Edilen Endofitik Bakterilerin Karakterizasyonu ve Bitki Patojeni Bakterilere Karşı Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi** ..... 521-534  
- Characterization of Endophytic Bacteria Isolated from Various Cultivated Plants and Determination of their Antagonistic Effects on Plant Pathogenic Bacteria  
Yasin BABİER, Ahmet AKKÖPRÜ
- **Effect of Freezing and Drying Methods on Some Biochemical Properties of Prickly Fig (*Opuntia ficus-indica*) Fruit** ..... 535-543  
- Dondurma ve Kurutma Yöntemlerinin Dikenli İncir (*Opuntia ficus-indica*) Meyvesinin Bazı Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi  
Meltem ÇAKMAK, Büşra BAKAR, Muhammad Salihu IBRAHİM, Dursun ÖZER, Fikret KARATAS, Sinan SAYDAM
- **Farklı Ekolojilerde Yetişen Fındık (*Corylus avellana* L.) Çeşit ve Genotiplerinin Stoma Yoğunluk ve Dağılımlarının Belirlenmesi** ..... 544-552  
- Determination of Stoma Density and Distribution of Hazelnut (*Corylus avellana* L.) Cultivars and Genotypes Grown in Different Ecologies  
Haydar HURT, Adnan DOĞAN
- **The Effects of Hungarian Vetch (*Vicia pannonica* Crantz.) and Triticale (*x Triticosecale* sp. Wittmack) Sown in Different Seed Rates on Feed Value and Ruminal Degradability Characteristics of Nutrients** ..... 553-562  
- Farklı Tohum Oranlarında Ekilen Macar Fıği (*Vicia Pannonica* Crantz.) ve Tritikalenin (*Xtriticosecale* Wittmack) Yem Değeri ve Rumende Parçalanabilirlik Özellikleri Üzerine Etkileri  
Numan KILIÇALP, Mahir ÖZKURT, Yaşar KARADAĞ
- **Kırsal Turizmde Yerel Halk Bileşeni: Ankara-Ayaş Örneği'nde Bir Tutum Belirleme Çalışması** ..... 563-575  
- Local People Component in Rural Tourism: An Attitude Determination Study in Ankara-Ayaş Case  
Pınar BOLLUKCU, Aslı CESUR
- **Factors Affecting the Adoption of Innovations in Dairy Cattle Farms in TR22 South Marmara Region of Turkey** ..... 576-584  
- TR22 Güney Marmara Bölgesindeki Süt Sığım İşletmelerinde Yeniliklerin Benimsenmesini Etkileyen Faktörler  
Damla ÖZSAYIN
- **Toprakta Laktik Asit ve Fumarik Asit Salgılayan Önemli Bazı Fosfat Çözücü Fungusların Belirlenmesi** ..... 585-592  
- Determination of Some Important Phosphorus Solubilising Fungi Secreting Lactic Acid and Fumaric Acid in Soil  
İdris BEKTAŞ
- **Is The Natural Honey Bee Biodiversity of Anatolia in the Process of Extinction?** ..... 593-600  
- Anadolu'daki Bal Arısı Biyoçeşitliliği Yok Olma Sürecinde mi?  
Merve KAMBUR ACAR, Meral KEKEÇOĞLU
- **Cowpea Farmers' Vulnerability and Adaptation to Climate Change in Iddo Local Government Area of Oyo State, Nigeria** ..... 601-610  
- Börülce Çiftçilerinin Nijerya'daki Oyo Eyaleti, Iddo Yerel Yönetim Alanındaki İklim Değişikliğine Hassasiyeti ve Uyumu  
Kayode ARİMİ, Micheal Faith KOLAYEMI, Oluranti FATUFE, Akpan Theophilus JOSHUA
- **Phylogeny of Plant Growth-Promoting Actinobacteria Isolated from Legume Nodules in Turkey** ..... 611-619  
- Türkiye'de Baklagil Nodüllerinden İzole Edilen Bitki Gelişimini Destekleyici Aktinobakterilerin Filogenisi  
Hilal AY
- **Effects of Low Temperature and Sowing Date on the Germination and Seedling Characteristics of Forage Peas** ..... 620-627  
- Yem Bezelyesinin Çimlenme ve Fide Özellikleri Üzerine Düşük Sıcaklık ve Ekim Tarihlerinin Etkileri  
Gülçin KÜÇÜKÖZCÜ, Süleyman AVCI
- **Determination of the Optimum Mulch-Irrigation Program Combination for Young Apple Trees** ..... 628-638  
- Genç Elma Ağaçları için Uygun Malç-Sulama Programı Kombinasyonunun Belirlenmesi  
Cenk KÜÇÜKYUMUK, Halit YILDIZ

**Derleme/Review**

- **Su Ürünlerinde Nisin Uygulamaları** ..... 639-651  
- Nisin Applications in Seafood  
Yılmaz UÇAR